
СОДЕРЖАНИЕ

Том 48, номер 6, 2022

Обзор

Проблемы искусственного воспроизводства камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815)

Т. А. Геворгян, С. И. Масленников, Г. Ф. Шукина

359

Оригинальные статьи

Видовой состав и количественные характеристики сообщества микроводорослей морского льда в бухтах острова Русский (залив Петра Великого, Японское море)

Е. А. Юрикова, А. А. Бегун

369

Осенний бактериопланктон северо-восточной части Баренцева моря

М. П. Венгер, В. Г. Дворецкий, Т. М. Максимовская, Т. Г. Ишкулова,
А. В. Ващенко, В. В. Водопьянова

380

Динамика репродуктивных характеристик у самок северного морского котика *Callorhinus ursinus* (Linnaeus, 1758) острова Тюлений на фоне активного промысла самцов

О. Л. Жданова, А. Е. Кузин, Е. Я. Фрисман

388

Оценка состояния популяций двух видов рыб *Siganus fuscescens* (Houttuyn, 1782) и *Gerres oblongus* (Cuvier, 1830) (Actinopterygii: Perciformes), обитающих в сублиторальной зоне острова Малапаскуа (Филиппины)

А. Г. Селюков, О. Н. Жигилева, А. И. Боричевская, С. С. Шадрина

397

Морфофункциональные характеристики эритроидных клеток гемолимфы двустворчатого моллюска *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) в условиях сероводородной нагрузки

А. А. Солдатов, Е. С. Кладченко, В. Н. Рычкова, Т. А. Кухарева,
А. О. Лантушенко, Я. В. Мегер

402

Состав стабильных изотопов углерода и азота у личинок роющих креветок инфраотрядов Gebiidea и Axiidea (Crustacea: Decapoda) из залива Восток Японского моря

Е. С. Корниенко, С. И. Кияшко

413

Краткие сообщения

Находка темного морского окуня *Sebastes ciliatus* (Tilesius, 1813) (Sebastidae) у Командорского архипелага с замечаниями о его "поимках" в приповерхностном слое у северных Курильских островов

Ю. К. Курбанов, Р. Н. Новиков

421

Применение спектрофотометрического метода для определения численности клеток микроводорослей рода *Tetraselmis* (Chlorophyta): калибровочные кривые и уравнения для подсчета

Ж. В. Маркина, С. И. Масленников, Л. А. Боцун

426

Правила для авторов

Правила для авторов журнала "Биология моря"

430

Contents

Volume 48, No 6, 2022

Review

- Issues of Artificial Propagation of the Red King Crab *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815)
T. A. Gevorgyan, S. I. Maslennikov, and G. F. Shchukina 359
-

Original papers

- The Species Composition and Quantitative Characteristics of the Sea Ice Microalgal Community from the Coast of Russky Island (Peter the Great Bay, Sea of Japan)
E. A. Yurikova and A. A. Begun 369
- Autumn Bacterioplankton of the North-Eastern Barents Sea
M. P. Venger, V. G. Dvoretzky, T. M. Maksimovskaya, T. G. Ishkulova, A. V. Vashchenko, and V. V. Vodopyanova 380
- Dynamics of the Reproductive Characteristics of Northern Fur Seal *Callorhinus ursinus* (Linnaeus, 1758) Females in Tyuleniy Island During Active Harvesting of Males
O. L. Zhdanova, A. Ye. Kuzin, and Ye. Ya. Frisman 388
- Assessment of the State of Populations of Two Fish Species *Siganus fuscescens* (Houttuyn, 1782) and *Gerres oblongus* (Cuvier, 1830) (Actinopterygii: Perciformes) in the Sublittoral Zone of Malapascua Island (Philippines)
A. G. Selyukov, O. N. Zhigileva, A. I. Borichevskaya, and S. S. Shadrina 397
- Morphofunctional Characteristics of Erythroid Cells of the Hemolymph of the Bivalve *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) under Hydrogen Sulfide Load
A. A. Soldatov, E. S. Kladchenko, V. N. Rychkova, T. A. Kukhareva, A. O. Lantushenko, and Ya. V. Meger 402
- Stable Carbon and Nitrogen Isotope Composition of Larvae of Burrowing Shrimps (Crustacea: Decapoda: Gebiidea and Axiidea) from Vostok Bay, Sea of Japan
E. S. Kornienko and S. I. Kiyashko 413
-

Short communications

- The Finding of the Dark Dusky Rockfish *Sebastes ciliatus* (Tilesius, 1813) (Sebastidae) in the Commander Archipelago with Notes on Its “Captures” in Near-Surface Waters of the Northern Kuril Islands
Yu. K. Kurbanov and R. N. Novikov 421
- Application of the Spectrophotometric Method for Determination of the Cell Numbers of Microalgae in the Genus *Tetraselmis* (Chlorophyta): Calibration Curves and Equations for Calculation
Zh. V. Markina, S. I. Maslennikov, and L. A. Botsun 426
-

Submission guidelines

- Biologiya Morya – Guidelines for Authors 430
-
-

УДК 574.62/639.58

ПРОБЛЕМЫ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА КАМЧАТСКОГО КРАБА *PARALITHODES CAMTSCHATICUS* (TILESIUS, 1815)

© 2022 г. Т. А. Геворгян^{1, 2, *}, С. И. Масленников^{1, 3}, Г. Ф. Щукина³¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (ННЦМБ), Владивосток 690041, Россия²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690922, Россия³ООО “Морской биотехнопарк”, Владивосток 690105, Россия

*e-mail: tagevorgyan90@gmail.com

Поступила в редакцию 22.04.2022 г.

После доработки 26.05.2022 г.

Принята к публикации 02.06.2022 г.

Камчатский краб *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) – ценный промысловый объект, пользующийся большим спросом на рынке. История его промысла – это история кризисов перелова. Современный подход к устойчивому управлению биоресурсами, кроме прочего, предполагает возможность применения мероприятий по искусственному воспроизводству для сглаживания нестабильного природного пополнения. В настоящем обзоре анализируются проблемы искусственного воспроизводства камчатского краба: отлов и содержание икряных самок до выхода личинок, выращивание личинок на разных стадиях развития, получение и выпуск мальков в естественную среду. Обсуждается биотехника содержания и выращивания личинок камчатского краба до стадии малька: температура, соленость воды и плотность посадки личинок, а также рассмотрены вопросы оценки эффективности воспроизводства до достижения половой зрелости и пополнения промыслового запаса. Для успешного воспроизводства и пополнения природной популяции необходима оптимизация процедуры выпуска мальков с учетом естественного биотического окружения.

Ключевые слова: камчатский краб, искусственное воспроизводство, управление биоресурсами

DOI: 10.31857/S0134347522060055

На пути создания эффективной биотехники культивирования камчатского краба перед учеными стоит ряд исследовательских и опытно-экспериментальных задач. Часть из них к настоящему времени успешно решена, другие находятся в стадии проработки, а некоторые только предстоит изучить (табл. 1).

Работа над созданием технологии искусственного воспроизводства камчатского краба активно ведется со второй половины прошлого века в США, Японии, Норвегии и России. Однако, несмотря на большое количество проводимых исследований и опытно-экспериментальных работ, в настоящее время ни одна из стран не вышла на промышленные объемы выпуска молоди. Например, за период с 2010 по 2012 г. объем выпуска камчатского краба в Северном и Дальневосточном бассейнах в сумме составил 912 млн экз. при максимальном годовом значении 0.5 млн экз. в 2012 г. (Ковачева, 2012).

Биология и экология камчатского краба достаточно хорошо изучены. Результаты исследований представлены в многочисленных обобщающих

публикациях (см. табл. 1). Данный обзор посвящен вопросам, непосредственно связанным с решением проблемы искусственного воспроизводства камчатского краба.

Оптимальные параметры воды

Традиционно важнейшими факторами среды, влияющими на рост и развитие камчатского краба, являются режимы температуры и солености. Взаимосвязь темпов роста личинок крабов и количества градусо-дней впервые выявил Курата (Kurata, 1960a, 1960b). Он же показал негативное воздействие низкой солености на выживаемость молоди. К концу 1980-х годов наиболее полное исследование представил Наканиши (Nakanishi, 1987), который в числе прочих проблем рассмотрел потребление кислорода, устойчивость к температуре и солености, условия освещения, а также плотность посадки при выращивании личинок камчатского краба до стадии малька включительно. В дальнейшем данные направления получили развитие в работах японских, американских и российских исследователей. В настоящее время

Таблица 1. Изученность основных вопросов биологии, экологии и биотехники культивирования личинок и молоди камчатского краба *Paralithodes camtschaticus*

№	Проблематика	Изученность вопроса	Источник
Общие вопросы биологии и экологии			
1.1	Термический режим	Требуются дополнительные исследования воздействия высоких температур воды на личинки и молодь	Слизкин, Сафронов, 2000; Левин, 2001; Клитин, 2002а; Павлов, 2003; Стариков и др., 2015; Стесько, 2015; Falk-Petersen et al., 2011
1.2	Соленость воды	Хорошо изучен, противоречий нет	Клитин, 2002а; Илющенко, Зензеров, 2012; Паршин-Чудин и др., 2014; Thomas, Rice, 1992
1.3	Миграции	Хорошо изучен, противоречий нет	Слизкин, Сафронов, 2000; Клитин, 2002б; Павлов, 2003; Переладов, 2003
2.1	Размножение	Хорошо изучен, противоречий нет	Слизкин, Сафронов, 2000; Павлов, 2003; Переладов, 2003; Stone et al., 1993; Stevens, 2009
2.2	Морфология и особенности развития личинок	Хорошо изучен, противоречий нет	Слизкин, Сафронов, 2000; Ковачева, 2002; Павлов, 2003; Ковачева и др., 2015а; Борисов, 2020; Epelbaum, Borisov, 2006
2.3	Поведение личинок	Требуются дополнительные исследования стадии глаукотэ	Эпельбаум, 2002; Павлов, 2003; Иванов, Щербакова, 2005; Борисов и др., 2007; Abrunhosa, Kittaka, 1997а, 1997б; Epelbaum, Borisov, 2006; Epelbaum et al., 2006
2.4	Среда обитания и поведение на стадии малька и молоди в прибрежной зоне	Требуются дополнительные исследования	Слизкин, Сафронов, 2000; Левин, 2001; Клитин, 2002б; Павлов, 2003; Dew, 1990; Loher et al., 1998
2.5	Питание краба на разных стадиях развития в естественных условиях	Хорошо изучен, противоречий нет	Тарвердиева, 1974; Родин, 1985; Павлов, 2003
2.6	Выживаемость личинок в природе	Требуются дополнительные исследования	Ефимкин, Микулич, 1987; Левин, 2001; Клитин, 2002б, 2003; Paul et al., 1979; Paul, Paul, 1980; Nakanishi, 1985; Shirley, Shirley, 1989; Long et al., 2018
2.7	Выживаемость молоди в природе	Требуются исследования с генетическими методами	Loher, Armstrong, 2000; Stevens, 2014
Вопросы биотехники заводского культивирования			
3.1	Оптимальные параметры воды для культивирования личинок и мальков	Хорошо изучен, возможны уточнения	Ковачева, Переладов, 2001; Ковачева и др., 2005, 2015а, 2018; Ковачева, 2006; Stevens, 2006; Swingle et al., 2013
3.2	Оптимальная плотность содержания личинок и молоди на разных стадиях развития	Требуются уточнения при изменении схем содержания и кормления	Ковачева, Переладов, 2001; Ковачева и др., 2005; Ковачева и др., 2018; Kittaka et al., 2002; Daly et al., 2008; Stevens et al., 2008
3.3	Оптимальные режимы и рационы кормления для культивирования личинок и мальков	Требуются уточнения по биотехнике и спектру кормов	Иванов, Щербакова, 2005; Ковачева и др., 2005, 2015б, 2018; Ковачева, 2006; Kittaka et al., 2002; Daly et al., 2008; Stevens et al., 2008
Проблемы выживания заводской молоди в естественной среде			
4.1	Выживаемость выпускаемой молоди	Требуются дополнительные исследования по подбору биотопов и сезонности выпуска мальков	Печенкин и др., 2013; Ковачева и др., 2015а, 2017; Pirtle et al., 2012; Stevens, 2014; Long et al., 2018
4.2	Проблема каннибализма	Требуются дополнительные исследования при уточнении биотехники содержания	Борисов и др., 2007; Brodersen et al., 1989; Stoner et al., 2010; Daly, 2012
4.3	Проблема взаимодействия с хищниками	Требуются дополнительные исследования	Ковачева и др., 2017; Livingston et al., 1993; Stevens, 2003; Stevens, Swiney, 2005; Stoner, 2009; Pirtle, Stoner, 2010; Daly, 2012; Lyons et al., 2016

на ряд вопросов ответы получены, но на многие вопросы пока нет однозначных ответов. Например, по-прежнему дискуссионным остается вопрос подбора термического режима культивирования камчатского краба. С одной стороны, при более высокой температуре ускоряются развитие и рост особей, что позволяет снизить затраты на культивирование. С другой стороны, для каждого вида существует оптимальный диапазон темпе-

ратуры, поэтому при ее повышении могут появляться проблемы при содержании и культивировании. Так, если Наканиши (Nakanishi, 1987) считает наиболее эффективным выращивание личинок при температуре воды 8°C, то Зубкова (1964) называет диапазон от 8 до 10°C, а Ковачева с соавторами рекомендуют придерживаться диапазона для зоэа от 7 до 8°C, а для глаукотэ – от 8 до 9°C (Ковачева и др., 2018). В то же время экспе-

рименты, проведенные американскими исследователями (Swingle et al., 2013), продемонстрировали возможность значительного сокращения времени культивирования личинок камчатского краба без ущерба для выживания или здоровья за счет повышения температуры выращивания с 8 до 11°C.

При исследовании воздействия температуры на рост и выживаемость осевших мальков краба не обнаружено больших различий в смертности животных при температуре от 1.5 до 12°C (Stoner et al., 2010). Повышение температуры привело к увеличению частоты линек и, как следствие, к повышению скорости роста молоди краба. Наблюдаемая зависимость имела экспоненциальный характер. При увеличении температуры также наблюдалось увеличение величины приростов, имевшее линейный вид. Летальная температура для молоди камчатского краба (при 24-часовом воздействии) составила приблизительно 24.3°C (Stoner et al., 2013). Сублетальной для молоди камчатского краба считается температура воды 15°C, при которой замедляется рост и увеличивается, хотя и незначительно, смертность во время линьки (Rice et al., 1985; Stoner et al., 2010).

Оценка воздействия изменения солености воды на камчатского краба не столь однозначна. В естественных условиях крабы, как правило, обитают при солености от 28 до 35‰ (Родин, 1985; Клитин, 2002а, и др.). В экспериментах показано, что представители данного вида могут выдерживать и более низкую соленость, однако пока не ясно, какую. Одни исследователи утверждают, что крабы могут сохранять жизнеспособность при постепенном снижении солености до 8‰ (Илющенко, Зензеров, 2012, цит. по: Паршин-Чудин и др., 2014), по мнению других минимальный порог солености для взрослых особей составляет 12‰ (Thomas, Rice, 1992).

Результаты, представленные в работе группы исследователей Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО) свидетельствуют о том, что на ранних стадиях онтогенеза для камчатского краба соленость ниже 20‰ является летальной, а нижней границей оптимальных значений является соленость 30‰, при этом кратковременное снижение солености до 25‰ не оказывает существенного влияния на жизнеспособность особей (Паршин-Чудин и др., 2014).

Другим важным аспектом является кислотность воды, оптимальная для камчатского краба. Согласно литературным данным, при рН 7.7 у эмбрионов и личинок наблюдались морфологические нарушения, что отражалось на их выживаемости (Long et al., 2013а). У молоди при рН 7.8 наблюдалось некоторое повышение смертности, а при рН 7.5 отмечены замедление роста и крайне

высокая смертность, которая через 95 сут передержки достигла 100% (Long et al., 2013b). При этом пребывание в воде с рН 7.8 в течение 70 сут не оказывало существенного влияния на рост более крупных (однолетних) особей камчатского краба (Swiney et al., 2017).

Недавние исследования показали, что камчатский краб более чувствителен к потеплению, чем к подкислению, и что реакция на подкисление на транскриптомном уровне происходит на разных этапах жизни при разных уровнях рН, причем молодь менее чувствительна к изменению рН, чем взрослые особи (Stillman et al., 2020).

Плотность посадки и рацион кормления

На разных стадиях развития краба эти параметры во многом определяют экономическую эффективность производства. Проведенные в середине 1990-х—начале 2000-х гг. эксперименты с разной плотностью посадки личинок показали, что выживаемость отрицательно коррелировала с плотностью, однако корреляция между плотностью и продолжительностью развития личинок до первой ювенильной стадии была статистически недостоверной (Kittaka et al., 2002). Одновременно с изучением влияния плотности посадки личинок исследователи вели поиск оптимального рациона. Результаты многочисленных экспериментов показали, что наиболее эффективным кормом для всех стадий зоэа камчатского краба являются науплии артемии *Artemia* sp. (см., например: Иванов, Щербакова, 2005; Ковачева и др., 2015б, и др.). Кроме этого были опробованы различные способы повышения питательной ценности артемии путем скармливания этим рачкам таких добавок, как тунцовое масло, спирулина, пивные дрожжи и т.д. (Kittaka, Stevens, 2002). Сравнивая результаты кормления личинок крабов обогащенными и небогащенными науплиями артемий, эти авторы пришли к выводу, что на выживаемость личинок во время стадии глаукотэ влияет качество питания во время стадий зоэа. Известно, что на стадии глаукотэ краб не питается, он крайне неактивен даже после оседания. При этом при выборе субстрата и линьке особи интенсивно расходуют энергию. Таким образом, выживаемость глаукотэ во многом зависит от количества и состава питательных веществ, накопленных за предыдущую стадию.

Эти выводы были подтверждены в начале 2000-х гг. По результатам наблюдений за развитием и выживаемостью личинок при разной плотности посадки и разном качестве кормов (Daly et al., 2008) самая высокая смертность наблюдалась при переходе от последней стадии зоэа к стадии глаукотэ. Самый высокий уровень выживаемости в этот период достигнут при плотности личинок 50 экз./л, которых кормили обогащен-

Таблица 2. Выживаемость молоди камчатского краба (%) между стадиями при разной плотности посадки при кормлении обогащенной/необогатенной артемией (Daly et al., 2008)

Плотность посадки, экз./л	При кормлении обогащенной/необогатенной артемией			
	Стадии зоэа			Зоэа IV—глаукотэ
	I—II	II—III	III—IV	
10	Нд/65	Нд/80	Нд/78	Нд/34
25	93/71	91/85	83/87	38/32
50	91/82	83/94	80/85	55/13
100	Нд/87	Нд/99	Нд/94	Нд/06

Примечание: Нд — нет данных.

ной артемией с добавлением водорослей *Chaetoceros* sp. (табл. 2).

В экспериментах Стивенса с соавторами (Stevens et al., 2008) чрезвычайно высокая выживаемость (92%) личинок краба от выхода из яйца до первой стадии молоди краба была отмечена при кормлении личинок необогатенной артемией с добавлением *Thalassiosira nordenskioldii*. В результате исследований авторы пришли к выводу, что личинки крабов получают питательные вещества непосредственно от диатомовых водорослей, а не от науплиев артемии, накормленных этими водорослями. Фитопланктон позволяет личинкам крабов получить витамины, белки, углеводы, жирные кислоты и пигменты, недостаток которых ощущается при питании только артемией.

В настоящее время не существует комбикормов, разработанных специально для молоди камчатского краба. При этом результаты всех исследований позволяют говорить о более высоком уровне выживаемости молоди при кормлении естественными кормами (Иванов, Щербакова, 2005; Ковачева и др., 2015б). Ковачева с соавторами в качестве оптимального варианта для первых стадий молоди камчатского краба рекомендуют рацион с чередованием комбикорма, а также измельченного мяса моллюсков и мелких ракообразных (Ковачева и др., 2015б). В отсутствие специализированных разработок из имеющихся на рынке искусственных кормов для молоди камчатского краба авторы советуют использовать марку “Wafer Mix” или сходные по составу смеси. По режиму кормления даны следующие рекомендации к биотехнике: кормление 2–3 раза в сутки на протяжении всего личиночного периода (Ковачева и др., 2015б); максимальные суточные рационы для зоэа I–IV соответственно 11, 22, 33 и 42 экз. науплиев артемии на одну личинку камчатского краба (Ковачева, 2006); увеличение количества вносимого корма в соответствии с ростом пищевых потребностей личинок (Ковачева и др. 2015б); прекращение кормления после окончания линьки зоэа IV на время прохождения стадии

глаукотэ и возобновление после появления первых особей молоди (Ковачева и др., 2015б).

Генеральная цель всех описанных выше исследований — создание технологии культивирования личинок и мальков камчатского краба. В настоящее время работы Ковачевой с соавторами (Ковачева и др., 2005, 2018) являются публикациями, которые можно рассматривать в качестве предлагаемой технологической схемы. В этих публикациях подробно изложен опыт работы и даны рекомендации по каждому основному этапу культивирования краба, а именно: отлов и доставка икранных самок; содержание икранных самок до и во время отделения личинок; выращивание личинок на разных стадиях развития; выращивание молоди до жизнестойкого размера, а также выпуск молоди в естественную среду. Для каждого этапа приведены параметры среды, их продолжительность, режимы кормления и ожидаемая смертность. Результаты основываются на полевых экспериментах.

Поддержание постоянных оптимальных условий среды выращивания (температура, проточность, плотность посадки, дифференцированное кормление в зависимости от возраста личинок и др.) позволило сократить личиночный период развития по сравнению с таковым в естественной среде в 2.1 раза — до 32–43 сут, или до 298–322.5 градусо-дней (Ковачева, 2006). Биотехнические показатели, рекомендованные для получения молоди крабов, приведены в табл. 3.

Отечественные исследования в области технологии искусственного воспроизводства камчатского краба включают культивирование личинок и подращивание молоди до жизнестойкой стадии в искусственных условиях как в проточной морской воде (Иванов, Щербакова, 2005; Ковачева и др., 2018), так и в условиях цикла замкнутого водоснабжения (УЗВ) (Ковачева, Переладов, 2001; Ковачева, 2002; Ковачева и др., 2004; Борисов, Ковачева, 2005, и др.).

Для оптимизации биологической очистки холдной морской воды в УЗВ были изучены пара-

Таблица 3. Биотехнические показатели получения молоди камчатского краба (Ковачева и др., 2018)

Показатель	Стадия развития		
	зоа I–IV	глаукотоз	молодь
Температура воды, °C	7–8	8–9	8–10
Соленость, ‰	30–35		
Водообмен, объемов емкости/сутки	3–5	3–5	
Кормление, один раз в сутки	3	Нет	2
Режим освещения свет/темнота, ч	12 : 12		
Освещенность, лк (равномерное освещение)	100–200		
Продолжительность стадии, сут	30–40	20–25	10–15
Выживаемость, %	50–60*	40**	30–40***
Масса особей	0.5–5 мг	3.5–6.5 мг	5–9 мг
Тип питания	Планктонофаг	Афагия	Бентофаг

* От стадии зоа I до стадии глаукотоз.

** От стадии зоа I до перехода на стадию молоди.

*** От стадии зоа I до момента выпуска при массе 5–9 мг.

метры обмена веществ у камчатского краба, исследована динамика концентраций азотистых соединений в воде при содержании крабов в УЗВ, а также определен оптимальный наполнитель для биофильтра (Тырин, 2011). Установлено, что внесение источника азота и одновременное постепенное понижение температуры воды обеспечивают интенсификацию стартового периода биологической очистки холодной морской воды.

Выживаемость культивируемой молоди

Данное направление исследований является наиболее важным, так как позволяет оценить биологическую и экономическую эффективность искусственного воспроизводства камчатского краба. В настоящее время выживаемость искусственно выращенной молоди этого вида после выпуска в естественную среду изучена крайне слабо. Проведенные сотрудниками ВНИРО эксперименты по выращиванию мальков камчатского краба в бассейнах береговых комплексов в Мурманской области (Печенкин и др., 2013) и в Приморском крае (Иванов, Щербакова, 2005) показали высокий уровень смертности молоди: в первом случае за 9.6 мес. (288 сут) он составил 97.6%, во втором случае за 11.5 мес. — 97.6%. При этом наибольшая смертность наблюдалась между 3-й и 4-й стадиями молоди (Печенкин и др., 2013). Однако эти результаты можно рассматривать как предварительные, так как они получены на ограниченном количестве экспериментального материала.

В ходе исследования выживаемости и роста искусственно полученной молоди камчатского краба в выставленных в море садках (Ковачева и др., 2017) выживаемость особей по истечении 5 мес. варьировала в диапазоне 40–69% от общей

численности. При этом выживаемость молоди на 10-е сут после выпуска в садки в 2015 и 2016 гг. составила соответственно 78 и 91% от общего числа посаженных особей, а через 4–5 мес. — 58 и 40% соответственно. По мнению авторов причина снижения жизнестойкости молоди краба в 2015 г. — не очень хорошее физиологическое состояние мальков, а основной причиной их гибели, вероятно, был каннибализм, вызванный высокой плотностью посадки в сочетании с частыми линьками. На основании этого при выпуске молоди в естественную среду рекомендовано соблюдать плотность посадки молоди не более 100–200 экз./л (Ковачева и др., 2017).

Эксперименты, проведенные американскими исследователями, показали, что выпуск молоди камчатского краба в естественные биотопы лимитируется не столько присутствием хищников (Long et al., 2018), сколько наличием подходящих укрытий (Pirtle et al., 2012). В экспериментах Лонга (Long et al., 2018) через 6 мес. после выпуска выживаемость составляла около 11% от всех выпущенных крабов и не зависела от плотности посадки при выпуске. Начальный уровень смертности достигал 67.5%, затем происходило его снижение. Для сравнения: выживаемость молоди в дикой популяции в течение первых двух месяцев после оседания составляла приблизительно 46%, а через 10 мес. — около 7% от первоначальной численности (Loher, Armstrong, 2000).

Оценка выживаемости камчатского краба с ранних стадий до достижения половой зрелости в основном носит эмпирический характер и базируется на исследованиях возрастной структуры популяций. Например, выживаемость искусственно полученной молоди камчатского краба после выпуска в природную среду до 7-летнего

Таблица 4. Ориентировочная выживаемость искусственно выращенной молоди камчатского краба в естественной среде до достижения промысловых размеров (Ковачева и др., 2017)

Показатель	Год после выпуска в окружающую среду								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Число линек за год	6	4	3	2	1	1	1	0–1	0–1
Выживаемость после выпуска, %	37.7	19.7	12.2	8.7	7.4	6.4	5.4	4.6	3.9

возраста составляет 2.3% (Ковачева и др., 2017). На основании собственных и литературных данных Ковачева с соавторами (2017) дали предварительную оценку ожидаемой выживаемости камчатского краба после выпуска особей в естественную среду до достижения ими промысловых размеров (табл. 4).

Наибольшая смертность гидробионтов наблюдается на ранних стадиях развития. Камчатский краб не является исключением, о чем свидетельствуют представленные выше данные по выживаемости личинок и молоди краба. Однако для заводской молоди возникает ряд дополнительных проблем и потенциальных рисков.

Каннибализм. Отмечен на всех стадиях личиночного развития камчатского краба, культивируемого в искусственных условиях. Исследования специалистов ВНИРО показали, что доля личинок, погибших в результате каннибализма, увеличивалась прямо пропорционально плотности посадки: на стадиях линьки зоэа II и зоэа III при плотности посадки 50, 75 и 100 экз./л она составила соответственно 39, 45 и 54% (Борисов и др., 2007).

Уменьшению каннибализма молоди способствует снижение температуры, однако при этом удлиняется межлиночный период (Борисов и др., 2007; Stoner et al., 2010; Daly, 2012, и др.). При искусственном выращивании невыгодно замедлять ростовые процессы. Уровень каннибализма, очевидно, следует снижать, изменяя другие условия содержания. Например, каннибализм заметно снижается при использовании субстрата, структурирующего объем емкости (Борисов и др., 2007).

При неравномерном росте молоди краба проблема каннибализма усугубляется. Для ее нивелирования в процессе выращивания необходимо сортировать особей по размерам (Daly, 2012; Daly et al., 2012).

Морфология. Выпускаемые особи не должны иметь значимых морфологических отличий от крабов, выросших в естественной среде. Так, молодь, выращенная в искусственных условиях, как правило, светлее, чем дикие особи, что является следствием недостатка в пище каротиноида астаксантина (Daly et al., 2009). Конкретные преимущества диетического астаксантина для камчатского краба неизвестны, однако исследования

показали, что при добавлении астаксантина в пищу панцири крабов приобретают более темный и интенсивный красный цвет, при этом снижается заметность животного на субстрате в естественной среде, а также повышаются темпы роста молоди. При добавлении кальция в рацион молоди ускоряется ее рост, что способствует увеличению выживаемости (Daly, 2012).

Взаимодействие с хищниками. Еще одна проблема на пути к успешному культивированию камчатского краба — отсутствие у выращенной на заводе молоди опыта взаимодействия с хищниками. Основную угрозу для молоди крабов представляют пятиугольный волосатый краб и крупные особи креветок (Ковачева и др., 2017), а также рыбы: минтай, треска, желтоперая камбала (см.: Livingston et al., 1993), тихоокеанский белокорый палтус (см.: Stoner, 2009; Lyons et al., 2016) и бычки (см.: Powell, Nickerson, 1965).

Для недавно осевших особей камчатского краба крипсис (способность избежать обнаружения) — это основной механизм уклонения от хищников. При появлении хищника крабы стараются спрятаться в убежище либо замереть (Переладов, 2003; Stevens, 2003; Stevens, Swiney, 2005; Stoner, 2009; Pirtle, Stoner, 2010).

Экспериментально показано, что крабы, подвергавшиеся воздействию визуальных и химических сигналов, успешнее избегали обнаружения, чем крабы, не имевшие такого контакта (Daly, 2012); на основе этих результатов рекомендовано перед выпуском в естественную среду проводить “обучение” молоди, чтобы инициировать поведенческий отклик на появление хищников.

Размножение и миграции

Выпущенные в естественную среду особи должны дожить до зрелости и внести свой вклад в увеличение численности популяции. Репродуктивный успех будет зависеть от поведения культивируемых крабов при размножении, включая встречу самцов с самками во время нерестовых миграций, идентификацию особей противоположного пола и конкуренцию. Имеющиеся ограниченные данные позволяют предположить, что выращиваемые в заводских условиях ракообразные могут успешно спариваться в дикой природе. Необходимые для этого формы поведения либо наследуются, либо

приобретаются в результате взаимодействий с другими представителями вида в более позднем возрасте. Однако в настоящее время вопрос, будет ли заводское происхождение влиять на миграционное поведение крабов, остается открытым (Daly et al., 2021).

Таким образом, анализ публикаций позволяет определить актуальные направления для дальнейших исследований в области искусственного воспроизводства камчатского краба. Во-первых, требуется масштабирование результатов, полученных в экспериментах, на большие объемы культивирования. Во-вторых, необходимо продолжить поиск оптимальных рационов кормления личинок и молоди крабов с применением водорослевых компонентов, а также с расширением линейки живых кормов. В-третьих, актуальными остаются исследования по выживаемости молоди в естественных и искусственных условиях на протяжении первых двух лет жизни камчатского краба как наиболее критических. В-четвертых, для оценки перспектив практического внедрения методов культивирования молоди краба требуется изучить вопросы биоэкономической эффективности искусственного воспроизводства. Для этого необходимы данные по выживаемости выпускаемой молоди в естественных условиях на основе генетических маркеров.

Решение данных вопросов биотехники вкрупне с современными технологическими приемами культивирования ракообразных, моллюсков и иглокожих позволит начать внедрение и коммерциализацию искусственного воспроизводства в практику управления природными запасами камчатского краба.

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 при поддержке гранта РНФ 21-74-30004 и ООО “Антей”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Борисов Р.Р. Морфология и поведение десятиногих ракообразных (Crustacea: Decapoda) в постэмбриональном онтогенезе. Автореф. дис... докт. биол. наук. М.: ВНИРО. 2020. 48 с.

Борисов Р.Р., Ковачева Н.П. Эксперименты по содержанию мальков камчатского краба в искусственных условиях // Материалы 2-й Международ. конф. “Морские прибрежные экосистемы: водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки”. М.: ВНИРО. 2005. С. 123–125.

Борисов Р.Р., Эпельбаум А.Б., Кряхова Н.В. и др. Каннибализм у камчатского краба при выращивании в искусственных условиях // Биол. моря. 2007. Т. 33. С. 267–271.

Ефимкин А.Я., Микулич Л.В. Культивирование промысловых ракообразных. Камчатский краб // Культивирование тихоокеанских беспозвоночных и водорослей. М.: Агропромиздат. 1987. С. 100–115.

Зубкова Н.А. Опыт содержания камчатского краба в аквариуме // Тр. Мурманск. мор. биол. ин-та. 1964. Вып. 5 (9). С. 105–113.

Иванов П.Ю., Щербакова Н.В. Опыт и проблемы выращивания камчатского краба в контролируемых заводских условиях // Изв. ТИНРО. 2005. Т. 143. С. 305–326.

Илющенко А.М., Зензеров В.С. Новые данные по устойчивости камчатского краба Баренцева моря к низкой солености // Экология. 2012. № 2. С. 159–160.

Клитин А.К. Распределение, биология и функциональная структура ареала камчатского краба в водах Сахалина и Курильских островов. Автореф. дис... канд. биол. наук. Южно-Сахалинск: СахНИРО. 2002а. 25 с.

Клитин А.К. Распределение и продолжительность развития личинок камчатского краба у западного побережья Сахалина // Тр. СахНИРО. 2002б. Т. 4. С. 212–228.

Клитин А.К. Камчатский краб (*Paralithodes camtschaticus*) у берегов Сахалина и Курильских островов: биология, распределение и функциональная структура ареала. М.: Изд-во ФГУП Нацрыбресурс. 2003. 253 с.

Ковачева Н.П. Биотехнология искусственного воспроизводства камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* в системе с замкнутым циклом водоснабжения // Материалы Международ. конф. СахНИРО. Южно-Сахалинск. 2002. Т. 3. С. 300–308.

Ковачева Н.П. Воспроизводство и культивирование морских и пресноводных ракообразных отряда Decapoda: Автореф. дис... докт. биол. наук. М.: ВНИРО. 2006. 55 с.

Ковачева Н.П. Достижения и перспективы воспроизводства и культивирования камчатского краба на береговых комплексах // Материалы Всерос. науч. конф., посвященной 80-летию юбилею ФГУП КамчатНИРО. Петропавловск-Камчатский: ФГУП КамчатНИРО. 2012. С. 573–580.

Ковачева Н.П., Борисов Р.Р., Кряхова Н.В. и др. Технологическая схема и биотехнические показатели индустриального выращивания молоди камчатского краба в аквакультуре // Тр. ВНИРО. 2018. Т. 172. Промысловые крабы морей России. С. 172–183.

Ковачева Н.П., Борисов Р.Р., Печенкин Д.С. и др. Ранний онтогенез синего и камчатского крабов в ис-

- кусственных и естественных условиях // Рыб. хоз-во. 2015а. № 5. С. 68–75.
- Ковачева Н.П., Борисов Р.Р., Печенкин Д.С. и др. Развитие, рост и выживаемость искусственно выращенной молоди камчатского краба (Decapoda, Lithodidae) в природе // Рыб. хоз-во. 2017. № 5. С. 83–88.
- Ковачева Н.П., Калинин А.В., Эпельбаум А.Б. и др. Культивирование камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815). Ч. 1. Особенности раннего онтогенеза. Бионормативы и рекомендации по искусственному воспроизводству. М.: Изд-во ВНИРО. 2005. 76 с.
- Ковачева Н.П., Кряхова Н.В., Борисов Р.Р. Стратегия кормления камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) на ранних стадиях развития в искусственных условиях // Тр. ВНИРО. 2015б. Т. 153. С. 179–188.
- Кряхова Н.В., Загорский И.А., Борисов Р.Р. и др. Влияние субстратов на рост и развитие глаукотоз камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* // Материалы докл. II Международ. конф. “Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб”. СПб.: ГосНИОРХ. 2013. С. 214–218.
- Левин В.С. Камчатский краб *Paralithodes camtschaticus*. Биология, промысел, воспроизводство. СПб.: Ижица. 2001. 198 с.
- Павлов В.Я. Жизнеописание краба камчатского *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815). М.: Изд. ВНИРО. 2003. 110 с.
- Паршин-Чудин А.В., Борисов Р.Р., Ковачева Н.П. и др. Влияние солености на выживаемость камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) на ранних стадиях онтогенеза // Экология. 2014. № 2. С. 154–156.
- Переладов М.В. Некоторые особенности распределения и поведения камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) на прибрежных мелководьях Баренцева моря // Тр. ВНИРО. 2003. Т. 142. С. 103–119.
- Печенкин Д.С., Ковачева Н.П., Кряхова Н.В. и др. Содержание молоди камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) в искусственных условиях: динамика темпов роста и смертности // Материалы IV Всерос. науч.-практ. конф. “Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промысловое и техническое использование”. 2013. С. 192–195.
- Родин В.Е. Пространственная и функциональная структура популяций камчатского краба // Изв. ТИНРО. 1985. Т. 110. С. 86–97.
- Слизкин А., Сафонов С. Промысловые крабы прикамчатских вод. Петропавловск-Камчатский. 2000. 142 с.
- Стариков Ю.В., Спиридонов В.А., Наумов А.Д. и др. Первая находка и возможности формирования популяции камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) в Белом море (Crustacea Decapoda Lithodidae) // Рос. журн. биол. инвазий. 2015. № 1. С. 79–95.
- Стесько А.В. Распределение и состояние запаса камчатского краба в территориальных водах России в Баренцевом море // Вопр. рыболовства. 2015. № 2. С. 175–192.
- Тарвердиева М.И. Распределение и питание мальков камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* у западного побережья Камчатки // Тр. ВНИРО. 1974. Т. 99. Вып. 5. С. 54–62.
- Тырин Д.В. Биотехнические основы содержания камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* и американского омара *Homarus americanus* в установках с замкнутым водоиспользованием // Автореф. дис. канд. сельскохоз. наук. М. 2011. 20 с.
- Эпельбаум А.Б. Афагия глаукотоз камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) // VI Всерос. конф. по промысловым беспозвоночным: Тез. докл. М.: Изд-во ВНИРО. 2002. С. 67–69.
- Abrunhosa F.A., Kittaka J.K. Functional morphology of mouthparts and foregut of the last zoea, glaucothoe and first juvenile of the king crabs *Paralithodes camtschaticus*, *P. brevipes* and *P. platypus* // Fish. Sci. 1997a. V. 63. № 6. P. 923–930.
- Abrunhosa F.A., Kittaka J.K. Morphological changes in the midgut, midgut gland and hindgut during the larval and postlarval development of the red king crab *Paralithodes camtschaticus* // Fish. Sci. 1997b. V. 63. P. 746–754.
- Brodersen C.C., Rounds P.M., Babcock M.M. Diet influences cannibalism in laboratory-held juvenile red king crabs (*Paralithodes camtschaticus*) // Proc. Int. Symp. on King and Tanner Crabs (Anchorage, Alaska, 1989). Univ. Alaska Sea Grant Progr. Rept. 1989. № 90–04. P. 377–382.
- Daly B.J. Red King Crab Hatchery Culture and Ecological Requirements: Applications for Stock Enhancement. A dissertation presented to the Faculty of the University of Alaska Fairbanks in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of philosophy. Fairbanks, Alaska. 2012. 150 p. URL: https://scholarworks.alaska.edu/bitstream/handle/11122/9148/Daly_B_2012.pdf;jsessionid=0F01555-22E08645B9FFB6922E108A74E?sequence=1 (Accessed 18.01.2022).
- Daly B., Eckert G., Long W.C. Moulding the ideal crab: implications of phenotypic plasticity for crustacean stock enhancement // ICES J. Mar. Sci. V. 78. Iss. 1. 2021. P. 421–434.
- Daly B., Swingle J.S., Eckert G.L. Techniques for Culture of King Crab at the Alutiiq Pride Shellfish Hatchery, 2009 // Sci. Plans. 2008. 12 pp. URL: <https://seagrant.uaf.edu/research/projects/kingcrab/docs/science-plans/2009-larval-rearing.pdf> (Accessed 18.01.2022).
- Daly B., Swingle J.S., Eckert G.L. Effects of diet, stocking density, and substrate on survival and growth of hatchery-cultured red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) juveniles in Alaska, USA // Aquaculture. 2009. V. 293. P. 68–73.
- Daly B., Swingle J.S., Eckert G.L. Increasing hatchery production of juvenile red king crabs (*Paralithodes camtschaticus*) through size grading // Aquaculture. 2012. 364–365. P. 206–211.
- Drew C.B. Behavioral ecology of podding red king crab, *Paralithodes camtschaticus* // Can. J. Fish Aquatic Sci. 1990. V. 47. № 10. P. 1944–1958.
- Epelbaum A.B., Borisov R.R. Feeding behavior and functional morphology of the feeding appendages of red

- king crab *Paralithodes camtschaticus* larvae // Mar. Biol. Res. 2006. V. 2. № 2. P. 77–88.
- Epelbaum A.B., Borisov R.R., Kovatcheva N.P.* Early development of the red king crab *Paralithodes camtschaticus* from the Barents Sea reared under laboratory conditions: morphology and behavior // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2006. V. 86. P. 317–333.
- Falk-Petersen J., Renaud P., Anisimova N.* Establishment and ecosystem effects of the alien invasive red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) in the Barents Sea – A review // ICES J. Mar. Sci. 2011. V. 68. P. 479–488.
- Kittaka J., Stevens B.* Settlement by the glaucothoe of king crabs, genus *Paralithodes* // Fish. Sci. 2002. 68 (sup1.). P. 401–404.
- Kittaka J., Stevens B.G., Teshima S. et al.* Larval culture of the king crabs *Paralithodes camtschaticus* and *P. brevipes* // Crabs in cold water regions: Biology, management, and economics. Univ. Alaska Sea Grant. Anchorage, AK. 2002. P. 189–209.
- Kurata H.* Studies on the larvae and post-larvae of *Paralithodes camtschatica*. III. The influence of temperature and salinity on the survival and growth of larvae // Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab. 1960a. V. 21. P. 8–14.
- Kurata H.* Studies on the larva and post-larva of *Paralithodes camtschatica* II. Feeding habits of the zoea // Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab. 1960b. 21. P. 1–8.
- Livingston P.A., Ward A., Lang G.M., Yang M-S.* Groundfish food habits and predation on commercially important prey species in the eastern Bering Sea from 1987 to 1989. U.S. Dept. Commer. NOAA Tech. Memo. NMFS-AFSC-11. Springfield. 1993. 192 p.
- Loher T., Armstrong D.* Effects of habitat complexity and relative larval supply on the establishment of early benthic phase red king crab (*Paralithodes camtschaticus* Tilesius, 1815) populations in Auke Bay, Alaska // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2000. V. 245. № 1. P. 83–109.
- Loher T., Hill P.S., Harrington G., Cassano E.* Management of Bristol Bay red king crab: a critical intersections approach to fisheries management // Rev. Fish. Sci. 1998. V. 6. P. 169–251.
- Long W.C., Cumiskey P.A., Munk J.E.* How does stocking density affect enhancement success for hatchery-reared red king crab? // Can. J. Fish. Aqua. Sci. 2018. V. 75. P. 1940–1948.
- Long W.C., Swiney K.M., Foy R.J.* Effects of ocean acidification on the embryos and larvae of red king crab, *Paralithodes camtschaticus* // Mar. Pollut. Bull. 2013a. V. 69. P. 38–47.
- Long W.C., Swiney K.M., Harris C. et al.* Effects of ocean acidification on juvenile red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) and Tanner crab (*Chionoecetes bairdi*) growth, condition, calcification, and survival // PLoS One. 2013b. V. 8. № 4. e60959. <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0060959&type=printable> (Accessed 18.05.2022).
- Lyons C., Eckert G., Stoner A.W.* Influence of temperature and congener presence on habitat preference and fish predation in blue (*Paralithodes platypus* Brandt, 1850) and red (*P. camtschaticus* Tilesius, 1815) king crabs (Anomura: Lithodidae) // J. Crust. Biol. 2016. V. 36. Iss. 1. P. 12–22.
- Nakanishi T.* The effects of the environment on the survival rate, growth and respiration of eggs, larvae and post-larvae of king crab (*Paralithodes camtschatica*) // Proc. Intern. king crab Sympos. Anchorage. Jpn. 1985. P. 167–185.
- Nakanishi T.* Rearing condition of eggs, larvae and post-larvae of king crab // Bull. Jap. Sea Reg. Fish. Res. Lab. 1987. V. 37. P. 57–161.
- Paul A.J., Paul J.M., Shoemaker P.A. et al.* Prey concentrations and feeding response in laboratory-reared stage-one zoeae of king crab, snow crab, and pink shrimp // Trans Am. Fish. Soc. 1979. V. 108. P. 440–443.
- Paul A.J., Paul J.M.* The effect of early starvation on later feeding success of king crab zoeae // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1980. V. 44. P. 247–251.
- Pirtle J.L., Stoner A.W.* Red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) early post-settlement habitat choice: structure, food, and ontogeny // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2010. V. 393. P. 130–137.
- Pirtle J.L., Eckert G.L., Stoner A.W.* Habitat structure influences the survival and predator-prey interactions of early juvenile red king crab *Paralithodes camtschaticus* // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2012. V. 465. P. 169–184.
- Powell G.C., Nickerson R.B.* Aggregations among juvenile king crabs (*Paralithodes camtschatica*, Tilesius) Kodiak, Alaska // Anim. Behav. 1965. V. 13. P. 374–380.
- Rice S.D., Brodersen C., Arasmith P.J.* Feeding rates, molting success, and survival of juvenile red king crabs at different temperatures // Proc. Intern. King Crab Sympos. Ed. by B. Melteff. University of Alaska Sea Grant Program. Anchorage, AK. U.S.A. 1985. P. 187–191.
- Shirley S.M., Shirley T.C.* Interannual variability in density, timing and survival of Alaskan red king crab *Paralithodes camtschatica* larvae // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1989. V. 54. P. 51–59.
- Stevens B.G.* Settlement, substrate preference, and survival of red king crab *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) glaucothoe on natural substrata in the laboratory // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2003. V. 283. P. 63–78.
- Stevens B.G.* King crab cultivation and stock enhancement in Japan and the United States: a brief history // Alaska Crab Stock Enhancement and Rehabilitation: Workshop Proc. Alaska Sea Grant College Program AKSG-06-04. 2006. P. 23–31.
- Stevens B.G.* Hardening of red king crab *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) shells after molting // J. Crust. Biol. 2009. V. 29. № 2. P. 157–160.
- Stevens B.G.* King Crabs of the World: Biology and Fisheries Management. London: CRC Press. 2014. 636 p.
- Stevens B.G., Swiney K.M.* Post-settlement effects of habitat type and predator size on cannibalism of glaucothoe and juveniles of red king crab *Paralithodes camtschaticus* // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2005. V. 312. P. 1–11.
- Stevens B.G., Persselin S., Matweyou J.* Survival of blue king crab *Paralithodes platypus* Brandt, 1850, larvae in cultivation: effects of diet, temperature and rearing // Aqua. Res. 2008. V. 39. P. 390–397.
- Stillman J.H., Fay S.A., Ahmad S.M. et al.* Transcriptomic response to decreased pH in adult, larval and juvenile red king crab, *Paralithodes camtschaticus*, and interactive effects of pH and temperature on juveniles // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2020. V. 100. P. 251–265.

- Stone R.P., O'Clair C.E., Shirley T.C. Aggregating behavior of ovigerous female red king crab (*Paralithodes camtschaticus*), in Auke Bay, Alaska // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1993. V. 50. P. 750–758.
- Stoner A.W. Habitat-mediated survival of newly settled red king crab in the presence of a predatory fish: Role of habitat complexity and heterogeneity // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2009. V. 382. P. 54–60.
- Stoner A.W., Copeman L.A., Ottmar M.L. Molting, growth, and energetics of newly-settled blue king crab: Effects of temperature and comparisons with red king crab // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2013. V. 442. P. 10–21.
- Stoner A.W., Ottmar M.L., Copeman L.A. Temperature effects on the molting, growth, and lipid composition of newly-settled red king crab, *Paralithodes camtschaticus* // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2010. V. 393. P. 138–147.
- Swiney K.M., Long W.C., Foy R.J. Decreased pH and increased temperatures affect young-of-the-year red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) // ICES J. Mar. Sci. 2017. V. 74. P. 1191–1200.
- Swingle J.S., Daly B., Hetrick J. Temperature effects on larval survival, larval period, and health of hatchery-reared red king crab, *Paralithodes camtschaticus* // Aquaculture. 2013. V. 384–387. P. 13–18.
- Thomas R.E., Rice S.D. Salinity tolerance of adult and juvenile red king crabs *Paralithodes camtschatica* // Comp. Biochem. and Physiol. 1992. V. 103. P. 433–437.

Issues of Artificial Propagation of the Red King Crab *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815)

T. A. Gevorgyan^{a, b}, S. I. Maslennikov^{a, c}, and G. F. Shchukina^c

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

^b*Far Eastern Federal University, Vladivostok 690922, Russia*

^c*Marine Biotechnopark, Vladivostok 690105, Russia*

The red king crab *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) is a commercially valuable species highly demanded in the market. The history of red king crab fishery is also a history of overharvesting crises. The modern approach to sustainable bioresource management suggests various measures including artificial breeding to compensate for the unstable natural recruitment. In this review, the issues of artificial propagation of the red king crab are analyzed: catching and keeping of egg-bearing females until larval hatch, rearing of larvae at different developmental stages, and obtaining and release of juveniles into the natural habitat. The biotechnology for keeping and rearing red king crab larvae to the juvenile stage is discussed: water temperature, salinity, and stocking density of larvae, as well as the issues of assessment of rearing efficiency until crabs reach sexual maturity and are recruited to the commercial stock. To provide successful propagation and recruitment to the natural population, the procedure for releasing juveniles needs optimization taking into account specifics of the natural biotic environment.

Keywords: red king crab, artificial propagation, biological resource management

УДК 591.524.12

ВИДОВОЙ СОСТАВ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СООБЩЕСТВА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ МОРСКОГО ЛЬДА В БУХТАХ ОСТРОВА РУССКИЙ (ЗАЛИВ ПЕТРА ВЕЛИКОГО, ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

© 2022 г. Е. А. Юрикова¹, *, А. А. Бегун¹¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (ННЦМБ), Владивосток 690041, Россия

*e-mail: komcitykat@mail.ru

Поступила в редакцию 16.10.2021 г.

После доработки 27.01.2022 г.

Принята к публикации 24.03.2022 г.

Впервые для российского побережья Японского моря исследованы видовой состав и определены количественные характеристики сообщества микроводорослей морского льда. Идентифицировано 88 видов микроводорослей из 50 родов и 7 отделов; для водорослей отдела Bacillariophyta отмечено максимальное видовое богатство – 57–99% от общего числа видов. По количеству преобладали планктонные морские преимущественно ледово-неритические диатомовые водоросли *Chaetoceros socialis* f. *radians*, *Detonula confervacea*, *Entomoneis gigantea* var. *decussata*, *Navicula granii*, *N. septentrionalis*, *Nitzschia frigida*, *Thalassiosira gravida* и *T. nordenskiöldii*. Общая численность микроводорослей в 2020 г. в горизонтах льда в б. Новик варьировала от 23.8 до 68.6 кл/мл и в б. Воевода – от 21.1 до 1296.2 кл/мл; в 2021 г. численность микроводорослей в б. Новик изменялась от 1160.9 до 3296.9 кл/мл, а в б. Воевода – от 32.3 до 1607.5 кл/мл. Количественные характеристики ледовой альгофлоры двух акваторий о-ва Русский различались в зависимости от года исследования, акватории и слоя ледового керна.

Ключевые слова: ледовая альгофлора, диатомовые водоросли, остров Русский

DOI: 10.31857/S0134347522060158

Микроводоросли являются основным биологическим компонентом ледового покрова и важным источником пищи для организмов более высокой трофической ступени; в зимние сезоны они дают от 7.5 до 57% общей первичной продукции арктических морей (Gosselin et al., 1997; Dupont, 2012), а также влияют на физико-химические параметры льда (Мельников, 1989). Опубликованы результаты исследований отечественных и зарубежных авторов по альгофлоре льдов полярных регионов (Буйницкий, 1973; Мельников, 1989; Werner et al., 2007; Arrigo et al., 2014; Рябушко, 2016; Kauko et al., 2018). В данных работах приведен видовой состав, выделены доминирующие группы микроводорослей, отмечено их влияние на структуру льда, а также описаны предполагаемые механизмы попадания микроводорослей в лед и прикрепления их к нижней кромке льда аналогично прикреплению к субстрату у бентосных форм. Кроме этого рассмотрены биологические причины процесса приобретения льдом окраски разных оттенков в зависимости от присутствия разных групп микроводорослей и обра-

зования разломов в ледовом покрове в областях с их повышенной концентрацией.

Зал. Петра Великого Японского моря – одна из самых южных акваторий Северного полушария, на которой в течение нескольких месяцев формируется устойчивый ледовый покров. Исследования ледовой альгофлоры в данном регионе ограничены работой по изучению хлорофилла и первичной продукции микроводорослей (Кузнецов, 1980), а также сведениями о продукционных характеристиках льда в эстуарии р. Раздольная (Звалинский и др., 2010). Методические трудности пробоотбора, вероятно, стали причиной того, что ледовый биотоп в этой акватории не был охвачен альгологическими исследованиями, тогда как подледный фитопланктон изучен достаточно широко (Бегун и др., 2003, 2011; Пономарев, 2017; Шевченко и др., 2020).

В бухтах Воевода и Новик о-ва Русский проводились гидрологические, гидрохимические и экологические исследования (Мельниченко и др., 2014; Барабанщиков и др., 2015, 2018; Христофорова и др., 2016, 2017; Мельниченко и др., 2017; Бойченко и др., 2019). В б. Воевода были

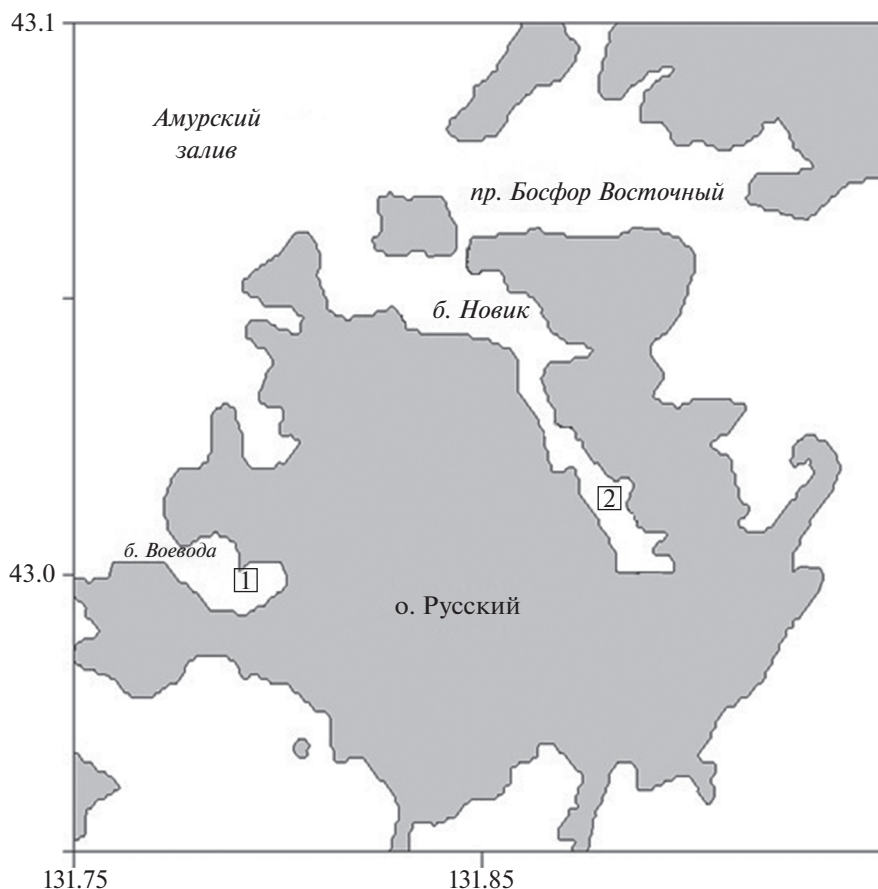


Рис. 1. Карта-схема станций отбора кернов льда и проб подледной воды: 1 – б. Воевода; 2 – б. Новик.

изучены заросли *Zostera marina* – важного источника формирования органического вещества акватории. После постройки кампуса Дальневосточного федерального университета (ДВФУ) экологическая обстановка в достаточно закрытой от внешних вод акватории б. Новик продолжает изменяться. Влияние предприятий марикультуры, находящихся в б. Воевода, и бытовых стоков кампуса ДВФУ в б. Новик представляет базу для ботанических и экологических исследований трансформаций морской биоты под антропогенным воздействием.

Цель настоящей работы – изучить видовой состав и количественные характеристики ледовой альгофлоры бухт Воевода и Новик о-ва Русский в зимние сезоны 2020 и 2021 гг.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования проводили в феврале 2020 и 2021 гг. в бухтах Воевода и Новик о-ва Русский (рис. 1). Метеорологические условия в периоды отбора проб характеризовались безоблачной погодой и температурой воздуха около -0.3°C . Лед, сформировавшийся за предыдущие 2–2.5 мес.,

отличался низкой прозрачностью в б. Воевода и высокой прозрачностью в б. Новик. Толщина ледового покрова в 2020 г. в б. Воевода составляла 44 см, в б. Новик – 38 см; в 2021 г. в б. Воевода – 62 см и в б. Новик – 64 см. Наличие снежного покрова было отмечено только в б. Воевода: в 2020 г. – около 10 см, в 2021 г. – около 3 см. В точках пробоотбора измеряли глубину до дна, которая в б. Воевода в 2020 г. составляла 3 м, в 2021 г. – около 2.5 м; в б. Новик в 2020 г. – 7 м, в 2021 г. – 7.5 м.

Для изучения ледовой альгофлоры были отобраны 4 керна льда (рис. 2) и 4 пробы подледной воды. Ледовые керны отбирали кольцевым буром диаметром 15 см; затем их распиливали ножовкой на шайбы длиной по 10 см, которые помещали в стерильные пластиковые контейнеры.

Пробы подледной воды отбирали из пробуренной лунки с поверхностного горизонта при помощи 5-литрового батометра Нискина. В лабораторных условиях образцы кернов растапливали при температуре около 24°C . Фиксировали пробы 5%-ным раствором йодистого калия в соотношении 2.5 мл фиксатора на 1 л пробы. Таким образом, учитывая толщину льда, из каждой бухты в 2020 г. получено по 4 пробы полного объема талой

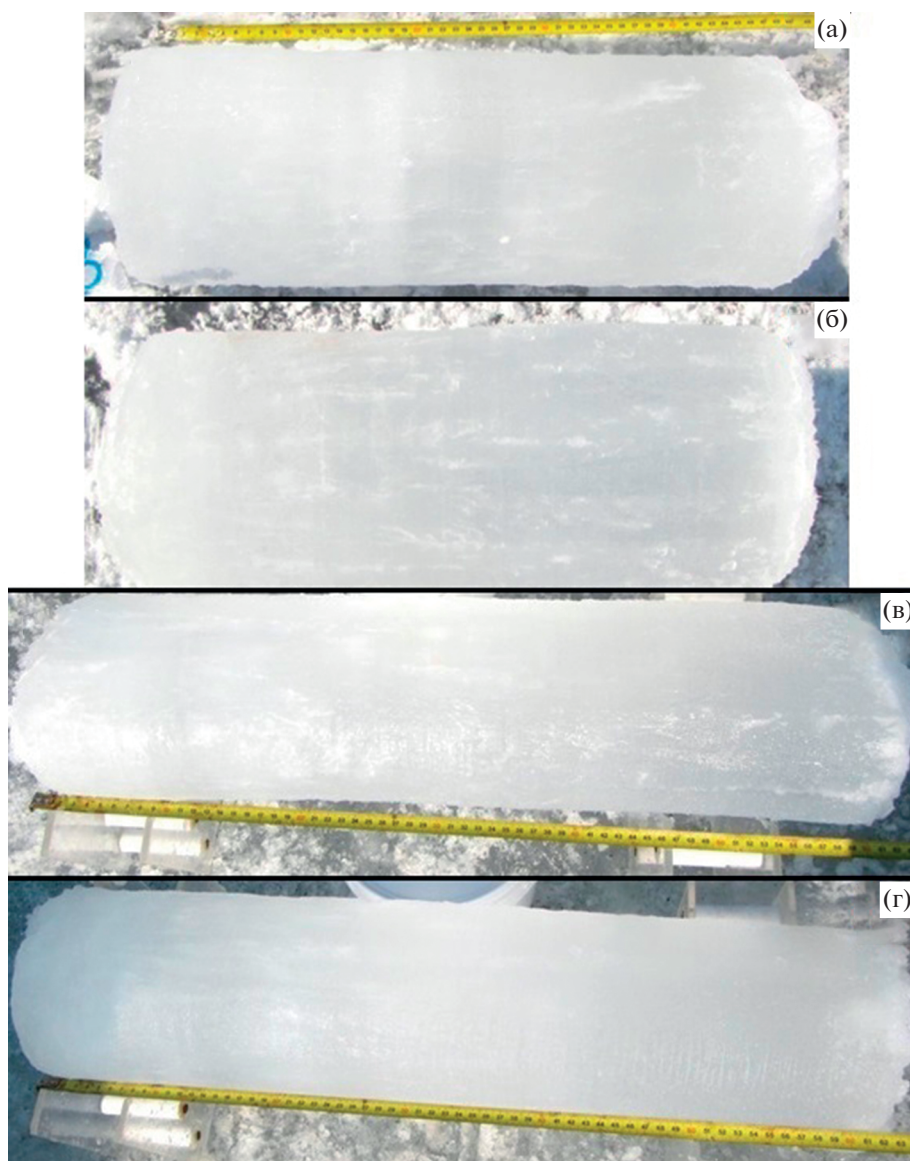


Рис. 2. Ледовые керны, отобранные в 2020 и в 2021 гг. в бухтах Воевода (а, в) и Новик (б, г).

воды, а в 2021 г. — по 6 проб. Следуя методике осаждения Радченко (Радченко и др., 2010), через 12 сут избыток воды из каждой пробы сливали до 100–200 мл остатка.

Видовую идентификацию и подсчет количественных параметров микроводорослей проводили в Лаборатории морской микробиоты ННЦМБ ДВО РАН. При видовой идентификации микроводорослей использовали световой микроскоп “Olympus BX41”, объектив UPLanF1 100×/1/.30 (Япония). Видовой состав уточняли с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) “Sigma 300 VP” (Великобритания). Клетки подсчитывали в камере “Сэдвик-Рафтер” (Sedgewick Rafter Counting cells) объемом 1 мл. Отделы микроводорослей приведены согласно системе клас-

сификации (Identifying marine..., 1997) с учетом номенклатурных изменений за последние 10 лет. К массовым относили доминирующие и субдоминирующие виды, численность которых составляла соответственно более 20% и от 5 до 20% от общей численности микроводорослей (Орлова и др., 2009).

Графики сходства ледовых горизонтов построены в программе Primer-e7 (Clarke, Warwick, 2001) с использованием метода неметрического многомерного шкалирования для ординации альгофлор на основании сходства обилия видов в разных слоях ледового покрова и в подледной воде. Перед проведением анализа исходную матрицу обилия видов предварительно трансформировали путем стандартизации по пробам и последую-

Таблица 1. Таксономический состав альгофлоры морского льда и подледного фитопланктона в двух бухтах острова Русский

Отдел	Число видов			
	2020 г.		2021 г.	
	б. Воевода	б. Новик	б. Воевода	б. Новик
Ochrophyta	1	1	1	2
Bacillariophyta	26	26	42	31
Cryptophyta	—	—	1	1
Dinophyta	8	9	2	5
Chlorophyta	—	—	4	3
Euglenophyta	—	1	1	1
Haptophyta	—	—	—	1
Число общих видов/коэффициент Серенсена	21/0.57		32/0.68	
Преобладающие роды (число видов)	<i>Protoperidinium</i> (5), <i>Navicula</i> (3)	<i>Nitzschia</i> (5), <i>Protoperidinium</i> (4), <i>Navicula</i> (3)	<i>Navicula</i> (8)	<i>Navicula</i> (6)

шей логарифмизации. Мерой расстояния был избран уровень сходства Брея–Кертиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В составе фитопланктона и ледовой альгофлоры в бухтах Воевода и Новик в 2020 и 2021 гг. идентифицировано 88 видов микроводорослей из 50 родов и 7 отделов: Ochrophyta (2 вида), Bacillariophyta (66 видов), Cryptophyta (1 вид), Dinophyta (14 видов), Chlorophyta (3 вида), Euglenophyta (1 вид) и Haptophyta (1 вид). Из них в кернах льда обнаружено 80 видов из 45 родов и 7 отделов.

В 2020 г. в исследованных бухтах идентифицировано 52 вида микроводорослей из 31 рода и 4 отделов, а в 2021 г. — 63 вида из 41 рода и 7 отделов (табл. 1).

Диатомовые водоросли составляли основу ледового сообщества в обеих бухтах. Массовые виды (рис. 3) были представлены мелкоклеточными неидентифицированными видами рода *Nitzschia* (до 6767 кл./мл), а также *Nitzschia frigida* Grunow in Cleve & Grunow, 1880 (до 3963 кл./мл); *Chaetoceros socialis* f. *radians* (F. Schütt) Proshkina-Lavrenko 1963 (до 2478 кл./мл); *Thalassiosira nordenskioldii* Cleve, 1873 (до 2470 кл./мл); *Navicula septentrionalis* Cleve, 1896 (до 1383 кл./мл); *Entomoneis gigantea* var. *decussata* (Grunow) Nizamuddin, 1982 (до 998 кл./мл) и *Navicula granii* (Jørgensen) Gran, 1908 (до 884 кл./мл).

В 2021 г. впервые для зал. Петра Великого в подледном фитопланктоне отмечено доминирование криптофитовой водоросли рода *Plagioselmis*, концентрация которой в б. Воевода достигала 4500 кл./мл или 67.6% от общей численности микроводорослей в биотопе, в б. Новик — 1714 кл./мл или 25.6% от общей численности.

ности микроводорослей в биотопе, в б. Новик — 1714 кл./мл или 25.6% от общей численности.

В ледовой флоре количественно преобладали морские виды с примесью солоноватоводных, часть из них входит в группу ледово-неритических. Это диатомовые водоросли *T. nordenskioldii*; *T. gravis* Cleve, 1896; *N. frigida* и *Detonula confervacea* (Cleve) Gran, 1900, а также виды родов *Navicula* и *Pseudo-nitzschia*.

Анализ распределения групп микроводорослей по горизонтам льда и в подледной воде показал, что в 2020 г. в б. Воевода максимальное количество клеток было сосредоточено в верхнем слое ледового керна (0–10 см) и постепенно снижалось по направлению к границе с подледной водой (рис. 4, 5). В то же время в б. Новик численность водорослей распределялась почти равномерно по всей толще льда. При этом численность ледовых микроводорослей в б. Новик была на порядок ниже, чем в б. Воевода, а в подледной воде, напротив, на порядок выше.

Состав основных групп микроводорослей в ледовых горизонтах и в подледной воде различался. Охрофитовые в б. Воевода были обильны преимущественно в верхних слоях льда (0–20 см), а в б. Новик — в подледном фитопланктоне. Максимальная концентрация динофитовых водорослей в б. Воевода зарегистрирована в среднем горизонте льда; в б. Новик динофитовые равномерно распределялись по всему ледовому керну, однако их максимальная концентрация зарегистрирована в подледной воде. Представители эвгленовых водорослей в 2020 г. были найдены только в б. Новик с наибольшей концентрацией в слое льда 10–20 см.

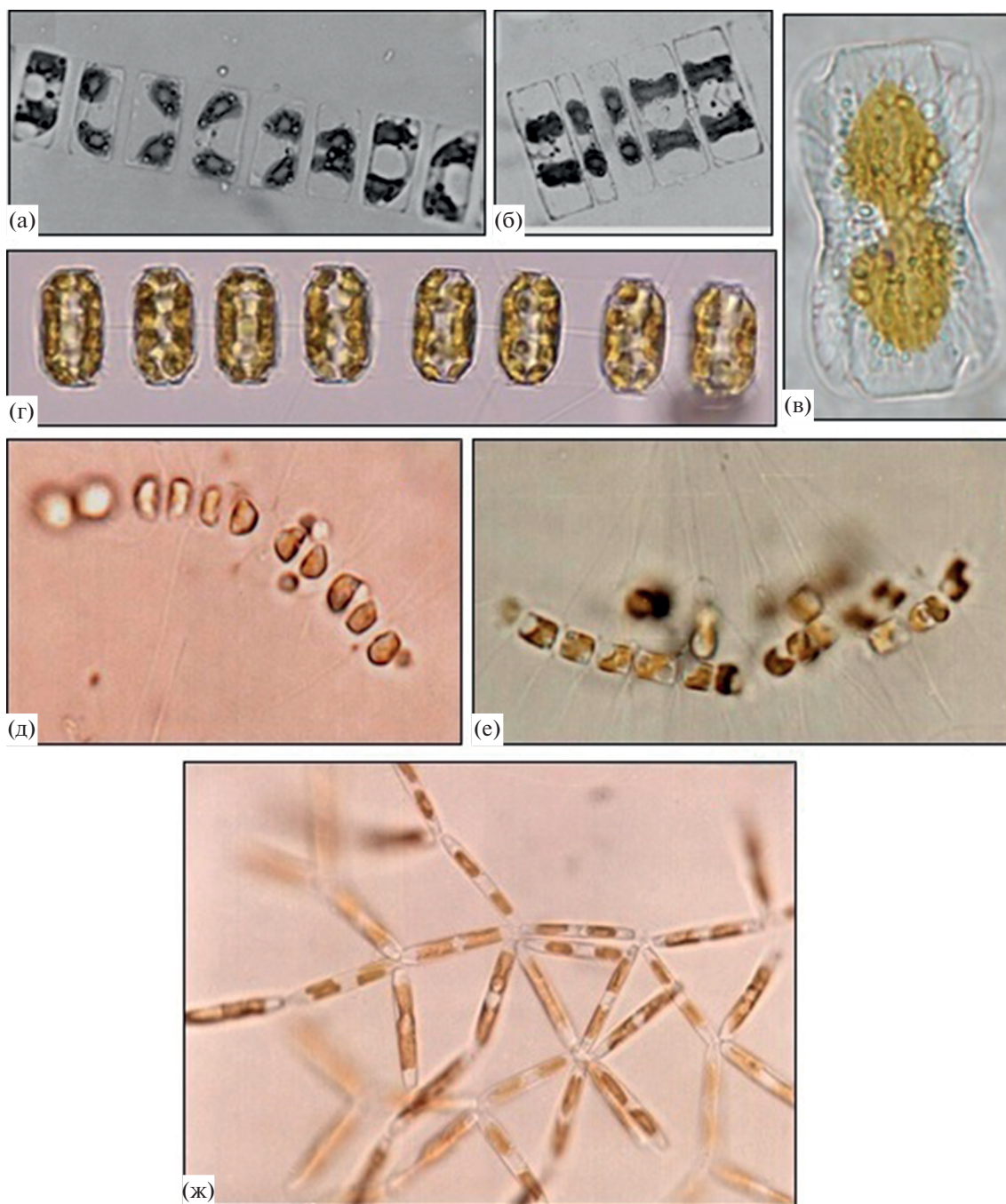


Рис. 3. Внешний вид некоторых массовых видов микроводорослей: *Navicula septentrionalis* (а, б); *Entomoneis gigantea* var. *decussata* (в); *Thalassiosira nordenskiöldii* (г); *Chaetoceros socialis* f. *radians* (д, е) и *Nitzschia frigida* (ж).

В 2021 г. в б. Воевода отмечена обратная закономерность — в верхних горизонтах льда численность клеток была минимальной, однако она возрастала с приближением к границе с подледной водой. Численность микроводорослей во льду по сравнению с таковой в предыдущий год была почти в 3 раза выше, а в фитопланктоне — выше на 3 порядка. В б. Новик максимум микроводорослей отмечен в верхнем слое льда, в остальных го-

ризонтах их численность распределялась относительно равномерно. Количественное обилие микроводорослей во льду и в подледной воде в 2021 г. по сравнению с таковым в 2020 г. оказалось выше на порядок. В то же время в б. Воевода снизилась степень доминирования диатомовых водорослей на фоне массового развития зеленых водорослей во льду и криптофитовых в фитопланктоне. В б. Новик, напротив, доля диатомей в

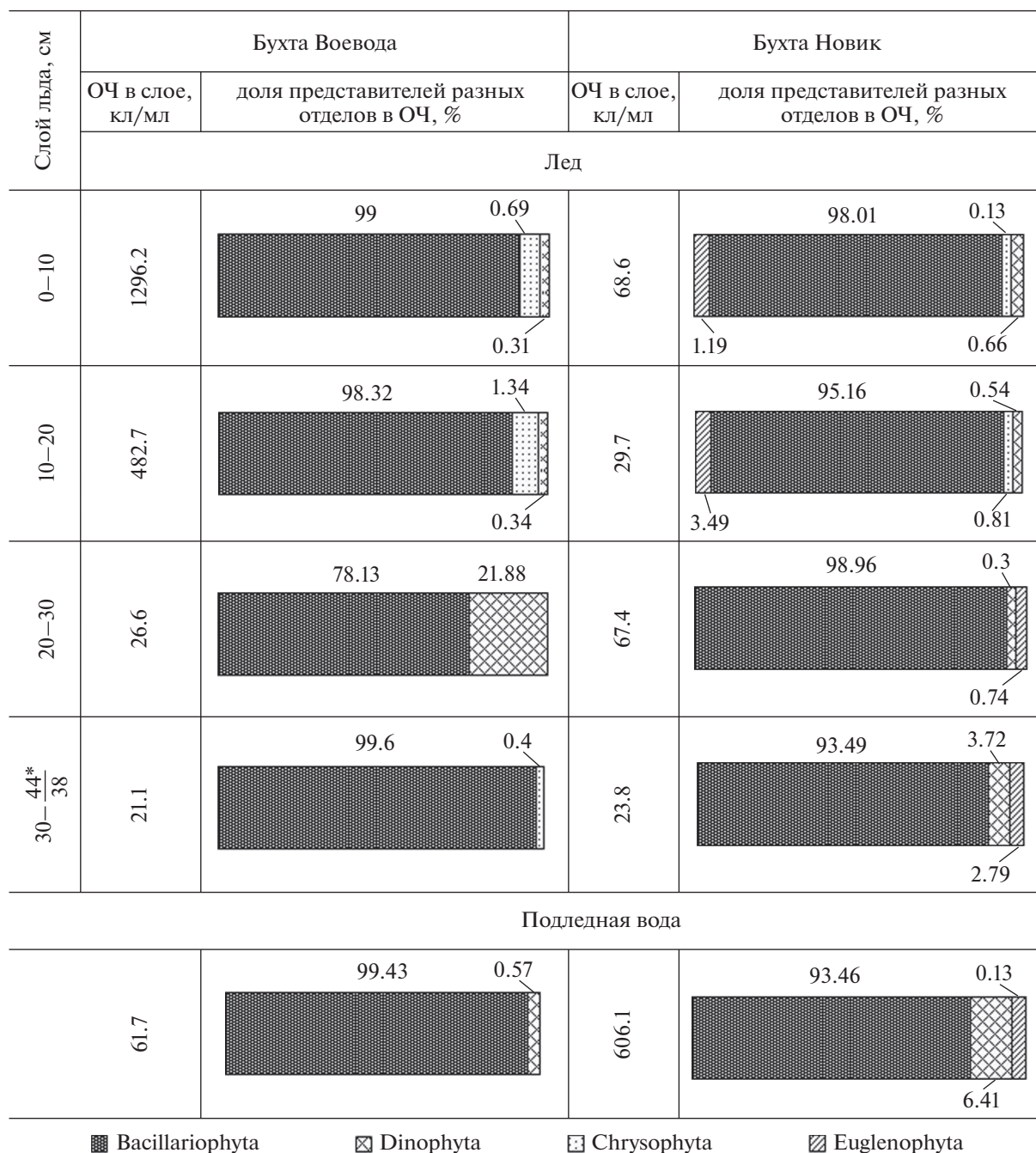


Рис. 4. Общая численность (ОЧ) микроводорослей и доля представителей разных отделов по слоям льда и в подледной воде в двух бухтах о-ва Русский в 2020 г. *Над чертой – толщина льда в б. Воевода, под чертой – в б. Новик.

ледовом биотопе по сравнению с таковой в предыдущий год повысилась и достигала 100% в слое 20–30 см. Представители группы зеленых водорослей были найдены только во льду. В б. Воевода их наибольшая концентрация была отмечена в среднем горизонте 20–30 см, а в б. Новик – в верхних слоях. Гаптофитовые были найдены только в б. Новик в составе ледовой альгофлоры верхнего горизонта.

Статистический анализ послойного распределения альгофлоры в ледовых горизонтах и подледной воде показал существенные различия в уровнях сходства горизонтов между собой в зависимости от типа биотопа, а также от бухты и года исследования. В 2020 г. в б. Воевода наибольшее сходство (70%) показали два верхних слоя ледового покрова (рис. 6а), а в б. Новик – два нижних слоя (53%) (рис. 6б). В 2021 г. качественный и ко-

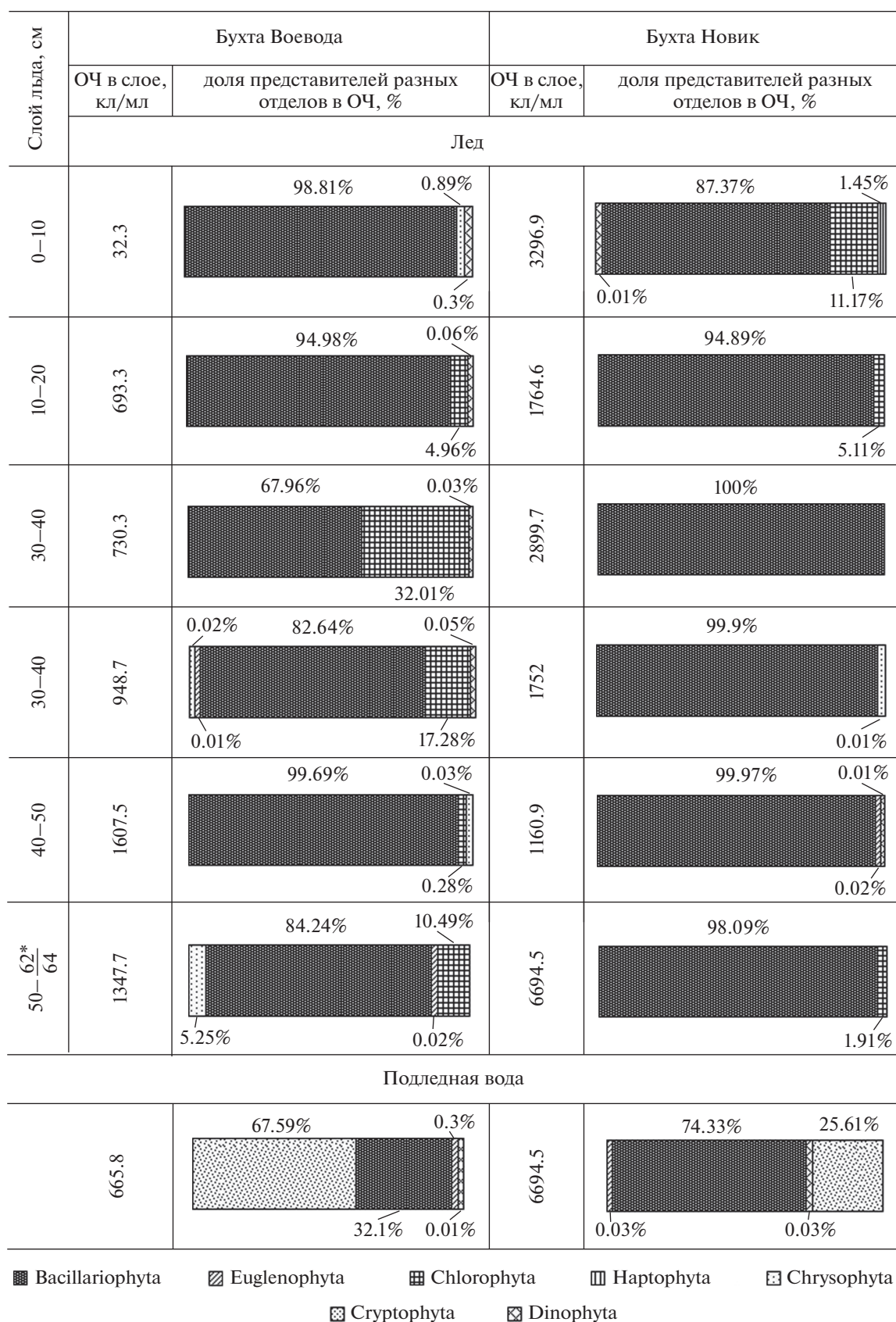


Рис. 5. Общая численность (ОЧ) микроводорослей и доля представителей разных отделов по слоям льда и в подледной воде в двух бухтах о-ва Русский в 2021 г. *Над чертой – толщина льда в б. Воевода, под чертой – в б. Новик.

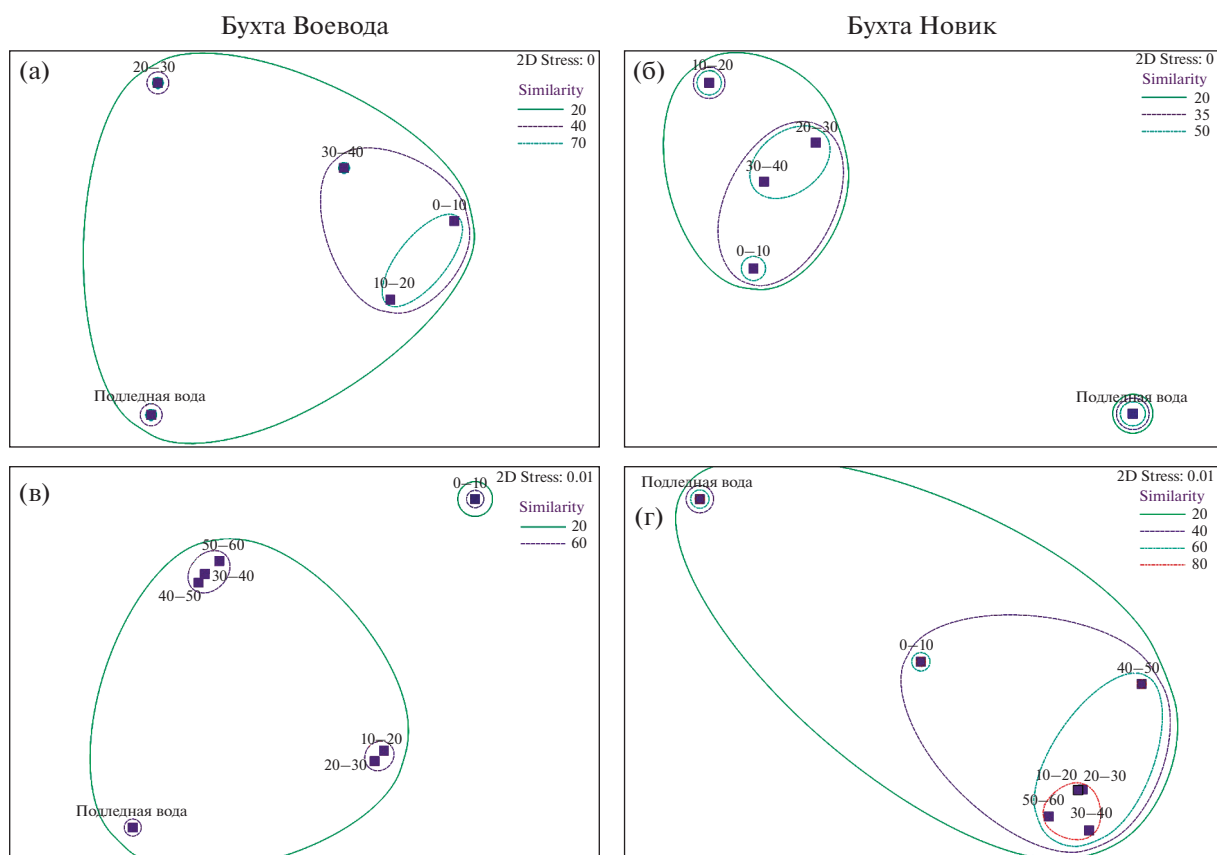


Рис. 6. Неметрическое многомерное шкалирование ординации альгофлоры для ледовых горизонтов и подледной воды в бухтах Воевода и Новик в 2020 г. (а, б) и в 2021 г. (в, г).

личественный состав ледовой альгофлоры в б. Воевода (рис. 6в) был сходным в трех нижних слоях (64%) и двух средних (61%), верхний горизонт оказался наиболее обособленным от остальных слоев (менее 20%). В 2021 г. в б. Новик (рис. 6г) наиболее высокий уровень сходства наблюдался между средними и нижними слоями льда (до 84%) из-за относительно высокого содержания диатомовых водорослей в данных слоях (рис. 5). Самым низким уровнем сходства (от 9 до 23%) во все периоды пробоотбора характеризовался фитопланктон подледной воды, очевидно, из-за различий гидролого-гидрохимических условий ледового и подледного биотопов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для ледовой альгофлоры бухт Воевода и Новик характерно преобладание диатомовых водорослей, определяющее сходство ее таксономической структуры, которое прослеживается и в наличии родов, преобладающих по числу видов, почти идентичных в обеих бухтах (табл. 1). В б. Новик в каждый из исследованных периодов отмечено большее количество групп микроводорослей. Однако число видов ледовых микроводорослей, кото-

рое в б. Воевода в 2020 г. было практически идентичным, в 2021 г. оказалось в 1.3 раза выше, чем в б. Новик. Вероятно, наблюдаемое сходство флор определяется достаточно близким географическим положением исследованных бухт, принадлежащих Амурскому заливу, и замкнутым типом циркуляции вод. Расположением бухт можно объяснить отмеченные различия в таксономической структуре ледовой альгофлоры. Бухта Новик глубоко врезается в остров, ее кутовая часть почти отделена от вод прол. Босфор Восточный и благодаря этому обладает высоким уровнем замкнутости экосистемы. Более открытая б. Воевода опресняется стоками р. Русская, поэтому в альгофлоре данной бухты могут чаще встречаться пресноводные виды, например, обнаруженные нами представители пресноводного рода *Pinnularia*.

В 2021 г. таксономический состав альгофлоры исследуемых бухт оказался богаче, чем в 2020 г. Это может быть связано с особенностями метеорологических условий, которые позволили сформировать ледовый покров большей толщины.

Большинство указанных доминирующих видов диатомовых водорослей альгофлоры морско-

го льда бухт Воевода и Новик широко известны для подледного фитопланктона акваторий зал. Петра Великого Японского моря, развивающегося при отрицательной температуре воды и достигающего интенсивности зимнего или ранневесеннего “цветения” (Семина, 1974; Коновалова и др., 1989; Бегун и др., 2003, 2011; Орлова и др., 2009; Пономарева, 2017; Стоник, 2018; Рябушко и др., 2019; Шевченко и др., 2020). Доминирование этих видов отмечено также в большинстве работ по флористическому составу ледового покрова морей полярных регионов (Усачев, 1949; Буйницкий, 1973; Мельников, 1989; Kauko et al., 2018).

Массовые представители ледовой альгофлоры бухт о-ва Русский являются преимущественно планктонными видами. Однако среди немассовых видов значительную часть составляли бентосные и бенто-планктонные формы, из которых наиболее многочисленными были *Navicula distans* (W. Smith) Brébisson 1854, *Tabularia tabulata* (C. Agardh) Snoeijis 1992 и *Parlibellus delognei* (Van Heurck) E.J. Cox 1988. Их присутствие обусловлено мелководностью бухт и близостью донного биотопа. В результате турбулентного перемешивания вод и поднятия к поверхности воды бентосные виды способны прикрепляться к нижней части ледового покрова как к субстрату, выступая в роли криоперифитона (Буйницкий, 1973; Мельников, Бондарчук, 1987; Ewert, Deming, 2013). В составе ледовой альгофлоры бухт о-ва Русский планктонные микроводоросли были представлены как центрическими, так и пеннатными формами, что характерно и для подледного фитопланктона акваторий зал. Петра Великого (Бегун и др., 2011; Пономарева, 2017; Шевченко и др., 2020).

Известно, что в результате турбулентного перемешивания вод пелагиали клетки микроводорослей включаются в морской лед в процессе его формирования (Kauko et al., 2018). Однако, по мнению некоторых исследователей (Ratkova, Wassmann, 2005; Olsen et al., 2017), бентос, в том числе обитатели донных грунтов, также являются источником пополнения ледового биотопа альгофлорой. Одни авторы считают, что по мере формирования молодого льда центрических диатомовых водорослей становится больше, чем пеннатных (Okolodkov, 1992; Niemi et al., 2011) и динофитовых (Galindo et al., 2017; Campbell et al., 2018). По мнению других авторов, преобладание пеннатных диатомей является основной стадией сукцессии во время “цветения” ледовой флоры (Leu et al., 2015; van Leeuwe et al., 2018).

Исследование сформировавшегося за 2–2.5 мес. морского льда бухт о-ва Русский показало, что максимальное количественное обилие ледовой альгофлоры было представлено преимущественно микроводорослями планктонного биотопа. Это обусловлено тем, что во время закономерного для

зимнего сезона массового развития подледного фитопланктона массовые виды способны с большей или меньшей интенсивностью включаться в состав ледового биотопа при формировании морского льда. Данная интенсивность связана с рядом сложных метеорологических и гидрохимических событий, происходящих в акватории в момент льдообразования, что находит отражение в различии количественного обилия микроводорослей в каждом слое ледового покрова.

Таким образом, впервые в российском прибрежье Японского моря проведено исследование видовой состава и количественных характеристик сообщества микроводорослей морского льда, которое дополняет опубликованные данные о флористическом составе акваторий зал. Петра Великого и позволяет планировать проведение дальнейших работ по изучению льда как биотопа с уникальными экологическими условиями. Установлено, что видовой состав альгофлоры морского льда акваторий о-ва Русский достаточно разнообразен; определены сравнительно высокие количественные показатели микроводорослей, характеризующие преимущественно планктонные ледо-неритические виды. Видовые и количественные особенности альгофлоры зависели от морфологии бухты и метеорологических условий года наблюдения. Флористический состав б. Воевода по сравнению с таковым более закрытой б. Новик в целом характеризовался большим количеством видов, но меньшим числом групп микроводорослей. При этом количественные характеристики в ледовом биотопе, по-видимому, в большей степени зависели от метеорологических условий конкретного года, что отражается в резком различии численности микроводорослей в бухтах, которая в 2020 г. была больше в б. Воевода, а в 2021 г. — в б. Новик. Кроме этого, прослеживались различия в послыдном распределении массовых видов микроводорослей и в их количественном обилии, составлявшие иногда более одного порядка величин в зависимости от конкретного ледового горизонта. В б. Воевода эта дифференциация была значительной, в то время как в б. Новик она прослеживалась слабо, что позволяет сделать вывод о высоком влиянии особенностей расположения акваторий и сложившейся экологической обстановки на формирование ледового биотопа.

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.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам Тихоокеанского океанологического института ДВО РАН П.Я. Тищенко, П.Ю. Семкину, Ю.А. Барабанщикову, С.Г. Сагалаеву за помощь в организации и проведении полевых работ. Авторы также признательны Т.Ю. Орловой, А.С. Бегун и А.Ю. Лазарюку за научные консультации. Работа выполнена на базе ЦКП РК “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барабанщиков Ю.А., Тищенко П.Я., Семкин П.Ю. и др.* Сезонные гидролого-гидрохимические исследования бухты Воевода (Амурский залив, Японское море) // Изв. ТИНРО. 2015. Т. 180. С. 161–178.
- Барабанщиков Ю.А., Тищенко П.Я., Семкин П.Ю. и др.* Условия образования лечебных грязей в бухте Воевода (Амурский залив, Японское море) // Изв. ТИНРО. 2018. Т. 192. С. 167–176.
- Бегун А.А., Орлова Т.Ю., Звягинцев А.Ю.* Фитопланктон Амурского залива Японского моря в районе г. Владивостока // Альгология. 2003. Т. 13. № 2. С. 204–215.
- Бегун А.А., Звягинцев А.Ю., Масленников С.И.* Фитопланктон в районе очистных сооружений г. Владивостока (Амурский залив, Японское море) // Науч. тр. Дальрыбвтуза. 2011. Т. 24. С. 3–12.
- Бойченко Т.В., Христофорова Н.К., Емельянов А.А.* Микробная индикация загрязнения поверхностных вод бухты Новик (остров Русский, зал. Петра Великого, Японское море) // Изв. ТИНРО. 2019. Т. 198. С. 186–194.
- Буйницкий В.Х.* Морские льды и айсберги Антарктики. Изд-во ЛГУ. 1973. 256 с.
- Звалинский В.И., Марьяш А.А., Стоник И.В. и др.* Продукционные и гидрохимические характеристики льда, подледной воды и донных осадков эстуария реки Раздольной (Амурский залив, Японское море) в период ледостава // Биол. моря. 2010. Т. 36. № 3. С. 186–195.
- Коновалова Г.В., Орлова Т.Ю., Паутова Л.А.* Атлас морского фитопланктона Японского моря. Л.: Наука. 1989. 160 с.
- Кузнецов Л.Л.* Хлорофиллы и первичная продукция микроводорослей, связанных со льдом Амурского залива Японского моря // Биол. моря. 1980. № 5. С. 72–74.
- Мельников И.А.* Экосистема арктического морского льда. М.: ИО АН СССР. 1989. 192 с.
- Мельников И.А., Бондарчук Л.Л.* К экологии массовых скоплений колониальных диатомовых водорослей под арктическим дрейфующим льдом // Океанология. 1987. Вып. 2. С. 317–321.
- Мельниченко Н.А., Тювеев А.В., Лазарюк А.Ю. и др.* Вертикальное распределение содержания рассола, температуры и солености в припайных льдах бухты Новик (о-в Русский) залива Петра Великого // Вестн. ДВО РАН. 2014. № 5. С. 32–38.
- Мельниченко Н.А., Тювеев А.В., Лазарюк А.Ю. и др.* Особенности формирования вертикальной структуры льда в бухте Новик (о-в Русский) по данным ЯМР и МРТ // Вестн. ДВО РАН. 2017. № 4. С. 70–80.
- Орлова Т.Ю., Стоник И.В., Шевченко О.Г.* Флора микроводорослей планктона Амурского залива Японского моря // Биол. моря. 2009. Т. 35. № 1. С. 48–61.
- Пономарева А.А.* Структура и динамика фитопланктона в бухте Парис (залив Петра Великого, Японское море): Автореф. канд. дис. Владивосток: ННЦМБ ДВО РАН. 2017. 23 с.
- Радченко И.Г., Капков В.И., Федоров В.Д.* Практическое руководство по сбору и анализу проб морского фитопланктона. М.: Мордвинцев. 2010. 60 с.
- Рябушко Л.И.* Состояние изученности микрофитобентоса Аргентинских островов Южного океана (Антарктика) // Природная среда Антарктики: современное состояние изученности: Материалы II Международ. научно-практ. конф. ГНПО Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам. 2016. С. 307–311.
- Рябушко Л.И., Балычева Д.С., Бондаренко А.В. и др.* Различные аспекты изучения диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Lewin 1964 в природных и лабораторных условиях // Мор. биол. журн. 2019. Т. 4. № 2. С. 52–62.
- Семина Г.И.* Фитопланктон Тихого океана. М.: Наука. 1974. 237 с.
- Стоник И.В.* Качественный и количественный состав фитопланктона бухты Золотой Рог Японского моря // Изв. ТИНРО. 2018. Т. 194. С. 167–174.
- Усачев И.И.* Микрофлора полярных льдов // Тр. Ин-та океанол. 1949. Т. 3. С. 216–258.
- Христофорова Н.К., Дегтева Ю.Е., Бердасова К.С. и др.* Химико-экологическое состояние бухты Новик (остров Русский, зал. Петра Великого, Японское море) // Изв. ТИНРО. 2016. Т. 186. С. 135–144.
- Христофорова Н.К., Бойченко Т.В., Емельянов А.А. и др.* Микробиологический контроль состояния вод бухты Новик (залив Петра Великого, Японское море) // Изв. ТИНРО. 2017. Т. 189. С. 121–130.
- Шевченко О.Г., Тевс К.О., Шулькин В.М.* Комплексный мониторинг фитопланктона в мелководной бухте залива Петра Великого (Японское море): динамика хлорофилла “а” и биогенных элементов // Изв. ТИНРО. 2020. Т. 200. Вып. 1. С. 141–154.
- Arrigo K.R., Brown Z.W., Mills M.M.* Sea ice algal biomass and physiology in the Amundsen Sea, Antarctica // Elementa: Sci. Anthropocene. 2014. V. 2. 000028. <https://doi.org/10.12952/journal.elementa.000028>
- Campbell K., Mundy C.J., Belzile C. et al.* Seasonal dynamics of algal and bacterial communities in Arctic sea ice under variable snow cover // Polar Biol. 2018. V. 41. P. 41–58.
- Clarke K.R., Warwick R.M.* Software PRIMER. Primer-E Ltd.: Plymouth, UK. 2001.
- Dupont F.* Impact of sea-ice biology on overall primary production in a biophysical model of the pan-Arctic Ocean // J. Geophys. Res.: Oceans. 2012. V. 117. P. 1–18.
- Ewert M., Deming J.W.* Sea ice microorganisms: Environmental constraints and extracellular responses // Biology (Basel). 2013. V. 2. № 2. P. 603–628.

- Galindo V., Gosselin M., Lavaud J. et al.* Pigment composition and photoprotection of Arctic sea ice algae during spring // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 2017. V. 585. P. 49–69.
- Gosselin M., Levasseur M., Wheeler P.A. et al.* New measurements of phytoplankton and ice algal production in the Arctic Ocean // *Deep-Sea Res. Part II.* 1997. V. 44. № 8. P. 1623–1644.
- Identifying marine phytoplankton / Ed. R.T. Carmelo. New York: Acad. Press. 1997. 858 p.
- Kauko M.H., Olsen M.L., Duarte P. et al.* Algal colonization of young Arctic Sea ice in spring // *Front. Mar. Sci.* 2018. № 5. P. 1–20.
- Leu E., Mundy C.J., Assmy P. et al.* Arctic spring awakening—steering principles behind the phenology of vernal ice algal blooms // *Prog. Oceanogr.* 2015. V. 139. P. 151–170.
- Niemi A., Michel C., Hille K. et al.* Protist assemblages in winter sea ice: setting the stage for the spring ice algal bloom // *Polar Biol.* 2011. V. 34. P. 1803–1817.
- Okolodkov Y.B.* Cryopelagic flora of the Chukchi, East Siberian and Laptev Sea // *Proc. NIPR Symp. Polar Biol.* 1992. V. 5. P. 28–43.
- Olsen M.L., Laney S.R., Duarte P. et al.* The seeding of ice algal blooms in Arctic pack ice: the multiyear ice seed repository hypothesis // *J. Geophys. Res.: Biogeosci.* 2017. V. 122. P. 1–20.
- Ratkova T.N., Wassmann P.* Sea ice algae in the White and Barents seas: composition and origin // *Polar Res.* 2005. V. 24. P. 95–110.
- van Leeuwe M.A., Tedesco L., Arrigo K. R. et al.* Microalgal community structure and primary production in Arctic and Antarctic sea ice: a synthesis // *Elementa: Sci. Anthropocene.* 2018. V. 6. № 4. <https://doi.org/10.1525/elementa.267>
- Werner I., Ikävalko J., Schünemann H.* Sea-ice algae in Arctic pack ice during late winter // *Polar Biol.* 2007. V. 30. P. 1493–1504.

The Species Composition and Quantitative Characteristics of the Sea Ice Microalgal Community from the Coast of Russky Island (Peter the Great Bay, Sea of Japan)

E. A. Yurikova^a and A. A. Begun^a

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

This pioneering project was conducted to study the sea ice microalgae community collected along the coast of Russky Island, which is located in the Gulf of Peter the Great, Sea of Japan. We examined the sea ice microalgae species composition and its quantitative characteristics. Eighty-eight microalga taxa assigned to 50 genera and 7 divisions have been identified. The greatest species diversity was noted for algae of the *Bacillariophyta* where it has reached 57 to 99% of the total assemblage. The most abundant taxa were planktonic, marine, mainly ice-neritic diatoms: *Chaetoceros socialis* f. *radians*, *Detonula confervacea*, *Entomoneis gigantea* var. *decussata*, *Navicula granii*, *N. septentrionalis*, *Nitzschia frigida*, *Thalassiosira gravida* and *T. nordenskiöldii*. The total number of microalgae collected in 2020 from ice horizons in the Novik bay varied from 23.8 to 68.6 cells/mL and in the Voevoda bay, ranged from 21.1 to 1296.2 cells/mL. In samples collected in 2021, the number of microalgae in the Novik Bay changed from 1160.9 to 3296.9 cells/mL, and in the Voevoda Bay – from 32.3 to 1607.5 cells/mL. Quantitative characteristics of the ice algal flora in the two areas of our study, the Novik Bay and the Voevoda Bay, was found to differ, depending on the year of study, water area, and ice core layer.

Keywords: ice algal flora, diatoms, Russky Island, Sea of Japan

УДК 574.583(268.45)

ОСЕННИЙ БАКТЕРИОПЛАНКТОН СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ БАРЕНЦЕВА МОРЯ

© 2022 г. М. П. Венгер¹, В. Г. Дворецкий¹*, Т. М. Максимовская¹, Т. Г. Ишкулова¹,
А. В. Ващенко¹, В. В. Водопьянова¹

¹Мурманский морской биологический институт РАН (ММБИ), Мурманск 183010, Россия

*e-mail: v-dvoretzky@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.03.2022 г.

После доработки 24.06.2022 г.

Принята к публикации 28.06.2022 г.

Впервые изучено осеннее состояние бактериопланктона в северо-восточной части Баренцева моря. В районе исследований выделены теплые трансформированные атлантические, холодные арктические, промежуточные и придонные воды. В верхнем слое содержание минеральных биогенных элементов и кислорода было низким, максимальные концентрации биогенных элементов зарегистрированы в придонном слое. Численность бактерий изменялась от 220 до 1068 тыс. кл./мл, биомасса — от 2.7 до 12.5 мг С/м³, средний объем клеток варьировал от 0.020 до 0.136 мкм³. Горизонтальное распределение бактериопланктона характеризовалось мозаичностью, более явно был выражен вертикальный тренд — снижение количества бактерий и увеличение размеров их клеток с глубиной. В составе бактериопланктона доминировали одиночные мелкие клетки. Общее количество и биомасса бактериопланктона, а также численность некоторых размерных групп бактерий обратно коррелировали с концентрацией биогенных элементов (нитратов, фосфатов, силикатов) и с соленостью. Численность и биомасса бактерий демонстрировали слабую тенденцию к росту при увеличении температуры воды и содержания хлорофилла *a* в поверхностном слое. Проведено сравнение полученных результатов с литературными данными по другим сезонам и арктическим районам. Обсуждаются факторы, определяющие особенности распределения морских бактерий в осенний период.

Ключевые слова: бактериопланктон, водные массы, биогенные элементы, Баренцево море

DOI: 10.31857/S0134347522060146

С конца 20-го века Северный Ледовитый океан подвергается существенным климатическим изменениям (Climatic atlas ..., 2004). Отмечен выраженный тренд на потепление, снижение общей площади льда и удлинение безледного периода (ICES, 2021). В свою очередь, это оказывает большее влияние на все компоненты морских экосистем — от микробов до китообразных. Регистрируются изменения потоков органического углерода в пелагических трофических сетях, повышается активность микроорганизмов и снижается эффективность передачи энергии по пищевым цепям (Копылов, Косолапов, 2011).

Баренцево море — крупнейший шельфовый арктический район, который служит транзитной зоной между Атлантическим и Северным Ледовитым океанами (Ecosystem ..., 2009). Состояние экосистем Баренцева моря во многом определяется интенсивностью притока теплых высокосолесных вод атлантического происхождения из Норвежского моря, а в северных районах основное влияние оказывают холодные воды (Жизнь ..., 1985; Wassmann et al., 2006; Ecosystem ..., 2009).

Здесь наблюдается высокая пространственно-временная вариабельность абиотических и биотических факторов, которая создает основу для существенной пространственной и сезонной вариации функционирования микробных трофических сетей (Жизнь ..., 1985; Планктон морей ..., 1997).

Микробиологические исследования в Баренцевом море проводятся в течение многих лет, большая часть данных получена для весенне-летнего периода (Планктон морей ..., 1997; Howard-Jones et al., 2002; Sturluson et al., 2008; Tammert et al., 2008; Венгер, 2011; Венгер и др., 2012, 2016), преимущественно для южных, центральных и западных районов. Для северной части моря сведений о состоянии бактериопланктона очень мало, они относятся в основном к периоду массового цветения фитопланктона (Sturluson et al., 2008; Tammert et al., 2008). Однако для понимания сезонной динамики населения пелагиали необходимы данные о состоянии компонентов планктонных сообществ и в другие периоды. Исследований, анализирующих осеннее и зимнее состояние

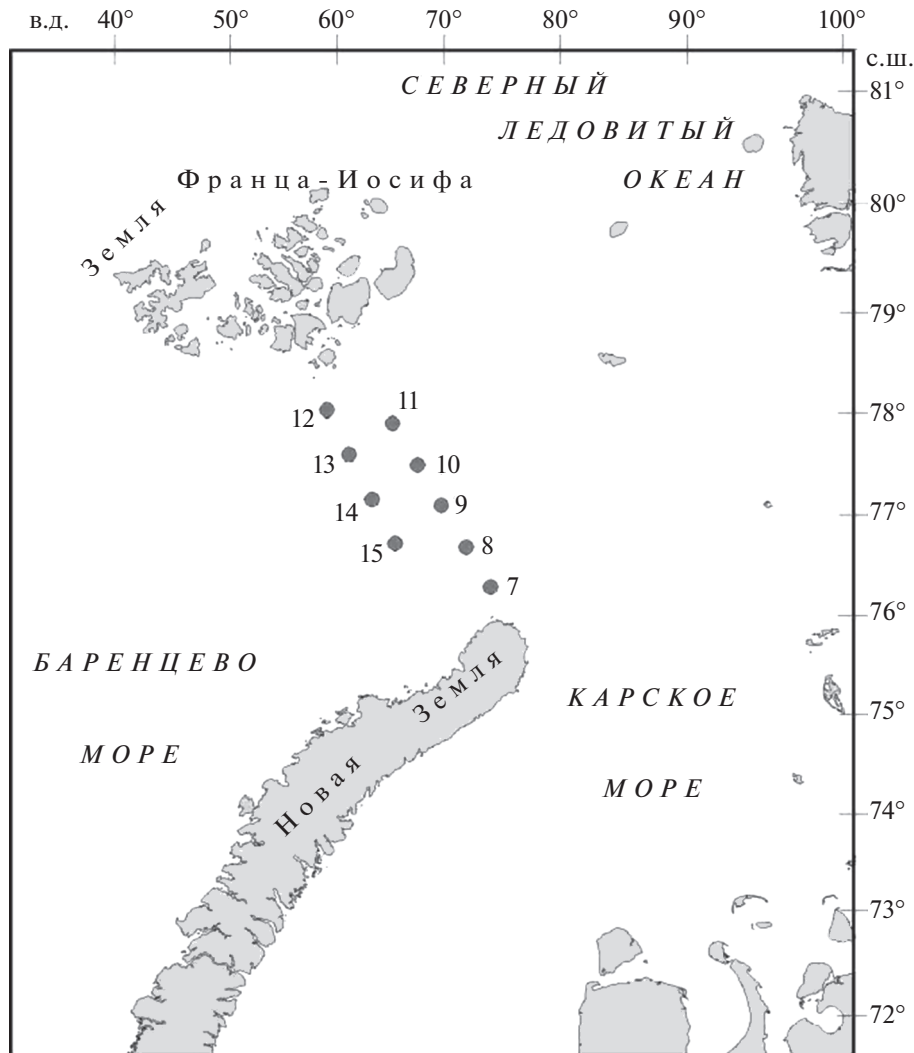


Рис. 1. Карта-схема станций отбора проб в северо-восточной части Баренцева моря (октябрь 2020 г.).

сообществ морских микробов, относительно немного, причем в них рассматриваются прибрежные и центральные районы моря (Широколобова и др., 2016).

Цель настоящей работы – изучить особенности пространственного распределения бактериопланктона в северо-восточной части Баренцева моря в осенний период, провести анализ размерно-морфологического состава сообщества бактерий и выявить внешние факторы, влияющие на обилие бактериопланктона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использовали данные, полученные в экспедиции ММБИ РАН на НИС “Дальние Зеленцы” в первой декаде октября 2020 г. (рис. 1). Вертикальные профили температуры воды и солености получены с помощью зонда STD-SEACAT SBE 19plus V2. Глубина на станциях в районе исследо-

ваний варьировала от 190 до 370 м. Пробы воды для гидрохимического и микробиологического анализа в зависимости от глубины станции отбирали на 5–6 горизонтах (0, 10, 25, 50, 100 м, дно). Для отбора проб использовали комплекс Rosette, снабженный пластиковыми батометрами Нискина.

Концентрацию растворенного кислорода определяли по методу Винклера. Насыщенность вод кислородом рассчитывали по стандартным формулам (Таблицы ..., 1976). Фосфаты, силикаты, нитриты и нитраты определяли стандартными методами (Руководство ..., 1993). Для анализа содержания хлорофилла *a* отбирали пробы объемом по 5 л с поверхностного горизонта (0, 10 м). Всего для анализа фитопигментов было отобрано 13 проб воды. Воду фильтровали под вакуумом (перепад давления 0.15–0.20 атм), использовали мембраны “Владипор” типа МФАС с диаметром пор 0.6 мкм. После гомогенизации фильтров хлорофилл экстрагировали 90%-ным ацетоном. Опре-

деление осуществляли на спектрофотометре Nicolett Evolution 500. Концентрацию хлорофилла *a* (мг/м³) вычисляли по стандартным формулам (ГОСТ..., 2001).

Воду для микробиологического анализа фиксировали 40%-ным формалином (конечная концентрация в пробе 2%). Количественный учет микроорганизмов проводили методом эпифлуоресцентной микроскопии; препараты просматривали при увеличении $\times 1000$ в свете УФ-лучей под микроскопом Olympus BX 53 с системой анализа изображения CellSensStandart (Япония).

Численность бактерий определяли с использованием флуорохрома DAPI и ядерных фильтров с диаметром пор 0.2 мкм (Porter, Feig, 1980). При подсчете бактерий просматривали 20–40 полей зрения. В каждой пробе просчитывали 400 и более клеток. Средний объем клеток рассчитывали на основе промеров не менее 100 бактерий из каждой пробы. Углеродную биомассу бактерий рассчитывали по уравнению (Norland, 1993): $C = 120 \times V^{0.72}$, где C – содержание углерода, фг/кл.; V – средний объем клетки, мкм³. По размерно-морфологическому составу выделяли мелкие одиночные клетки (диаметр и длина менее 2 мкм), среди которых выделяли ультрамикрорганов (объем клетки менее 0.04 мкм³); крупные палочковидные клетки (размер более 2 мкм); нитевидные клетки (соотношение длины к ширине более 10) и агрегированные бактерии на частицах детрита.

Распределение бактерий, а также гидрохимических и океанологических показателей рассматривали для четырех горизонтов: 0–10 м – поверхностный горизонт, 25–50 м – подповерхностный, 100 м – промежуточный и 190–365 м – придонный.

Для выявления различий между горизонтами отбора проб при нормальном распределении данных применяли однофакторный дисперсионный анализ, в остальных случаях – непараметрический тест Краскела–Уоллиса. Гомогенность данных проверяли при помощи модифицированного теста Левене. Для оценки возможных связей между численностью бактериопланктона, его биомассой, средним размером клеток и внешними факторами использовали метод ранговой корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при $p < 0.05$. Средние величины представлены со стандартным отклонением.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Температура воды в поверхностном слое изменялась от 0.06°C на севере до 2.7°C на юге, соленость варьировала от 33.49 до 34.52‰ (табл. 1). Отмечены теплые трансформированные атлантические (ТАВ), холодные арктические (АРВ), промежуточные и придонные воды. Потoki ТАВ в слое от 25 до 75 м представлены ветвью Новоземельского течения, а в слое от 100 до 200 м – вет-

вью заглубленного течения желоба Святой Анны. На состояние верхнего слоя водной толщи определяющее влияние оказывал ветер, под воздействием которого происходило смешение ТАВ и АРВ в слое 0–25 м. Глубина залегания пикноклина (слоя скачка плотности воды) менялась в не-больших пределах: от 30–45 м на северных станциях, до 40–60 м на южных. Ниже, под пикноклином, располагались воды с отрицательной температурой от –0.2 до –1.5°C и соленостью 34.50–34.70‰ (табл. 1). Между слоями воды выявлены достоверные различия по температуре и солености ($p < 0.001$).

Верхний водный слой характеризовался низкими концентрациями минеральных биогенных элементов (табл. 1), при этом насыщение воды кислородом и содержание O₂ были высокими. Минимальные концентрации фосфатов, нитритов и нитратов и максимальное содержание кремния определены в АРВ. Отмечены невысокие концентрации растворенного кислорода (табл. 1). От побережья Новой Земли (ТАВ) в северном направлении (АРВ) на глубине 50 м наблюдалась область повышенного содержания нитритного азота, которая образовалась в результате окисления органического вещества, скопившегося над скачком плотности. Максимальные концентрации биогенных веществ регистрировали в придонных водах. Различия показателей на разных горизонтах были статистически значимыми ($p < 0.05$). Концентрация хлорофилла *a* в поверхностном слое была низкой и колебалась в узких пределах (табл. 1).

Численность бактерий изменялась от 220 до 1068 тыс. кл./мл, а биомасса – от 2.7 до 12.5 мг С/м³ при среднем объеме клеток 0.020–0.136 мкм³ (табл. 1). В поверхностном и подповерхностном слоях численность, биомасса и средний объем клеток варьировали в более узких диапазонах. В промежуточном слое наблюдалось снижение обилия и биомассы бактерий, а минимальные значения отмечены в придонном горизонте. Различия между слоями были статистически значимыми ($p < 0.05$). Для бактериальных клеток среднего объема отмечена обратная тенденция, наибольшими размеры клеток были в глубоководных слоях. В верхней части водной толщи количественные показатели бактериопланктона достоверно не различались, при этом диапазоны значений в АРВ были значительно шире, чем в ТАВ. В глубинных водах разброс величин был незначительным (табл. 1).

Качественный состав бактериопланктона был представлен в основном одиночными клетками, агрегированный бактериопланктон встречался редко, микроколонии и бактериальные нити в пробах воды практически отсутствовали (табл. 1). Основу микробного сообщества формировали клетки длиной менее 2 мкм и шириной 0.2–0.6 мкм; их доля в общей численности достигала 94–100%, в об-

Таблица 1. Гидрологические параметры, концентрация биогенных элементов, хлорофилла *a* и микробиологические показатели в разных водных горизонтах северо-восточной части Баренцева моря (октябрь 2020 г.)

Параметр	Горизонты			
	поверхностный (0–10 м)	подповерхностный (25–50 м)	промежуточный (100 м)	придонный
Температура, °С	0.06–2.41	(–1.48)–2.51	(–1.65)–1.18	(–1.3)–(–0.76)
	1.29 ± 0.69	0.24 ± 1.26	(–0.18) ± 1.02	(–0.99) ± 0.18
Соленость, ‰	33.49–34.27	33.51–34.7	34.65–34.81	34.73–34.84
	33.91 ± 0.25	34.24 ± 0.38	34.74 ± 0.05	34.81 ± 0.04
Хлорофилл <i>a</i> , мг/м ³	0.18–0.36	–	–	–
	0.28 ± 0.06	–	–	–
Растворенный кислород, мл/л	7.62–8.01	7.05–8.2	6.81–8.2	6.81–7.0
	7.89 ± 0.13	7.75 ± 0.29	7.09 ± 0.42	6.9 ± 0.06
Насыщение воды кислородом, %	100–101	87–101	84–98	82–84
	100 ± 0	96 ± 5	88 ± 4	83 ± 1
Концентрация биогенных элементов, мкг моль/л				
PO ₄	0.03–0.17	0–0.7	0.13–0.85	0.25–0.89
	0.1 ± 0.05	0.23 ± 0.21	0.63 ± 0.22	0.63 ± 0.18
NO ₂	0–0.09	0–0.27	0.01–0.13	0–0.07
	0.02 ± 0.02	0.1 ± 0.09	0.05 ± 0.04	0.03 ± 0.02
NO ₃	0.1–1.37	0.1–10.45	5.06–17.26	14.97–18.65
	0.87 ± 0.39	3.06 ± 3.57	12.87 ± 4.53	17.46 ± 1.08
SiO ₃	0.39–1.94	0.4–1.95	1.95–5.44	4.34–8.6
	0.9 ± 0.45	1.13 ± 0.5	3.66 ± 1.19	6.03 ± 1.5
Биомасса бактерий, мг С/м ³	3.6–12.5	3.4–12	3–5.4	2.7–8.2
	6.31 ± 2.46	7.1 ± 2.17	4.36 ± 0.89	4.4 ± 1.78
Средний объем клетки, мкм ³	0.02–0.074	0.025–0.085	0.037–0.071	0.031–0.136
	0.038 ± 0.014	0.04 ± 0.014	0.048 ± 0.011	0.054 ± 0.032
Численность бактерий, тыс. кл./мл				
Общая численность	333–925	406–1068	230–392	220–409
	563 ± 143	622 ± 172	328 ± 57	313 ± 71
Группа 1	239–698	189–729	142–284	86–283
	385 ± 120	418 ± 124	198 ± 48	178 ± 63
Группа 2	51–391	63–454	85–196	63–214
	170 ± 88	197 ± 89	127 ± 40	130 ± 60
Группа 3	0.2–29.4	0.3–23.8	0.4–6.7	0.3–13.5
	4 ± 7	4 ± 7	2 ± 2	3 ± 4
Группа 4	0.5–9.5	0.4–5.8	0.4–3.8	1.1–5.4
	4 ± 2	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1
Группа 5	0–2	0.1–1.3	0–0.6	0–0.5
	0.38 ± 0.53	0.48 ± 0.33	0.24 ± 0.19	0.2 ± 0.17
Группа 6	–	0–2	0–1.7	–
	–	0.03 ± 0.01	0.07 ± 1	–

Примечание. Здесь и в табл. 2: группа 1 – ультрамикрорганйзмы; группа 2 – мелкие клетки; группа 3 – крупные клетки (папочки); группа 4 – клетки, агрегированные на детрите; группа 5 – нитевидные клетки; группа 6 – микроколонии. PO₄ – фосфаты, NO₂ – нитриты, NO₃ – нитраты, SiO₃ – силикаты. Над чертой – диапазон значений, под чертой – среднее.

Таблица 2. Результаты корреляционного анализа между микробиологическими параметрами и показателями внешней среды в северо-восточной части Баренцева моря (октябрь 2020 г.)

Характеристика внешней среды	Численность бактерий, тыс. кл./мл						Биомасса бактерий, мг С/м ³	Средний объем клеток, мкм ³	
	общая	группа 1	группа 2	группа 3	группа 4	группа 5			
<i>T</i> , °С	0.29	0.27	−0.01	−0.15	0.21	−0.22	0.00	−0.39	
<i>S</i> , ‰	−0.64	−0.64	−0.17	−0.25	−0.41	−0.26	−0.38	0.38	
Хл <i>a</i> , мг/м ³	0.08	0.04	−0.10	0.13	0.02	0.16	0.13	0.15	
Растворенный O ₂ , мл/л	0.62	0.58	0.15	0.22	0.27	0.24	0.35	−0.39	
Насыщение воды O ₂ , %	0.58	0.55	0.1	0.14	0.32	0.06	0.29	−0.41	
Концентрация, мкг моль/л	PO ₄	−0.54	0.27	−0.01	−0.15	0.21	−0.22	0.00	−0.39
	NO ₂	−0.02	−0.64	−0.17	−0.25	−0.41	−0.26	−0.38	0.38
	NO ₃	−0.65	0.04	−0.10	0.13	0.02	0.16	0.13	0.15
	SiO ₃	−0.57	0.58	0.15	0.22	0.27	0.24	0.35	−0.39

Примечание. *T* – температура воды; *S* – соленость; Хл *a* – концентрация хлорофилла *a* в поверхностном слое. Жирным шрифтом отмечены статистически значимые коэффициенты ранговой корреляции Спирмена ($p < 0.05$). Объем выборки $n = 50$ для всех показателей, кроме концентрации хлорофилла *a*; для хлорофилла *a* объем выборки $n = 13$. Для группы 6 анализ не проводили из-за малого объема выборки.

шей биомассе – 76–100%. Доля ультрамикрорганизмов в указанной размерной фракции в среднем составляла $69 \pm 3\%$, снижаясь в донных водах у Земли Франца-Иосифа и Новой Земли до $53 \pm 4\%$. Вклад крупных палочковидных клеток и агрегированного бактериопланктона в общую численность и биомассу был невысоким: в водах у Земли Франца-Иосифа их доля не превышала 5% от общей численности и 23% от общей биомассы. Отмечена тенденция к увеличению среднего объема клеток по мере продвижения с юга на север, выделялись ТАВ с доминированием мелких бактерий, а также донные воды Земли Франца-Иосифа, в которых бактериопланктон был представлен более крупными клетками (табл. 1).

Отмечена обратная корреляция общего количества бактериопланктона и численности некоторых размерных групп бактерий с концентрацией биогенных элементов (нитраты, фосфаты, силикаты), а также с соленостью (табл. 2); выявлена прямая корреляция с концентрацией растворенного кислорода. Средний объем клетки возрастал при снижении температуры воды и увеличении солености (табл. 2). Численность и биомасса бактерий демонстрировали слабую тенденцию ($p > 0.05$) к увеличению по мере роста температуры воды и содержания хлорофилла *a* в поверхностном слое (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение средней температуры воды с многолетними данными 1958–1998 гг. (Climatic Atlas ..., 2004) показало, что в 2020 г. в поверхностном слое температура воды была выше примерно на 1°C. Этот результат закономерен и соот-

ветствует ранее отмеченной тенденции к потеплению, которое регистрируется в Баренцевом море с начала 2000-х гг. (ICES, 2021). Таким образом, наши данные по распределению микробов относятся к более теплому периоду.

На исследованной акватории гидрохимические параметры варьировали в широком диапазоне. Присутствие водных масс разного генезиса, их ветровое смешение и формирование пикноклина обусловили различие в содержании биогенных элементов как в соседних локациях, так и в пределах одной станции. Распределение биогенных элементов было характерным для конца вегетационного периода: высокие концентрации фосфатов, нитратов и силикатов, но низкие – нитритов и кислорода (Жизнь ..., 1985; Ecosystem ..., 2009). Значительное насыщение воды кислородом в фотическом слое при низком содержании хлорофилла *a* указывало на преимущественное влияние физико-химических и атмосферных процессов. Повышенное содержание некоторых биогенных веществ в придонных водах во многом было связано с замедленной скоростью водообмена в глубоководных горизонтах, приводящей к накоплению нитратов, фосфатов и силикатов. Кроме того, наличие пикноклина препятствовало поступлению биогенов в поверхностные слои из-за вертикальной конвекции. Данная закономерность была отмечена ранее и в других исследованиях (Wassmann et al., 2006). Низкое содержание хлорофилла *a* в поверхностном слое типично для осени, так как основные продукционные процессы в пелагиали уже закончились. Ранее было показано, что динамика микроводорослей в Баренцевом море имеет ярко выраженный сезонный характер. Обилие микроводорослей и концентрация хлорофилла *a* в фотическом слое достигают максимума

весной. К концу лета количественные показатели фитопланктона снижаются, а в осенне-зимний период содержание хлорофилла *a* и количество микроводорослей опускаются до минимальных значений (Ecosystem ..., 2009; Макаревич, Дружкова, 2010).

Горизонтальное распределение бактериопланктона в исследуемом районе характеризовалось мозаичностью. Наблюдалась слабая тенденция к увеличению количества бактерий в АРВ. В то же время прослеживался явный тренд к снижению количества бактериопланктона с глубиной. Подобные результаты получены и для других арктических районов (Howard-Jones et al., 2002; Сажин и др., 2010; Венгер и др., 2016; Мошарова и др., 2017). Данная структура вертикального распределения микроорганизмов характерна для морей с выраженными градиентами температуры и солености. В нашем случае на большинстве станций был отмечен ярко выраженный пикноклин. Температура воды в глубоководных и поверхностных горизонтах различалась на 1.5–4.0°C. Скорее всего, именно различием температуры воды обусловлены существенные различия размерного состава морских бактерий. В придонном горизонте средний объем клеток был существенно выше, чем в поверхностном и подповерхностном слоях, располагавшихся над пикноклином. Схожая картина описана ранее для южных, центральных и восточных районов Баренцева моря (Венгер и др., 2012, 2016; Широколобова и др., 2016).

Численность и биомасса бактериопланктона в Баренцевом море и сопредельных водах варьируют в широких пределах и сильно зависят от сезона. Сопоставление опубликованных ранее сведений о количестве бактерий в Баренцевом и Карском морях с нашими данными (табл. 3) выявило следующие черты распределения бактериопланктона. Во-первых, численность бактерий в осенний период 2020 г. была сравнима с показателями, отмеченными в Баренцевом море в другие осенние периоды. Во-вторых, в летний и весенний сезоны количество бактерий по сравнению с полученными нами показателями было выше. В-третьих, в северной части Карского моря в районе, граничащем с северо-восточной частью Баренцева моря, обилие и биомасса бактериопланктона были значительно ниже. Различие весенне-летних и осенних количественных показателей бактерий связано с различием гидрологического режима, а также состояния сообществ пелагических микроводорослей (Жизнь ..., 1985; Ecosystem ..., 2009). Отличительной чертой Карского моря является олиготрофность его глубоководных северных районов (желоб Св. Анны), что приводит к низким количественным показателям бактериопланктона (Сажин и др., 2010; Мошарова и др., 2017).

Корреляционный анализ показал, что численность и биомасса морских бактерий тесно связаны с концентрацией основных биогенных эле-

ментов, более высоким концентрациям которых соответствовало меньшее количество бактерий. Подобные взаимосвязи характерны и для других районов Баренцева моря (Howard-Jones et al., 2002; Sturluson et al., 2008; Ecosystem ..., 2009), наиболее явно они выражены в период “цветения” фитопланктона. Как правило, обратная корреляция количества бактерий и биогенных элементов реализуется следующим образом: во время массового развития микроводорослей происходит активное поглощение нитратов, фосфатов и силикатов, что приводит к резкому снижению их концентраций в фотическом слое. Рост обилия фитопланктона ведет к соответствующему увеличению численности бактерий. В нашем случае также отмечена слабая прямая корреляция между содержанием хлорофилла *a* и количеством бактериопланктона.

По-видимому, дополнительным источником органического вещества как субстрата для роста и размножения бактерий в осенний период выступали другие организмы. Ранее сообщалось, что в арктических районах важную роль в течение осенне-зимнего затухания функциональной активности фитопланктона играют фотосинтетические пикоэукариоты рода *Micromonas* (Lovejoy et al., 2007; Terrado et al., 2008, 2011). Более мелкие виды фитопланктона лучше “справляются” с низкой доступностью питательных веществ в олиготрофных условиях (Raven, 1998). Скорее всего, гетеротрофные простейшие и копеподы также могли быть поставщиками органического вещества для бактерий. Важность протозоопланктона как источника автотонного и аллохтонного органического вещества и потребителя бактериальной биомассы отмечена для ряда арктических районов (Sherr et al., 1997, 2003). Показано, что мелкие копеподы также значительно влияют на обилие микробных сообществ (Turner, 2004). Ранее было установлено, что в составе зоопланктона в сентябре–январе мелкие планктонные ракообразные являются доминирующей группой (Дворецкий, Дворецкий, 2015). Многие из них активны в течение всего года (Дворецкий, Дворецкий, 2015), поэтому можно предположить, что осенью они играют существенную роль в трофических цепях пелагиали, являясь источником органического углерода и прочих биогенов для морских бактерий.

Примечательно, что температура воды существенно не влияла на горизонтальное распределение бактериопланктона, однако прослеживалась значимая обратная корреляция с ее соленостью. Наблюдаемую картину можно объяснить вертикальной структурой водной толщи – более плотные и соленые воды располагались у дна, где количество бактерий было минимальным. В других исследованиях показано, что температура слабо влияла на обилие бактериопланктона в Баренцевом море независимо от сезона (Howard-Jones et al., 2002; Sturluson et al., 2008.). Это еще раз под-

Таблица 3. Численность и биомасса бактериопланктона в Баренцевом и Карском морях

Район	Период	Численность бактерий		Биомасса бактерий		Ссылка
		мин–макс	средняя	мин–макс	средняя	
Баренцево море						
Северо-восток	Октябрь, 2020 г.	220–1068	497 ± 27	9.3–51.4	20.5–1.3	Наши данные
Юг	Ноябрь, 2013 г.	480–1140	724 ± 127	–	–	Широколобова и др., 2016
Юго-восток	Август, 2010 г.	900–4400	2000 ± 400	–	–	Венгер и др., 2012
Центральная часть	Июнь/июль, 1998 г.	410–4100	–	–	20–33	Howard-Jones et al., 2002
Центральная часть	Август, 2010 г.	400–4000	1500 ± 300	–	–	Венгер и др., 2012, 2016
Центральная часть	Ноябрь, 2013 г.	400–760	523 ± 24	–	–	Широколобова и др., 2016
Восток	Август, 2010 г.	400–1800	900 ± 200	–	–	Венгер и др., 2016
Северо-запад	Июль, 2003–2004 гг.	200–3000	–	3.7–63.5	8.6–22.7	Tammert et al., 2008
Северо-запад	Май–август, 2003–2005 гг.	80–910	370 ± 29	1.5–18.1	7.4 ± 5.8	Sturluson et al., 2008
Север	Август, 2010 г.	400–2100	1000 ± 200	–	–	Венгер и др., 2012
Северо-восток	Август, 2009–2010 гг.	250–3400	681–2434	4–39.1	13.4–30.7	Венгер, 2011
Карское море						
Желоб Св. Анны	Сентябрь, 2007 г.	9.8–150	–	0.11–7.51	–	Сажин и др., 2010
Северо-запад	Сентябрь, 2011 г.	8.9–104.88	35.91	–	–	Мошарова и др., 2017
Желоб Св. Анны	Сентябрь, 2011 г.	19.4–549.2	55.8–94.8	0.38–8.97	1.53–1.97	Копылов и др., 2015

Примечание. “–” – нет данных.

черкивает, что фитопланктон и другие простейшие, а также зоопланктон оказывают большее влияние на пространственно-временную динамику сообществ морских бактерий в Арктике.

По результатам работы можно сделать выводы: горизонтальное распределение бактериопланктона характеризовалось мозаичностью; отмечен явный вертикальный тренд – снижение количества бактерий и увеличение их размеров от поверхностного слоя к придонному; численность и биомасса бактериопланктона были сопоставимы с таковыми в других районах Баренцева моря в осенний период; распределение бактериопланктона определялось содержанием биогенных элементов в воде, а также структурой водных масс.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания ММБИ (проект № 121091600105-4, 16.09.2021).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят двух анонимных рецензентов за ценные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Венгер М.П. Бактериопланктон северо-восточной части Баренцева моря // Вестн. ЮНЦ РАН. 2011. Т. 7. № 4. С. 55–60.
- Венгер М.П., Широколобова Т.И., Макаревич П.Р., Водольянова В.В. Вирусы в пелагиали Баренцева моря // Докл. РАН. 2012. Т. 446. № 3. С. 345–349.
- Венгер М.П., Копылов А.И., Заботкина Е.А., Макаревич П.Р. Влияние вирусов на бактериопланктон открытой и прибрежной части Баренцева моря // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 1. С. 19–26.
- ГОСТ 17.1.4.02-90. ВОДА. Методика спектрофотометрического определения хлорофилла *a* // Государственный контроль качества воды. М.: ИПК Изд-во стандартов. 2001. С. 551–563.
- Дворецкий В.Г., Дворецкий А.Г. Экология зоопланктонных сообществ Баренцева моря и сопредельных вод. СПб.: Реноме. 2015. 736 с.
- Жизнь и условия ее существования в пелагиали Баренцева моря. Апатиты: Изд-во Кольск. фил. АН СССР. 1985. 218 с.
- Копылов А.И., Косолапов Д.Б. Микробная “петля” в планктонных сообществах морских и пресноводных экосистем. Ижевск: КнигоГрад. 2011. 332 с.
- Копылов А.И., Сажин А.Ф., Заботкина Е.А., Романова Н.Д. Вириопланктон Карского моря: влияние вирусов на смертность гетеротрофных бактерий // Океанология. 2015. Т. 55. № 4. С. 620–631.

- Макаревич П.Р., Дружкова Е.И. Сезонные циклические процессы в прибрежных планктонных альгоценозах северных морей. Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН. 2010. 280 с.
- Мошарова И.В., Мошаров С.А., Ильинский В.В. Особенности распределения бактериопланктона с активным метаболизмом в водах желоба Святой Анны (Карское море) осенью 2011 г. // *Океанология* 2017. Т. 57. № 1. С. 128–136.
- Планктон морей Западной Арктики. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. 1997. 352 с.
- Руководство по химическому анализу морских вод. Руководящий документ. Л.: Гидрометеиздат. 1993. 263 с.
- Сажин А.Ф., Романова Н.Д., Мошаров С.А. Бактериальная и первичная продукция в водах Карского моря // *Океанология*. 2010. Т. 50. № 5. С. 801–808.
- Таблицы растворимости кислорода в морской воде / Под ред. З.И. Мироненко. Л.: Гидрометеиздат. 1976. 165 с.
- Широколобова Т.И., Жичкин А.П., Венгер М.П. и др. Бактерии и вирусы свободной ото льда акватории Баренцева моря в период наступления полярной ночи // *Докл. РАН*. 2016. Т. 469. № 3. С. 383–387.
- Climatic Atlas of the Arctic Seas 2004: Part I. Database of the Barents, Kara, Laptev, and White Seas – *Oceanography and Marine Biology*. NOAA Atlas NESDIS 58. Washington: U.S. Gov. Print. Off. 2004. 148 p.
- Ecosystem Barents Sea. Trondheim: Tapir Acad. Press. 2009. 587 p.
- Howard-Jones M.H., Ballard V.D., Allen A.E. et al. Distribution of bacterial biomass and activity in the marginal ice zone of the central Barents Sea during summer // *J. Mar. Syst.* 2002. V. 38. P. 77–91.
- ICES. Working Group on the Integrated Assessments of the Barents Sea (WGIBAR). ICES Sci. Rep. 2021. V. 3. № 77. 236 p.
- Lovejoy C., Vincent W.F., Bonilla S. et al. Distribution, phylogeny, and growth of cold-adapted picoprasinophytes in arctic seas // *J. Phycol.* 2007. V. 43. P. 78–89.
- Norland S. The relationships between biomass and volume of bacteria // *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Boca Raton: Lewis Publ. 1993. P. 303–308.
- Porter K.G., Feig Y.S. The use of DAPI for identifying and counting of aquatic microflora // *Limnol. Oceanogr.* 1980. V. 25. P. 943–948.
- Raven J.A. Small is beautiful: the picophytoplankton // *Funct. Ecol.* 1998. V. 12. P. 503–513.
- Sherr E.B., Sherr B.F., Fessenden L. Heterotrophic protists in the Central Arctic Ocean // *Deep-Sea Res. Part II*. 1997. V. 44. P. 1665–1682.
- Sherr E.B., Sherr B.F., Wheeler P.A., Thompson K. Temporal and spatial variation in stocks of autotrophic and heterotrophic microbes in the upper water column of the central Arctic Ocean // *Deep-Sea Res. Part I*. 2003. V. 50. P. 557–571.
- Sturluson M., Nielsen T.G., Wassmann P. Bacterial abundance, biomass and production during spring blooms in the northern Barents Sea // *Deep-Sea Res. Part II*. 2008. V. 55. P. 2186–2198.
- Tammert H., Olli K., Sturluson M., Hodal H. Bacterial biomass and activity in the marginal ice zone of the northern Barents Sea // *Deep-Sea Res. Part II*. 2008. V. 55. P. 2199–2209.
- Terrado R., Lovejoy C., Massana R., Vincent W.F. Microbial food web responses to light and nutrients beneath arctic sea ice during the winter-spring transition // *J. Mar. Syst.* 2008. V. 74. P. 964–977.
- Terrado R., Medrinal E., Dasilva C. et al. Protist community composition during spring in an Arctic flaw lead polynya // *Polar Biol.* 2011. V. 34. P. 1901–1914.
- Turner J.T. The importance of small planktonic copepods and their roles in pelagic marine food webs // *Zool. Stud.* 2004. V. 43. P. 255–266.
- Wassmann P., Reigstad M., Haug T. et al. Food webs and carbon flux in the Barents Sea // *Prog. Oceanogr.* 2006. V. 71. P. 232–287.

Autumn Bacterioplankton of the North-Eastern Barents Sea

M. P. Venger^a, V. G. Dvoretzky^a, T. M. Maksimovskaya^a, T. G. Ishkulova^a,
A. V. Vashchenko^a, and V. V. Vodopyanova^a

^aMurmansk Marine Biological Institute (MMBI) of the Russian Academy of Sciences, Murmansk 183010, Russia

The bacterioplankton state was investigated in the north-eastern Barents Sea in the autumn period for the first time. Warm Transformed Atlantic Water, cold Arctic Water, intermediate and bottom waters were delineated in the study area. Small amounts of nutrients and oxygen were recorded in the upper water layer while the maximum values of the nutrients concentration were in the bottom layer. Bacterial abundance varied from 220 to 1.068 thousands cells/ml, biomass varied from 2.7 to 12.5 mg C/m³, mean volume of bacterial cells varied from 0.020 to 0.136 μm³. Horizontal distribution of bacterioplankton demonstrated patchiness while there was a clear vertical pattern with a decrease of the total bacterial abundance and an increase of the mean bacterial size with depth. Small single cells dominated in the bacterioplankton. Total bacterial abundance and biomass of the bacterioplankton as well as the number of some bacterial size groups negatively correlated with the concentration of nutrients (nitrates, phosphates, silicates) and salinity. The abundance and biomass of the bacteria showed a weak tendency to be higher with increasing water temperature and surface chlorophyll *a* content. A comparison of the obtained data with other Arctic regions and other seasons has been made. The factors determining distribution patterns of marine bacteria in the Arctic in autumn are discussed.

Keywords: bacterioplankton, water masses, nutrients, Barents Sea

УДК 591.526:51

ДИНАМИКА РЕПРОДУКТИВНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК У САМОК СЕВЕРНОГО МОРСКОГО КОТИКА *CALLORHINUS URSINUS* (LINNAEUS, 1758) ОСТРОВА ТЮЛЕНИЙ НА ФОНЕ АКТИВНОГО ПРОМЫСЛА САМЦОВ

© 2022 г. О. Л. Жданова¹, *, А. Е. Кузин², Е. Я. Фрисман³¹Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия²Тихоокеанский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ТИНРО»), Владивосток 690950, Россия³Институт комплексного анализа региональных проблем, Биробиджан 679016, Россия

*e-mail: axanka@iacp.dvo.ru

Поступила в редакцию 19.04.2022 г.

После доработки 18.07.2022 г.

Принята к публикации 06.10.2022 г.

На основе данных о физиологическом состоянии добытых Японией и СССР в западной части Тихого океана и Охотском море в 1958–1980 гг. самок северного морского котика о-ва Тюлений проанализирована динамика их репродуктивных характеристик. Проведено сравнение динамики репродуктивных характеристик самок популяции о-ва Тюлений, где коммерческий наземный промысел самок практически отсутствовал, и самок популяций островов Прибылова, где применялась экспериментальная стратегия изъятия самок наряду с промыслом самцов. Показано, что, несмотря на значительную разницу в стратегиях промысла морских котиков, репродуктивные характеристики у самок этих популяций в период интенсивного изъятия демонстрировали похожую динамику: увеличение возраста первых родов и снижение доли беременных среди молодых самок. В популяции о-ва Тюлений наиболее вероятной причиной этой негативной тенденции, очевидно, был дефицит молодых секачей и полусекачей, возникший в результате интенсивного изъятия самцов.

Ключевые слова: *Callorhinus ursinus*, северный морской котик, промысел, динамика, репродуктивные характеристики самок, возраст первых родов, доля беременных

DOI: 10.31857/S013434752206016X

В 1957 г. Канада, СССР, США и Япония заключили Международную конвенцию по сохранению северного морского котика (Interim Convention on Conservation of North Pacific Fur Seals), которая строго регламентировала промысел животных и предполагала проведение масштабных наблюдений, включающих сбор значительного объема биологической информации по данному виду морских млекопитающих.

В популяциях северного морского котика *Callorhinus ursinus*, лежбища которого расположены на островах Прибылова (Аляска), сосредоточены наибольшие запасы этих животных. Даже в период действия конвенции данные популяции подвергались значительному промысловому давлению, а с 1956 по 1968 г. на островах Прибылова помимо постоянного изъятия неполовозрелых самцов добывали и самок этого вида. Всего было выбито около 315 тыс. самок (Summary of northern..., 1980a). Предполагали, что в результате повысится продуктивность стада северных морских котиков. На основе теоретических расчетов (Char-

man, 1961; Nagasaki, 1961) ожидалось, что из-за снижения плотности популяции увеличится количество беременностей и снизится возраст первых родов у самок. Как следствие, возрастет количество новорожденных щенков, что в дальнейшем позволит увеличить допустимый объем промыслового изъятия неполовозрелых самцов. Однако ожидаемого увеличения рождаемости в этих популяциях не произошло, более того, ежегодное количество новорожденных щенков продолжало снижаться. Вопреки ожиданиям, снизилась и доля беременных самок, а также увеличился возраст первых родов. Это убедительно показал анализ данных (Trites, York, 1993), полученных при исследовании более чем 10 тыс. самок северного морского котика, добытых в море (в северной части Тихого океана от Калифорнии до Берингова моря) Канадой и США в рамках программы пелагических исследований с 1958 по 1974 г. (Summary of northern..., 1980a).

Благодаря программе пелагических исследований, мы имеем аналогичный набор данных (пе-

лагическую базу данных), характеризующих физиологическое состояние самок северного морского котика, лежбища которого находятся на о-ве Тюлений, расположенном в юго-западной части Охотского моря южнее мыса Терпения (о-в Сахалин). Было исследовано более 11 тыс. самок, добытых Японией и СССР в западной части Тихого океана и Охотском море в 1958–1980 гг. Результаты представлены в отчетах сотрудников ТИНРО и его отделений за 1958–1980 гг., которые хранятся в архиве института, а также в материалах, опубликованных штаб-квартирой Комиссии по морским котикам северной части Тихого океана (Summary of northern... 1980b). Эти данные позволяют сравнить тенденции развития популяций *Callorhinus ursinus* о-ва Тюлений и островов Прибылова.

Отметим, что на фоне продолжительного регламентируемого промысла самцов на о-ве Тюлений численность этой популяции начала снижаться (Кузин, 2010, 2014а), как и численность других популяций, подверженных такому промыслу (Корнев и др., 2008; Болтнев, 2011; Lee et al., 2014). Вместе с тем после сокращения промысла самцов, а также его запрета в популяции о-ва Тюлений не отмечено заметных темпов восстановления (Zhdanova et al., 2017).

В результате проведенного ранее детального изучения динамики численности самцов популяции о-ва Тюлений не выявлена причина снижения рождаемости. Темпы роста этой популяции значительно снизились в постпромысловый период, что проявилось в значительном снижении среднего количества новорожденных щенков, приходящихся на одного секача, на фоне увеличения средней выживаемости самцов практически всех возрастных групп (Zhdanova et al., 2017). Такие процессы могут быть связаны с изменением “качества” самцов в результате промысла, в течение длительного времени изымавшего самцов данной популяции (Фрисман и др., 2019). Однако рождаемость в популяции определяется не только активностью и качеством самцов, но и состоянием самок репродуктивного возраста. Поэтому для адекватной оценки процессов, происходящих в популяции, необходимо иметь представление о состоянии ее женской части.

Цель настоящей работы – на основе существующей пелагической базы данных проанализировать динамику репродуктивных характеристик у самок северного морского котика популяции о-ва Тюлений и сравнить полученные результаты с данными, полученными для популяций островов Прибылова. В частности, оценить изменение в течение периода наблюдений доли повторнородящих самок ранних возрастов, а также среднего возраста первых родов, дополнив исследование оценками показателей беременности самок, по-

павших в выборку (т.е. добытых в западной части Тихого океана и в Охотском море).

Коммерческий наземный промысел самок в популяции о-ва Тюлений практически отсутствовал, поэтому сравнение изменений репродуктивных характеристик у самок этой популяции и популяций островов Прибылова позволит сопоставить последствия разных стратегий промысла и понять, насколько стратегия изъятия только самцов (практикуемая в популяции о-ва Тюлений) выигрывает в плане сохранения репродуктивных возможностей популяции по сравнению с экспериментальной стратегией промысла самцов и самок, которая применялась в эти же годы в популяциях островов Прибылова.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Физиологическое состояние самок в морских пробах

Для анализа использовали набор данных, характеризующих физиологическое состояние самок северного морского котика популяции о-ва Тюлений, добытых Японией и СССР в западной части Тихого океана и Охотском море в 1958–1980 гг. в рамках Международной конвенции. Репродуктивные органы самок морских котиков, добытых в море с научно-исследовательскими целями, подвергали полному биологическому анализу. По результатам анализа самок делили на нерожавших (никогда не были оплодотворены), первородящих (беременных только один раз, независимо от того, была ли беременность доношенной) и повторнородящих (беременных более одного раза); кроме этого определяли возраст самки и наличие беременности в текущий момент. Объем выборки составлял 8449 самок в возрасте от одного года до 10 лет и 2875 самок старше 10 лет; в качестве примера приведены данные за 1958–1960 гг. (табл. 1).

Оценка доли беременных и повторнородящих самок в зависимости от возраста

Для оценки возраста, в котором самки исследуемой популяции активно вступают в размножение, использовали данные о физиологическом состоянии самок, добытых в море (табл. 1). Для каждого возраста (a) определяли долю беременных самок (λ_a), долю самок, не имевших беременности ($s_{0,a}$), а также имевших беременность один раз ($s_{1,a}$) и более одного раза ($s_{m,a}$):

$$\begin{aligned} \lambda_a &= N_{pr,a}/N_a; & s_{0,a} &= N_{0,a}/N_a; \\ s_{1,a} &= N_{1,a}/N_a; & s_{m,a} &= N_{m,a}/N_a, \end{aligned} \quad (1)$$

где N_a – общее количество самок возраста a в выборке за все годы; $N_{pr,a}$ – количество беременных самок возраста a , из них: $N_{0,a}$ – самки, ранее не

Таблица 1. Физиологическое состояние самок северного морского котика разного возраста, добытых в западной части Тихого океана и Охотском море в 1958–1960 гг.

Возраст (лет)	1958 г.					1959 г.					1960 г.				
	Н/б			Б		Н/б			Б		Н/б			Б	
	Н	Р	М	Р	М	Н	Р	М	Р	М	Н	Р	М	Р	М
1	9	0	0	0	0	20	0	0	0	0	4	0	0	0	0
2	33	0	0	0	0	60	0	0	0	0	33	0	0	0	0
3	79	0	0	0	0	90	0	0	4	0	56	0	0	0	0
4	37	0	1	16	3	61	2	0	49	16	36	0	0	18	2
5	3	1	2	11	9	17	0	2	40	28	4	6	2	24	13
6	0	0	0	1	13	3	1	1	22	37	2	1	3	10	32
7	0	0	0	0	3	2	0	1	7	17	0	0	4	3	32
8	0	0	0	0	1	0	0	1	6	11	0	0	1	0	26
9	0	0	1	0	2	1	0	2	1	8	0	0	0	0	11
10	0	0	0	0	2	2	3	3	1	23	1	0	0	0	2
10+	2	0	1	0	3	0	0	3	0	27	0	0	3	0	36

Примечание. Н/б – небеременные, Б – беременные, Н – нерожавшие, Р – первородящие, М – повторнородящие. Самки старше 10 лет объединены в категорию 10+.

имевшие беременности, $N_{1,a}$ – имевшие беременность только один раз и $N_{m,a}$ – имевшие беременность более одного раза.

Для расчета доверительных интервалов использовалась асимптотика (поскольку объемы выборок достаточно велики, а минимальные частоты не слишком низкие, оценки λ можно считать приблизительно нормально-распределенными): $\lambda \pm \sigma_\lambda t_\beta$, где $\sigma_\lambda = \sqrt{\lambda(1-\lambda)/n}$ – стандартная ошибка, а t_β – значение обратной функции нормального распределения при заданном уровне значимости β и количестве наблюдений n .

Динамика доли беременных и повторнородящих самок на фоне снижения численности секачей и в начальный период ее восстановления

Для расчета долей беременных самок для конкретного года t формулы (1) модифицировали следующим образом:

$$s_{m,a}(t) = N_{m,a}(t)/N_a(t),$$

где $N_a(t)$ – общее количество самок возраста a ; $N_{m,a}(t)$ – количество самок, имевших беременность более одного раза, в возрасте a лет в выборке года t .

Наблюдения 1973, 1977 и 1979 гг. исключены из расчетов данных показателей, так как выборки этих лет содержат крайне малое количество самок в возрасте от одного года до 10 лет: соответственно 36, 17 и 35 особей.

Средний возраст первых родов самок для каждого года наблюдений оценивали по методу, предложенному ранее (Trites, York, 1993):

$$\bar{A}(t) = \sum_{a=1}^{10} a \cdot p_{a,t}' / \sum_{a=1}^{10} p_{a,t}', \quad (2)$$

где $p_{a,t} = n_{a,t}/N_{a,t}$ – доля беременных самок (или имевших беременность) к возрасту a в году t ; $N_{a,t}$ – общее количество самок возраста a в выборке года t ; $n_{a,t}$ – количество самок возраста a в выборке года t , имевших беременность (одну или более); $p_{a,t}' = p_{a,t} - p_{a-1,t-1}$ – вероятность первой беременности в возрасте a лет в году t ($p_{a,t}' \geq 0$).

Оценку среднего возраста первых родов дополнили 95% доверительными интервалами, полученными с помощью бутстрепа методом процентилей на базе 10000 псевдореплик (Efron, 1992; Davison, Hinkley, 2006; Шитиков, Розенберг, 2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ репродуктивных характеристик самок северного морского котика популяции о-ва Тюлений показал (рис. 1а), что к 4-му году немногие самки морских котиков популяции о-ва Тюлений имели более одной беременности, к 5-ти годам более 1/3 самок попали в категорию повторнородящих, а в 6–7 лет у большей части самок было несколько беременностей. Ранее вступление в размножение самок этой популяции подтверждают и доли беременных особей, рассчитанные отдельно для каждого возраста (рис. 1б). В частности, в выборке практически отсутствовали 3-летние бе-

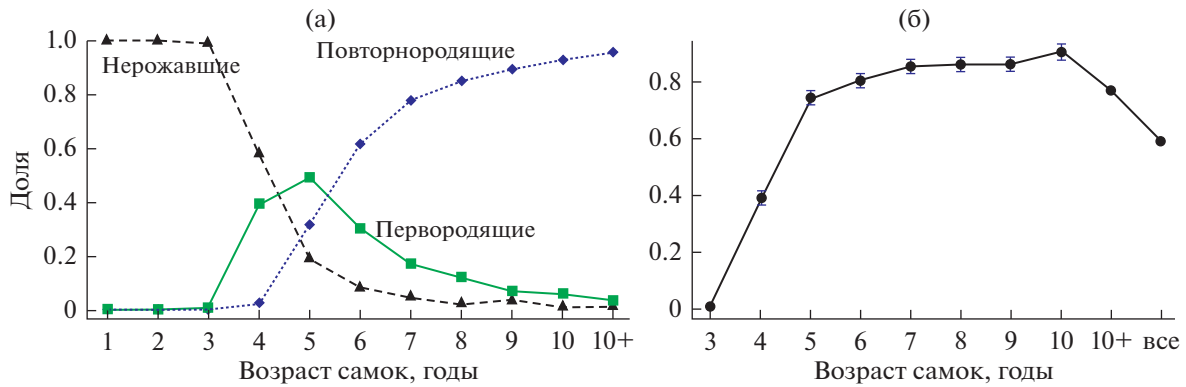


Рис. 1. Соотношение долей нерожавших, первородящих и повторнородящих самок разных возрастов (а) и средняя доля беременных самок в разном возрасте (б) северного морского котика в популяции о-ва Тюлений в морских пробах 1958–1980 гг. Вертикальные отрезки – 95% доверительный интервал.

ременные самки, доля беременных среди 4-летних самок достигала почти 0.4, а среди 5-летних превышала 0.7; у самок следующих возрастов она увеличивалась и была стабильно высокой, снижаясь лишь в смешанной группе, включавшей самок старше 10+ лет.

Большинство самок о-ва Тюлений становятся повторнородящими в среднем между пятью и семью годами (рис. 1а), поэтому в выборке 1958–1980 гг. проведен анализ изменения соотношений 5-, 6- и 7-летних повторнородящих самок. Чтобы выяснить, как изменялись доли беременных самок в популяции, самок объединили в группы по возрасту: молодые (4–6 лет), среднего (7–10 лет) и старшего (10+) возраста. У молодых самок ни один из представленных показателей не показал выраженного линейного тренда (рис. 2). Можно выделить лишь непродолжительные по времени периоды, напоминающие линейный убывающий тренд. Значительное снижение доли повторно беременных самок в популяции о-ва Тюлений наблюдалось в начале 1970-х гг. среди 5-летних самок; у 6-летних особей это снижение тоже заметно, однако оно менее продолжительное; далее в обеих возрастных группах произошел уверенный рост этого показателя. Среди 7-летних самок на протяжении всего периода наблюдений не обнаружено каких-либо выраженных тенденций изменения доли повторно беременных особей. Доля беременных молодых самок оставалась примерно на одном уровне до второй половины 1960-х гг., к началу 1970-х гг. она значительно снизилась, а со второй половины 1970-х гг. стала резко расти, причем к концу 1970-х гг. процент беременных молодых самок значительно превысил средние значения раннего периода наблюдений (до снижения). В средней возрастной группе (от 7 до 10 лет) снижение доли беременных самок заметно в начале 1970-х гг., далее отмечен небольшой рост, однако средние значения в конце периода наблю-

дений оставались немного ниже, чем в начале (до снижения). Единственный показатель, для которого можно отметить значимое, хотя и небольшое снижение в течение всего периода наблюдений, — это доля беременных самок в возрасте 11 лет и старше (взвешенная линейная регрессия с весами, обратно пропорциональными дисперсии наблюдений: $p = 0.014$, $R^2 = 0.23$, $F_{1,20} = 7.3$).

Рассматривая вопрос о репрезентативности имеющихся данных, сравним динамику доли повторных беременностей 5-, 6- и 7-летних самок (рис. 3а). Можно заметить, что в некоторые годы (у самок отдельного поколения) с возрастом данный показатель не увеличивается, а уменьшается, что выглядит неестественно (рис. 3б); такую тенденцию демонстрируют самки, рожденные в 1958 и 1963 гг. Возможными причинами этого помимо ошибок выборочности может быть высокая смертность беременных самок в отдельные годы.

Отмечено некоторое увеличение возраста первых родов в течение периода наблюдения (рис. 4): взвешенная линейная регрессия с весами, обратно пропорциональными дисперсии наблюдений ($p = 0.0005$, $R^2 = 0.54$, $F_{1,16} = 18.68$), показала значимый рост этого показателя. Тренд увеличения возраста первых родов в популяции о-ва Тюлений довольно сложный, визуально можно выделить несколько периодов с различающейся динамикой: первые 7 лет (1959–1965 гг.) показатель оставался примерно на одном уровне (<5), в 1966–1973 гг. наблюдались более высокие значения (около 5.5), в дальнейшем, по-видимому, произошло снижение, которое можно было ожидать, учитывая рост доли беременных и повторнородящих молодых самок (рис. 2). К сожалению, в 1977–1980 гг. наблюдения проводились через год, что не позволяет дать адекватную оценку параметра в этот период.

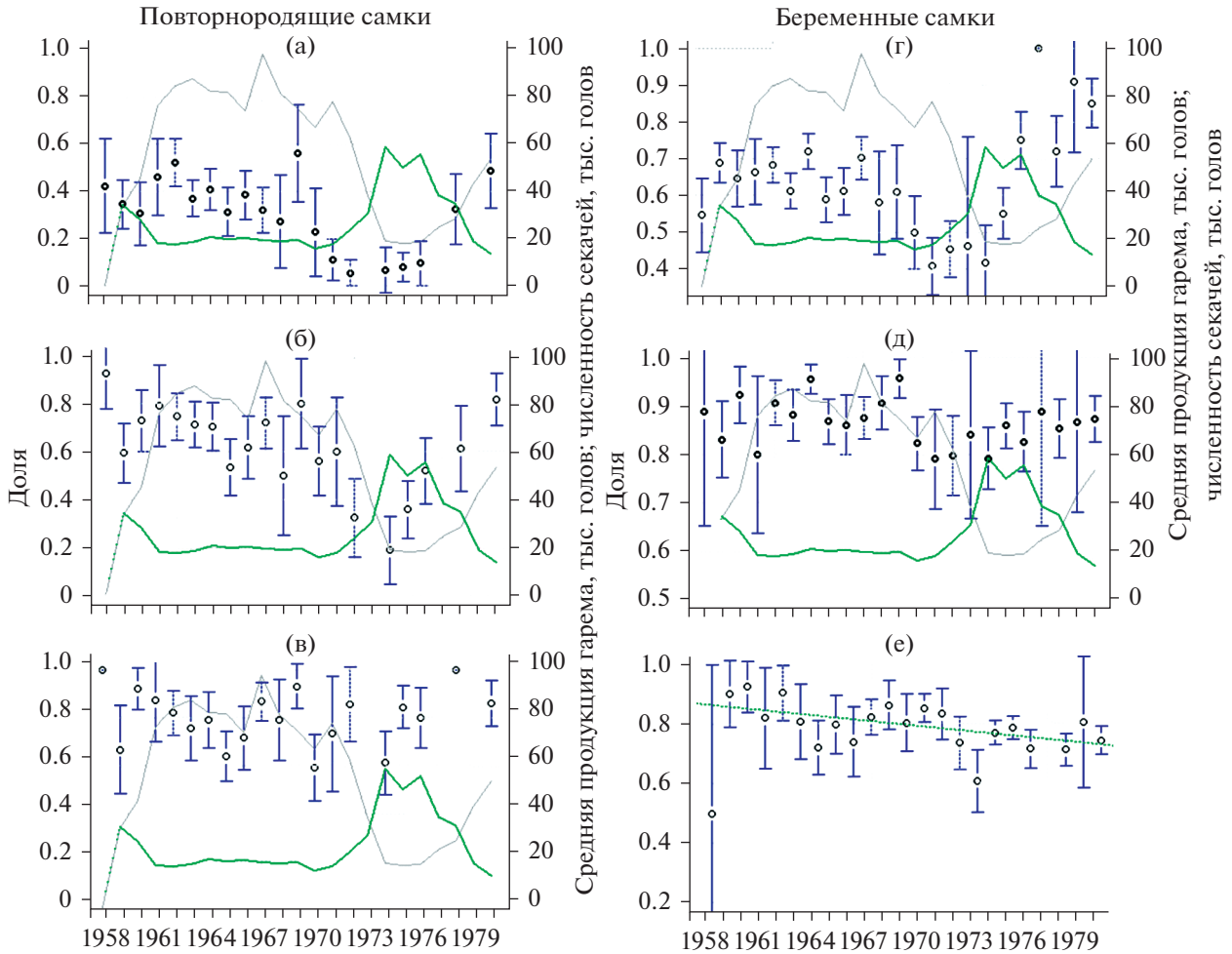


Рис. 2. Доли повторнородящих (а – 5-летние, б – 6-летние и в – 7-летние) и беременных (г – от 4 до 5 лет, д – от 7 до 10 лет, е – 11 лет и старше) самок северного морского котика о-ва Тюлений в выборке 1958–1980 гг. (вертикальные линии – 95% доверительные интервалы). Правая ось (а–д) – динамика средней продукции гарема (зеленая линия) и численность секачей в предыдущем году (серая линия). Для группы в возрасте 11 лет и старше график дополнен линией тренда (взвешенный метод наименьших квадратов), обозначенной зеленым пунктиром.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение динамики репродуктивных характеристик самок северного морского котика популяций о-ва Тюлений и островов Прибылова показало, что самки популяции о-ва Тюлений вступали в размножение в среднем на год раньше, чем самки популяций островов Прибылова. Это подтверждается более ранним переходом самок популяции о-ва Тюлений к статусу повторнородящих (рис. 1а). Кроме того, доли беременных самок данной популяции, рассчитанные отдельно для каждого возраста (рис. 1б), на год раньше достигали значений, сходных с отмеченными в популяциях животных островов Прибылова в этот же период времени (1958–1974 гг.) (Lander, 1981). Однако, несмотря на значительно различающуюся стратегию изъятия животных, в популяции морского котика о-ва Тюлений обнаружен ряд на-

блюдавшихся на фоне интенсивного промысла тенденций, сходных с таковыми в популяциях животных островов Прибылова в 1958–1974 гг.

Если ограничиться периодом от начала наблюдений до середины 1970-х гг., когда возможно сравнение процессов, происходивших в популяциях о-ва Тюлений и островов Прибылова, можно отметить снижение доли беременных молодых самок и увеличение возраста первых родов. В популяции о-ва Тюлений эти тенденции обусловлены значительным снижением в начале 1970-х гг. доли повторно беременных самок среди 5-летних особей. У 6-летних самок это снижение также присутствовало, хотя было менее продолжительным. Доля беременных молодых самок (от 4 до 6 лет) значительно снизилась к началу 1970-х гг. и оставалась на этом же уровне до второй половины 1970-х гг.; кроме того, в начале 1970-х гг. небольшое снижение доли бере-

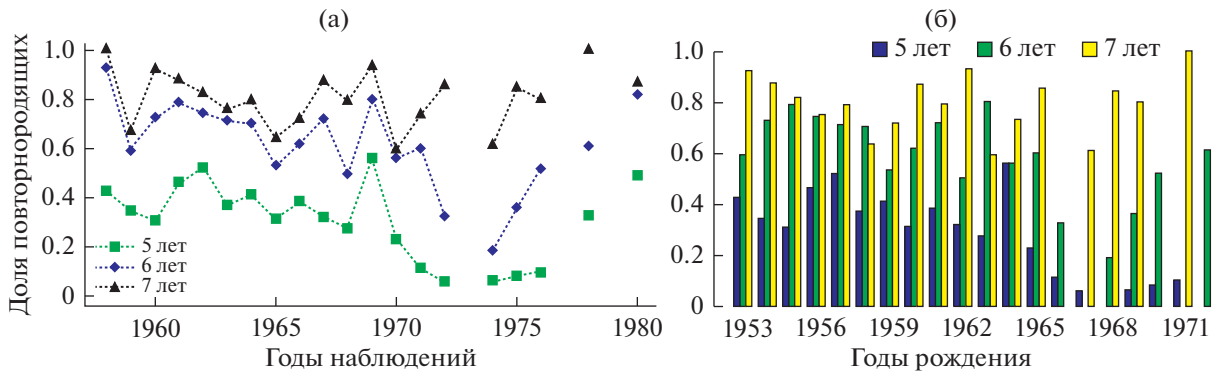


Рис. 3. Динамика доли повторнородящих самок северного морского котика в популяции о-ва Тюлений в возрасте от 5 до 7 лет в выборке 1958–1980 гг. по годам (а) и поколениям, рожденным в соответствующий год (б).

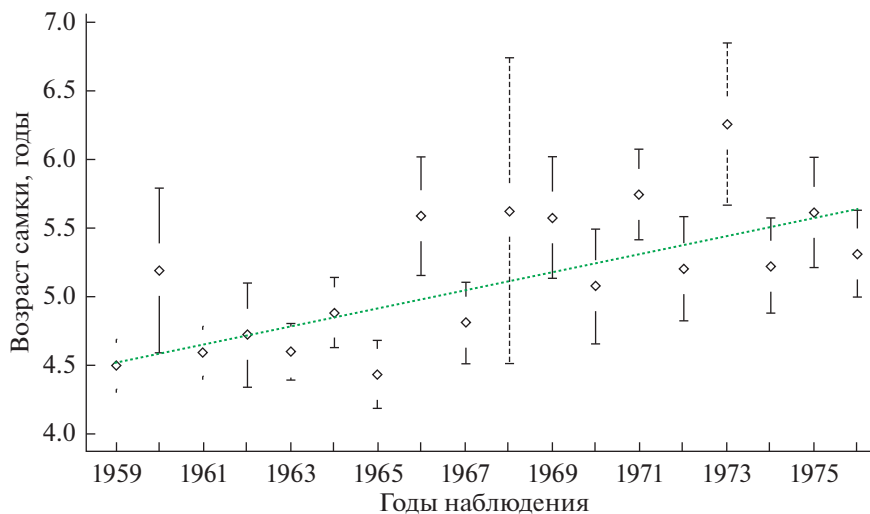


Рис. 4. Средний возраст первых родов самок северного морского котика в популяции о-ва Тюлений в 1959–1976 гг. с 95% доверительным интервалом. Зеленым пунктиром обозначен линейный тренд (взвешенный метод наименьших квадратов с весами, обратно пропорциональными дисперсии).

менных самок наблюдалось в средней возрастной группе (от 7 до 10 лет).

В конце 1960-х гг. численность секачей в популяции о-ва Тюлений начала снижаться, в 1973–1975 гг. достигла катастрофически низких значений и составляла менее 600 голов (Жданова и др., 2017). Затем на фоне резкого сокращения объемов промысла их численность стала восстанавливаться, однако только в 1978 г. превысила 1000 голов (рис. 5). Чтобы увидеть, насколько согласованы изменения рассматриваемых здесь репродуктивных характеристик самок и динамика секачей, значительно определяющаяся действием промысла, на графиках (рис. 2а–2д) мы привели кривую изменения численности секачей со сдвигом на один год (в предыдущий год), поскольку беременность самок текущего года — это результат предыдущего гаремного периода. Для более удобного масштабирования численность секачей разделена на 30

(таким образом, все значения попадают в интервал от 20 до 100 по правой оси). Здесь же приведена динамика средней продукции гарема — отношение количества новорожденных щенков текущего года к количеству секачей на лежбище в предыдущем году: $P(n)/M(n-1)$. Динамика этого показателя, на наш взгляд, более информативна, так как дает представление о минимальном количестве самок, которых в среднем должен был оплодотворить один секач в предыдущий сезон размножения, чтобы в текущем сезоне получить наблюдаемое количество новорожденных щенков. Учитывая наличие естественной смертности среди самок (в том числе беременных), настоящее количество оплодотворенных самок должно быть еще больше, а реальный средний размер гарема — больше пропорционально величине, обратной доле беременных самок. Интересно, что на представленных графиках (рис. 2а–2д) не вид-

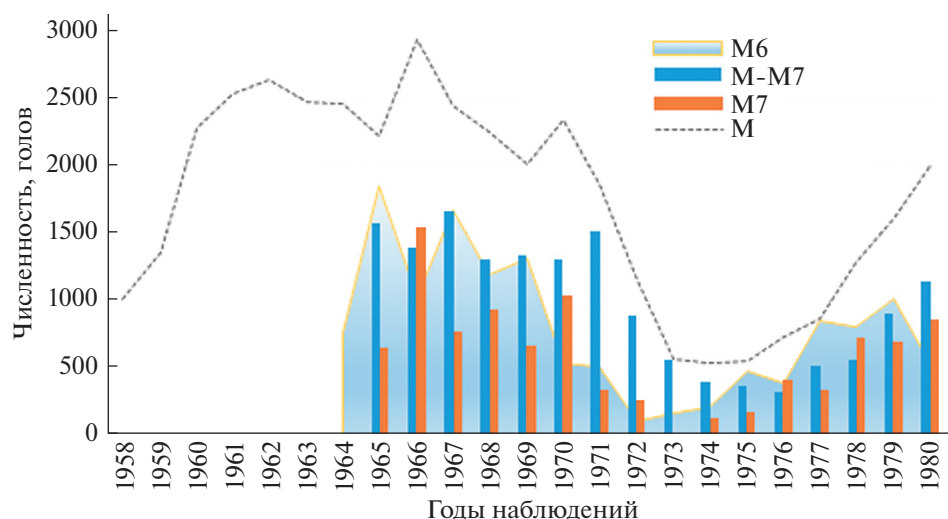


Рис. 5. Динамика наблюдаемой численности секачей (M) на лежбище о-ва Тюлений, а также расчетная численность полусекачей (M6 – самцов 6-летнего возраста), 7-летних секачей (M7) и секачей старшего возраста (M-M7) (по: Жданова и др., 2017).

но четкого соответствия высоких и низких значений репродуктивных характеристик самок и количества самцов, а также оплодотворенных самок. Резкое снижение доли повторнородящих самок 5-летнего возраста (рис. 2а) началось еще при достаточно высокой численности секачей и небольшом среднем размере гарема. Небольшое увеличение количества секачей (после нескольких лет минимума их численности) привело к быстрому росту этого показателя. Снижение доли повторнородящих 6-летних самок было еще менее продолжительным, и рост этого показателя происходил при низкой численности секачей в довольно больших гаремах (рис. 2б).

Маловероятно, что изменения репродуктивных характеристик у самок были вызваны нехваткой пищи или плохим физическим состоянием самок. Анализ состояния запасов некоторых видов рыб, служащих основными объектами питания морского котика в Охотском море и у о-ва Хоккайдо (Yoshida et al., 1978; Шунтов, 1985), не позволяет сделать вывод о лимитировании его пищевых ресурсов в этом районе. Отсутствие подобного ограничения подтверждается и данными по межгодовой изменчивости длины и массы тела северного морского котика, а также его упитанности (Кузин, 2014б). И хотя к концу 1980-х гг. ресурсы минтая были значительно подорваны (Шунтов, 1985), у холостяков морских котиков наблюдалось увеличение кондиционного индекса, ростовые процессы животных в период депрессии численности морских котиков о-ва Тюлений увеличились. Увеличение размера тела самок северного морского котика отмечено и в популяциях островов Прибылова (Trites, York, 1993). Авторы этой работы в качестве наиболее

вероятного объяснения изменений, наблюдавшихся между 1958 и 1974 гг., высказывают предположение об изменении соотношения полов и возраста половозрелых животных, вызванном истощением самок и/или изъятием молодых самцов.

Обширное исследование (Wade et al., 2007), направленное на изучение изменения пищевых цепочек в северной части Тихого океана, не подтвердило предположение о том, что северный морской котик стал добычей касаток. Таким образом, роль экзогенных факторов в выживаемости и, соответственно, в динамике численности популяций северного морского котика, вероятно, малозначима, что подтверждается не только выводами на основе анализа вышеприведенных факторов, но и уже имеющимися данными по выживаемости (Кузин, 2010).

В популяции морских котиков о-ва Тюлений отсутствует четкое соответствие динамики репродуктивных характеристик самок и количества самцов, а также оплодотворенных самок. Резкое снижение доли повторнородящих самок 5-летнего возраста началось еще при достаточно высоких значениях численности секачей и небольшом среднем размере гарема. Но небольшое увеличение количества секачей (после нескольких лет минимума их численности) привело к быстрому росту доли повторнородящих самок в возрасте 5 лет. Снижение доли повторнородящих 6-летних самок было еще менее продолжительным, а последующий рост этого показателя происходил при низкой численности секачей в довольно больших гаремах. Во второй половине 1970-х гг. наблюдался уверенный рост доли 5- и 6-летних повторнородящих самок, доля беременных моло-

дых самок также увеличилась и к концу 1970-х гг. этот показатель значительно превысил средние значения раннего периода наблюдений (еще до его снижения). Единственный показатель, для которого можно отметить значимое, хотя и небольшое, снижение в течение всего периода наблюдений, — это доля беременных самок в возрасте 11 лет и старше.

Ранее было отмечено (Фаулер, 1998), что на общую скорость воспроизводства может повлиять изменение соотношения полов в результате изъятия неполовозрелых самцов, если в достаточном количестве нет молодых самцов для спаривания с молодыми самками, которые появляются на лежбищах поздно. Наблюдения за репродуктивным поведением самцов и самок северного морского котика показали (Gentry, Goebel, 1981), что течка у самок наступает спонтанно между 5- и 7-ми сут после родов и длится около 34 ч. Если самка не сможет спариться в это время, то в текущий сезон размножения такая возможность уже не повторится. Однако в зависимости от размеров самца течка может прекратиться в течение нескольких минут после совокупления, причем более мелкие самцы не так эффективны в этом процессе. Самки восприимчивы к самцам массой от 45 до 135 кг (старше пяти лет), а молодые самцы плодовиты и успешно оплодотворяют самок в конце сезона размножения, поэтому в период размножения соотношение полов и возрастнополовой состав имеют существенное значение для эффективности размножения.

Данные, опубликованные нами ранее (Жданова и др., 2018), позволяют предположить, что на фоне активного промысла в популяции о-ва Тюлений формировалась нехватка молодых секачей (М7) и полусекачей (М6) (рис. 5). Первыми их нехватку ощутили молодые самки. Позже, когда объем изъятия уменьшился и восстановление репродуктивной группировки самцов происходило преимущественно за счет молодых самцов, молодые самки стали вступать в размножение довольно рано.

Таким образом, проведенный нами анализ данных показал, что, несмотря на значительную разницу в стратегии промысла, динамика репродуктивных характеристик самок в популяциях морских котиков островов Прибылова и о-ва Тюлений схожа. В обеих популяциях увеличился возраст первых родов, а доля беременных молодых самок снизилась. Если, по мнению американских исследователей (Trites, York, 1993), в популяции морских котиков островов Прибылова эта негативная тенденция вызвана истощением самок и/или нехваткой молодых самцов, то в популяции о-ва Тюлений явно просматривается тенденция зависимости репродуктивных показателей самок от изменения половозрастного соотношения

в результате избыточного изъятия самцов. Снижение промыслового пресса в популяции северного морского котика о-ва Тюлений довольно быстро привело к увеличению доли беременных самок среди молодых особей (снизился возраст первых родов). Однако самки старшей возрастной группы продолжили демонстрировать снижение репродуктивного уровня. Все это говорит об изменении половозрастной структуры и гаремных отношений в популяции в результате интенсивного промысла самцов. Продолжающаяся после 1980 г. депрессия популяции морских котиков о-ва Тюлений может быть результатом выявленных изменений структуры популяции.

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 государственных заданий Института автоматизации и процессов управления ДВО РАН и Института комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Болтнев А.И. Северный морской котик Командорских островов. М.: ВНИРО. 2011. 264 с.
- Жданова О.Л., Кузин А.Е., Фрисман Е.Я. Динамика выживаемости самцов северного морского котика (*Callorhinus ursinus*) острова Тюлений (Охотское море) по данным многолетних наблюдений // Зоол. журн. 2017. Т. 96. № 6. С. 720–739.
- Жданова О.Л., Кузин А.Е., Фрисман Е.Я. Оценка ювенильной выживаемости самцов северного морского котика (*Callorhinus ursinus*): математическое моделирование и анализ данных // Математ. биол. и биоинформатика. 2018. Т. 13. № 2. С. 360–375. <https://doi.org/10.17537/2018.13.360>
- Корнев С.И., Блохин И.А., Генералов А.А., Семеринов А.П. Исторический тренд командорской популяции северного морского котика за 50 лет (1958–2007 гг.) // Исслед. водных биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана. 2008. № 11. С. 105–120.
- Кузин А.Е. Интрапопуляционная структура северного морского котика острова Тюленьего в годы выхода из депрессии (1993–2009 гг.) // Изв. ТИНРО. 2010. Т. 161. С. 53–67.
- Кузин А.Е. Новые данные о численности морского котика (*Callorhinus ursinus*), сивуча (*Eumetopias jubatus*) и ларги (*Phoca largha*) на о. Тюленьем (Охотское море) // Изв. ТИНРО. 2014а. Т. 178. С. 87–94.
- Кузин А.Е. Северный морской котик. Владивосток: ТИНРО-центр. 2014б. 492 с.

- Фаулер Ч. Северные морские котики на островах Прибылова // Северный морской котик: систематика, морфология, экология, поведение. М.: ИПЭЭ РАН. 1998. Ч. 2. С. 450–498.
- Фрисман Е.Я., Жданова О.Л., Кузин А.Е. К чему привел промысел северного морского котика: результаты калибровки математических моделей по данным наблюдений (на примере популяции о-ва Тюлений) // Экология. 2019. № 2. С. 149–160.
- Шутиков В.К., Розенберг Г.С. Рандомизация и бутстреп: статистический анализ в биологии и экологии с использованием R. Тольятти: Кассандра. 2013. 314 с.
- Шунтов В.П. Биологические ресурсы Охотского моря. М.: Агропромиздат. 1985. 224 с.
- Chapman D.G. Population dynamics of the Alaska fur seal herd // Trans. North Am. Wildl. Nat. Resour. Conf. 1961. V. 26. P. 356–369.
- Davison A.C., Hinkley D.V. Bootstrap methods and their application. Cambridge: Cambridge University Press. 2006. 592 p.
- Efron B. Bootstrap methods: another look at the jackknife // Breakthroughs in statistics. 1992. New York, NY: Springer. P. 569–593.
- Interim Convention on Conservation of North Pacific Fur Seals. <http://sedac.ciesin.columbia.edu/entri/texts/acrc/fur.seals.1957.html>
- Gentry R.L., Goebel M.E. Behavior and biology. Pribilof Islands // NOAA Technical Memorandum NMFS F/NWC-37 Fur Seal Investigations, 1981 Fur seal investigation. 1981. U.S. Dep. Commer. NOAA Tech. Memo. NMFS F/NWC-37. P. 27–33.
- Lander R.H. A life table and biomass estimate for Alaskan fur seals // Fisheries Research. 1981. V. 1. P. 55–70.
- Lee O.A., Burkanov V., Neill W.H. Population trends of northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) from a meta-population perspective // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2014. V. 451. P. 25–34.
- Nagasaki F. Population study on the fur seal herd // Spec. Publ. Tokai Fish. Lab. 1961. № 365. P. 60.
- Summary of northern fur seal data and collection procedures. Vol. 2: Eastern Pacific pelagic data of the United States and Canada (excluding fur seals sighted). U.S. Dep. Commer. NOAA Tech. Memo. NMFS F/NWC-4. 1980a. 541 p. <https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/23306>
- Summary of northern fur seal data and collection procedures. V. 3: Western Pacific pelagic data of the Soviet Union and Japan, 1958–78 (excluding fur seals sighted) // Dep. Commer. NOAA Tech. Memo. NMFS F/NWC-4. 1980b. 304 p. https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/5412-noaa_5412_DS1.pdf
- Trites A.W., York A.E. Unexpected changes in reproductive rates and mean age at first birth during the decline of the Pribilof northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1993. V. 50. № 4. P. 858–864. <https://doi.org/10.1139/f93-098>
- Wade P.R., Burkanov V.N., Dahlheim M.E. et al. Killer whales and marine mammal trends in the North Pacific – a re-examination of evidence for sequential megafauna collapse and the prey-switching hypothesis // Mar. Mamm. Sci. 2007. V. 23. № 4. P. 766–802. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2006.00093.x>
- Yoshida K., Okumoto N., Baba N. Japanese pelagic investigation of fur seals, 1977 // Far Seas Fish. Res. Lab. (Shimizu, Jpn.), Fur Seal Resour. Sect. 1978. 38 p.
- Zhdanova O.L., Kuzin A.E., Skaletskaya E.I., Frisman E.Ya. Why the population of the northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) of Tyuleny Island does not recover following the harvest ban: analysis of 56 years of observation data // Ecol. Model. 2017. V. 363C. P. 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2017.08.027>

Dynamics of the Reproductive Characteristics of Northern Fur Seal *Callorhinus ursinus* (Linnaeus, 1758) Females in Tyuleny Island During Active Harvesting of Males

O. L. Zhdanova^a, A. Ye. Kuzin^b, and Ye. Ya. Frisman^c

^aInstitute for Automation and Control Processes Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia

^bPacific Branch of the “VNIRO” (TINRO), Vladivostok 690950, Russia

^cComplex Analysis of Regional Problems Institute Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Birobidzhan 679016, Russia

The paper analyzes the dynamics of reproductive characteristics of Northern fur seal females in Tyuleny Island based on the data on their physiological state obtained by Japan and the USSR in the western part of the Pacific Ocean and the Sea of Okhotsk in 1958–1980. We have compared the dynamics of reproductive characteristics of Northern fur seal females in Tyuleny Island where commercial onshore harvesting of females was not practiced with those in the populations of the Pribilof Islands, where an experimental strategy of females harvesting was introduced, along with the commercial harvesting of males. Despite the significant difference in the harvesting strategies for fur seals from the Pribilof and Tyuleny populations, an analysis revealed similar dynamics in the reproductive characteristics of females from both locations during the period of intensive hunting: higher age at first birth and lower pregnancy rates of young females. The most likely reason for this negative trend in the population of Tyuleny Island seems to be a shortage of young bulls and sub-adult males due to intensive hunting of males.

Keywords: *Callorhinus ursinus*, Northern fur seal, harvest, dynamics, reproductive characteristics of females, age at first birth, pregnant rate

УДК 597.585.1.591.8.575.174.015.3

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ДВУХ ВИДОВ РЫБ *SIGANUS FUSCESCENS* (HOUTTUYN, 1782) И *GERRES OBLONGUS* (CUVIER, 1830) (АСТИНОПТЕРЫГИ: ПЕРЦИФОРМЕС), ОБИТАЮЩИХ В СУБЛИТОРАЛЬНОЙ ЗОНЕ ОСТРОВА МАЛАПАСКУА (ФИЛИППИНЫ)

© 2022 г. А. Г. Селюков¹ *, О. Н. Жигилева¹, А. И. Боричевская¹, С. С. Шадрина¹¹Тюменский государственный университет, Тюмень 625003, Россия

*e-mail: ags-bios@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.12.2021 г.

После доработки 15.06.2022 г.

Принята к публикации 06.10.2022 г.

Представлены данные о состоянии органов и генетическом полиморфизме темного сига *Siganus fuscescens* и низкотелого герреса *Gerres oblongus*. Массовые патологические изменения в жаберном эпителии и печени этих рыб, а также низкие показатели генетического полиморфизма, выявленные в результате исследования, свидетельствуют о неблагоприятных экологических условиях в сублиторальной зоне о-ва Малапаскуа, представляющих угрозу жизнеспособности популяций данных видов.

Ключевые слова: темный сиган, низкотелый геррес, гистопатологии, генетический полиморфизм, Филиппины

DOI: 10.31857/S0134347522060110

Усиление антропогенного давления на морские экосистемы, изменение климата и ряд других факторов стали причиной снижения биопродуктивности и биоразнообразия Мирового океана. Довольно остро эта проблема проявляется в сублиторальной зоне тропических островов, испытывающих круглогодичную рекреационную нагрузку. Филиппинский архипелаг – часть Малайского архипелага в Индо-Вост-Пацифике, он находится в глобальном центре морского биоразнообразия, в так называемом Коралловом треугольнике. Комфортный климат и видовое богатство коралловых рифов привлекают сюда многочисленных туристов, что негативно отражается на состоянии прибрежных вод (Ong et al., 2011). При этом вызывает опасения экологическая ситуация, связанная с загрязнением, сейсмической активностью и изменением климата. Сообщается о влиянии органического и микробного загрязнения (Reichardt et al., 2007; Cuvin-Aralar et al., 2016), а также обилия микропластика на морскую прибрежную среду в водах архипелага (Todd et al., 2010; Alcalá et al., 2020).

Наиболее удобным и значимым биоиндикатором состояния прибрежных экосистем являются массовые виды рыб, морфофункциональное состояние которых имеет важное экологическое значение (Руднева, Залевская, 2004). В сублиторальной зоне о-ва Малапаскуа к таким видам от-

носятся *Siganus fuscescens* (Houttuyn, 1782) и *Gerres oblongus* (Cuvier, 1830). Оба вида ассоциированы с коралловыми рифами, но *G. oblongus* может обитать в опресненной воде эстуариев.

Темный сиган *S. fuscescens* – представитель семейства сигановых, фитофаг сублиторальной зоны Западной Пацифики, встречается от берегов Японии до Северной Австралии, а также у Филиппинских островов и Индонезии. В центральных районах Филиппин его существованию угрожают чрезмерный промысел и загрязнение среды микропластиком, приводящие к уменьшению размеров рыб в период половой зрелости и к снижению их плодовитости (Alcalá et al., 2020).

Питающийся беспозвоночными низкотелый геррес *G. oblongus* имеет сходную экологию и распространение, однако его ареал включает также северную часть Индийского океана. Вид важен с коммерческой точки зрения для удовлетворения экономических потребностей населения прибрежных районов (Yeragi, Yeragi, 2015).

В генетическом отношении оба вида изучены неравноценно. *S. fuscescens* вызывает интерес генетиков из-за сложной постплейстоценовой истории вида, а также незавершенного видообразования, связанного с эволюционной молодостью таксона и несовершенной межвидовой изоляцией. В связи с этим среди сигановых, с одной стороны, нередки случаи межвидовой гибридизации

(Kuriiwa et al., 2007), с другой – возможно существование криптических форм внутри известных видов, что подтверждается генетическими и морфологическими различиями (Ravago-Gotanco et al., 2018), а также данными по молекулярной генетике их специфичных паразитов (Brooks et al., 2017).

Цель настоящей работы – используя гистопатологические и генетические маркеры, оценить состояние популяций двух видов рыб из прибрежных вод о-ва Малапаскуа (Филиппинские острова).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом послужили 13 экз. темного сига и 10 экз. низкотелого герреса, отловленных мелководной сетью в сублитеральной зоне у западной части о-ва Малапаскуа в феврале 2020 г. Для гистологического анализа жабры и печень фиксировали в 4% нейтральном формалине. Гистологическую обработку этих органов проводили по общепринятым методикам (Микодина и др., 2009). Площадь нарушений эпителия жабр оценивали с использованием видеокамеры AxioCam MRc5 и лицензионного программного обеспечения AxioVision 4.7.1. На пяти выбранных случайным образом гистологических срезах каждой особи площадь очерченного участка с патологическими изменениями относили к общей площади и выражали в процентах с последующим усреднением. Для генетических исследований образцы мышц фиксировали в 70% этаноле. ДНК экстрагировали методом щелочного лизиса (Bender et al., 1983). Для оценки генетического полиморфизма использовали метод полимеразной цепной реакции последовательностей, ограниченных простыми повторами (ISSR-PCR) с четырьмя видами праймеров: (AG)₈C (UBC-808), (AG)₈T (UBC-807), (AC)₈T (UBC-825) и (TC)₈C (UBC-823). Амплификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей ПЦР буфер (0.01 М трис-HCl, 0.05 М KCl и 0.1% Triton X-100), 4 мМ MgCl₂, 0.2 мМ каждого из dNTPs, 1 мкл раствора тотальной ДНК, 2.5 мМ праймера и 0.2 ед/мкл Taq-полимеразы в следующем режиме: 94°C – 7 мин, затем 94°C – 30 с, 52°C – 45 с, 72°C – 2 мин (40 циклов), 72°C – 7 мин. Разделение ампликонов осуществляли методом электрофореза в 2% агарозном геле. Длины фрагментов определяли с помощью маркера молекулярной длины ДНК 100 bp.

Стандартные популяционно-генетические характеристики рассчитывали с использованием программы POPGEN32 (Yeh et al., 1999). Для оценки генетического полиморфизма использовали долю полиморфных локусов (P), среднее наблюдаемое (n_a) и эффективное число аллелей на локус (n_e), а также показатель генетического раз-

нообразия (h), предложенный Неи (Nei, 1973) и аналогичный показателю средней ожидаемой гетерозиготности (H).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У исследованных рыб почти вся площадь жаберного эпителия была подвержена патологическим изменениям разной степени. Цито-гистологический анализ жаберного аппарата рыб позволил установить относительно нормальное состояние лишь отдельных участков. Помимо отека респираторного эпителия (рис. 1а) выявлены обширные участки деструкции и некротизации ламелл вплоть до их превращения в клеточный детрит (рис. 1б). Нередко отмечали хондромы хрящевой основы филаментов (рис. 1в). Слияние респираторных ламелл, отек и отслоение респираторного эпителия, хондромы филаментов и некротизация жаберного эпителия у обоих видов прибрежных рыб, выловленных у о-ва Малапаскуа, привели к тому, что только $1.5 \pm 0.78\%$ площади жабр у темного сига и $1.7 \pm 0.53\%$ у низкотелого герреса не имели тех или иных патологий.

В печени рыб обоих видов явные нарушения были редкими. В гепатоцитах всех особей низкотелого герреса присутствовали липидные включения. Кроме того, у сига выявлены фиброзы печеночной паренхимы (рис. 1г). Отмечена также кавернизация ткани печени, выявленная у большинства особей сига, занимавшая не более 1% площади среза. Данная аномалия у особей герреса встречалась реже (у 29% особей).

Для оценки генетического полиморфизма популяций проведено генотипирование особей с использованием четырех ISSR-праймеров. Всего интерпретировано 47 ампликонов у сига и 49 – у герреса. Количество ампликонов по разным праймерам варьировало от 7 до 16 у темного сига и от 6 до 13 у низкотелого герреса. Количество полиморфных ампликонов изменялось от 2 до 13 в зависимости от применяемого праймера. Как качественные, так и количественные (частотные) характеристики паттернов у исследованных видов существенно различались. Доля полиморфных локусов составляла 32.8% у сига и 56.9% у герреса; генетическое разнообразие Неи (h) составляло 0.14 и 0.23, наблюдаемое число аллелей на локус (n_a) – 1.3 и 1.6, эффективное (n_e) – 1.2 и 1.4 у *S. fuscescens* и *G. oblongus* соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Цито-гистологический анализ выявил в жабрах всех исследованных особей темного сига и низкотелого герреса многочисленные патологии, которые свидетельствовали о значительном угнетении респираторной системы или даже прекра-

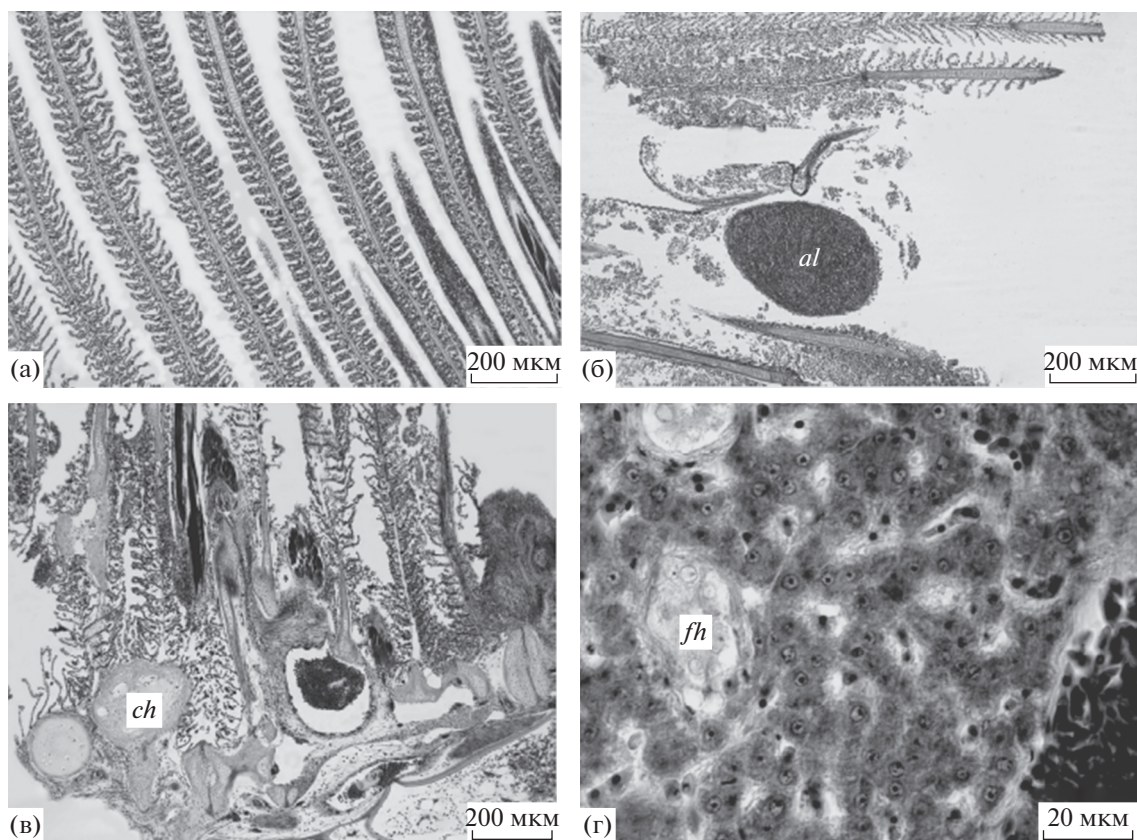


Рис. 1. Состояние жаберного эпителия и печени у низкотелого герреса и темного сига из прибрежных вод о-ва Ма-лапаскуа. а – отек респираторных ламелл у темного сига; б – нарушения респираторного эпителия у герреса: образование аневризмы; превращение респираторных ламелл в клеточный детрит; в – дегенеративные изменения в жаберном аппарате темного сига: хондромы в основании филламентов, искривления хрящевой основы филламентов и их деструкция; г – фрагмент печени сига: фиброзы с дегенерирующими гепатоцитами. Условные обозначения: *al* – аневризма респираторной ламеллы, *ch* – хондрома хрящевой основы филламенты, *fh* – фиброз ткани печени.

шении ее функционирования в отдельных участках. Известно, что жаберный аппарат наиболее чувствителен к загрязнению. Ранее подобные патологии были отмечены в жаберном аппарате черноморской скорпены (*Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758) из загрязненных вод севавтопольских бухт (Селюков и др., 2018). Нарушения в печени исследованных рыб регистрировали реже и у меньшего числа особей. Причинами выявленных гистопатологий могли стать цианиды, арсениды и другие токсиканты, в значительном количестве встречающиеся в водах архипелага (Todd et al., 2010; Abreo, 2018).

Согласно результатам генетических исследований, оценки ISSR-полиморфизма оказались довольно низкими для этих широкоареальных морских видов, а также для использованного типа генетических маркеров, для которого полиморфность достигает 80–100%, а генетическое разнообразие – 0.32. Кроме того, оценки оказались существенно ниже, чем для многих изученных нами ранее пресноводных рыб (Zhigileva et al., 2013; 2017).

Несмотря на эволюционную молодость и незавершенность видообразования сига, полученные данные указывают на довольно низкое генетическое разнообразие у этих рыб, особенно у *S. fuscescens*. Исследователи, изучавшие генетический полиморфизм темного сига с использованием микросателлитных маркеров (Ravago-Gotanco, Juinio-Meñez, 2010), выявили у этого вида уровни полиморфизма от умеренного до высокого, с 5–28 аллелями на локус и наблюдаемую гетерозиготность (H_{OBS}) в диапазоне от 0.111 до 0.921. По аллозимным данным, у данного вида также выявлены высокие уровни $H_{OBS} = 0.085$ (Magsino, Juinio-Meñez, 2008), однако авторы отметили значительную генетическую структуризацию среди популяций как в разных регионах, так и внутри одного из них, при этом более низкая генетическая изменчивость наблюдалась в районах с нарушением среды обитания, влияющим на смертность личинок и успех пополнения. В частности, значительное влияние на уровень полиморфизма и генетическую структуру популяций темного сига в регионе могут оказывать тайфу-

ны и критическое падение температуры (Magsino, Juinio-Meñez, 2008; Hsu, Gwo, 2017).

При сопоставимых объемах выборок и числе изученных ампликонов уровень генетического полиморфизма у *G. oblongus* был в 1.6 раза выше, чем у *S. fuscescens*, что согласуется с данными о более широкой экологической толерантности первого вида и свидетельствует о его большем потенциале к изменчивости. Сравнение с популяциями близкородственного симпатрического вида *S. argenteus* выявило бóльшую уязвимость *S. fuscescens* (Magsino, Juinio-Meñez, 2008); авторы связывают это с особенностями размножения темного сига, в частности, с пелагическим способом откладки икры и длительной пелагической личиночной стадией.

Таким образом, сублитораль о-ва Малапаскуа — широко известного туристического и дайвинг-центра — можно характеризовать как зону экологического неблагополучия, где даже молодые особи тропических прибрежных видов рыб обладают набором патологий некоторых органов. В других регионах подобные патологии не всегда присутствуют даже у рыб старшего возраста. Сокращение генетического разнообразия, сильно выраженное у *S. fuscescens*, может быть следствием массовой гибели икры и личинок в прибрежной зоне. Полученные результаты позволяют говорить о негативном прогнозе жизнеспособности популяций изученных видов рыб у побережья о-ва Малапаскуа.

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.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д.А. и др. Гистология для ихтиологов: опыт и советы. М.: ВНИРО. 2009. 112 с.
- Руднева И.И., Залевская И.Н. Личинки атерины (*Atherina hepsetus* L.) как биоиндикаторы загрязнения прибрежных акваторий Черного моря // Экология. 2004. № 2. С. 107–111.
- Селюков А.Г., Чернов В.С., Жуков Г.В. и др. Гистопатологические изменения жаберного аппарата черноморской скорпены *Scorpaena porcus* как индикатора состояния прибрежных морских вод // Загрязнение морской среды: экологический мониторинг, биоиндикация, нормирование. Материалы Всерос. науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 125-летию проф. В.А. Водяницкого, г. Севастополь, 28 мая–01 июня 2018. Севастополь: Колорит. 2018. С. 228–233.
- Abreo N.A.S. Marine plastics in the Philippines: a call for research // Philipp. Science Lett. 2018. V. 11. № 1. P. 18–19.
- Alcala A.C., Bucol A.A., Bucol L.A. et al. Microplastics in the mottled rabbitfish (*Siganus fuscescens*) in Negros Oriental, Philippines with notes on the siganid fishery // Silliman J. 2020. V. 61. № 1. P. 19–36.
- Bender W., Spiere P., Hogness D.S. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from Ace and rosy loci of bithorax complex in *Drosophila melanogaster* // J. Mol. Biol. 1983. V. 168. P. 17–33.
- Brooks X., Cribb T.H., Yong R.Q.Y., Cutmore S.C. A re-evaluation of diversity of the Aporocotylidae Odhner, 1912 in *Siganus fuscescens* (Houttuyn) (Perciformes: Siganidae) and associated species // Syst. Parasitol. 2017. V. 94. P. 717–737.
- Cuvin-Aralar M.L.A., Ricafort C.H., Salvacion A. An overview of agricultural pollution in the Philippines: The fisheries sector. Prepared for the World Bank. Washington, D.C. 2016. 79 p.
- Hsu T.H., Gwo J.C. Fine-scale genetic structure of rabbitfish, *Siganus fuscescens*, in Penghu Archipelago following a mass mortality event caused by extreme cold winter weather // Genes Genomics. 2017. V. 39. P. 645–652.
- Kuriwa K., Hanzawa N., Yoshino T. et al. Phylogenetic relationships and natural hybridization in rabbitfishes (Teleostei: Siganidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA analyses // Mol. Phylogenet. Evol. 2007. V. 45. № 1. P. 69–80.
- Magsino R.M., Juinio-Meñez M.A. The influence of contrasting life history traits and oceanic processes on genetic structuring of rabbitfish populations *Siganus argenteus* and *Siganus fuscescens* along the eastern Philippine coasts // Mar. Biol. 2008. V. 154. P. 519–532.
- Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1973. V. 70. № 12. P. 3321–3323.
- Ong L.T.J., Storey D., Minnery J. Beyond the beach: balancing environmental and socio-cultural sustainability in Boracay, the Philippines // Tourism Geogr. 2011. V. 13. № 4. P. 549–569.
- Ravago-Gotanco R., de la Cruz T.L., Pante M.J., Borsa P. Cryptic genetic diversity in the mottled rabbitfish *Siganus fuscescens* with mitochondrial introgression at a contact zone in the South China Sea // PLoS One. 2018. V. 13. № 2. Art. ID e0193220.
- Ravago-Gotanco R., Juinio-Meñez M.A. Phylogeography of the mottled spinefoot *Siganus fuscescens*: Pleistocene divergence and limited genetic connectivity across the Philippine archipelago // Mol. Ecol. 2010. V. 19. № 20. P. 4520–4534.
- Reichardt W., McGlone M.L.S.D., Jacinto G.S. Organic pollution and its impact on the microbiology of coastal marine environments: a Philippine perspective // Asian J. Water, Environ. Pollut. 2007. V. 4. P. 1–9.

- Todd P.A., Ong X., Chou L.M. Impacts of pollution on marine life in Southeast Asia // Biodiversity Conserv. 2010. № 19. P. 1063–1082.
- Yeh F.C., Yang R., Boyle T. POPGENE version 1.31: based freeware Microsoft Window – for population genetic analysis. University of Alberta and Centre for International Forestry Research. 1999.
- Yeragi S.S., Yeragi S.G. Gonado-somatic index of *Gerres oblongus* (Cuvier) from Mithbav estuary, Sindhudurg district, Maharashtra, India // Int. J. Life Sci. 2015. V. 3. № 4. P. 375–378.
- Zhigileva O.N., Baranova O.G., Pozhidaev V.V. et al. Comparative analysis of using isozyme and Issr-Pcr markers for population differentiation of cyprinid fish // Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 2013. V. 13. P. 159–168.
- Zhigileva O.N., Kultysheva M.E., Svatov A.Yu., Urupina M.V. Genetic diversity in populations of silver crucian carp *Carassius auratus gibelio* (Cyprinidae, Cypriniformes), depending on the type of reproduction and reservoir size // Biol. Bull. 2017. V. 44. № 10. P. 1278–1283.

Assessment of the State of Populations of Two Fish Species *Siganus fuscescens* (Houttuyn, 1782) and *Gerres oblongus* (Cuvier, 1830) (Actinopterygii: Perciformes) in the Sublittoral Zone of Malapascua Island (Philippines)

A. G. Selyukov^a, O. N. Zhigileva^a, A. I. Borichevskaya^a, and S. S. Shadrina^a

^a*Tyumen State University, Tyumen 625003, Russia*

The state of organs and genetic polymorphism were examined in the mottled spinefoot *Siganus fuscescens* and the slender silver-biddy *Gerres oblongus*. The study revealed massive pathological changes in the gill epithelium and liver of the fish, as well as a low level of genetic polymorphism. This indicates unfavorable environmental conditions in the sublittoral zone of Malapascua Island, threatening the viability of populations of the species.

Keywords: mottled spinefoot, slender silver-biddy, histopathology, genetic polymorphism, Philippines

УДК 594.1-111.1-15:546.221.1

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОИДНЫХ КЛЕТОК ГЕМОЛИМФЫ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANADARA KAGOSHIMENSIS* (TOKUNAGA, 1906) В УСЛОВИЯХ СЕРОВОДОРОДНОЙ НАГРУЗКИ

© 2022 г. А. А. Солдатов^{1, 2, *}, Е. С. Кладченко¹, В. Н. Рычкова¹, Т. А. Кухарева¹, А. О. Лантушенко², Я. В. Мегер²

¹Федеральный исследовательский центр Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь 299011, Россия

²Севастопольский государственный университет, Севастополь 299053, Россия

*e-mail: alekssoldatov@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.03.2022 г.

После доработки 28.06.2022 г.

Принята к публикации 30.06.2022 г.

В условиях эксперимента исследовали влияние сероводородной нагрузки (СН) на морфофункциональные характеристики эритроидных элементов гемолимфы двустворчатого моллюска *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906). Работа выполнена на взрослых особях с высотой раковины 26–38 мм. Контрольную группу животных содержали в аквариуме с концентрацией кислорода 7.0–7.1 мг О₂/л (нормоксия). Экспериментальную группу подвергали действию СН, создаваемой при растворении в воде Na₂S до финальной концентрации 6 мг S²⁻/л. Спустя сутки концентрация кислорода в воде составляла 1.8 мг О₂/л, а сероводород не был обнаружен. Часть моллюсков подвергли повторной сероводородной нагрузке, добавив Na₂S до конечной концентрации 9 мг S²⁻/л. К концу вторых суток в воде регистрировали 1.9 мг S²⁻/л и следовую концентрацию кислорода 0.03 мг О₂/л. Сочетанное действие сульфидов и гипоксии разной интенсивности вызвало ряд однозначных изменений в функциональном состоянии эритроидных клеток анадары: увеличился мембранный потенциал митохондрий при одновременном сокращении их числа в клетках; на фоне повышения продукции активных форм кислорода снизилась осмотическая стойкость эритроцитов. В связи с повышением содержания макроцитов в гемолимфе существенно увеличился средноклеточный объем. В эритроцитах снизилось число содержащих гематин зернистых включений, которые массово переместились в гемолимфу моллюска. Предполагается, что совокупность этих процессов направлена на нейтрализацию высоких концентраций сульфидов в среде.

Ключевые слова: моллюски, *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906), сероводород, гемолимфа, эритроидные элементы

DOI: 10.31857/S0134347522060122

Нарушение баланса между окислением органического вещества и поступлением кислорода приводит к формированию в водной толще устойчивых во времени редокс-зон (Маслов, Подковыров, 2018). Для них характерно анаэробное разложение органического вещества, которое в сочетании с бактериальным восстановлением сульфатов приводит к локальному повышению концентрации сероводорода (Affonso et al., 1998; Völkel, Bergenbrink, 2000). В этом отношении Черное море является наиболее наглядным примером (Беляев, Совга, 1991). Его водная толща, за исключением глубин до 150–200 м, постоянно заражена сероводородом. К подобным акваториям можно отнести ряд норвежских фиордов, впади-

ну Карьяко в Карибском море и др. (Peterson, Naug, 2006). Относительно устойчивые зоны с повышенной концентрацией сульфидов на шельфе могут формироваться из-за отсутствия сквозной вертикальной конвекции и образования локальных зон гниения мертвого органического вещества (Орехова, Коновалов, 2018). В ряде случаев причиной этого явления становится апвеллинг, приводящий к поступлению богатых сульфидами глубинных вод в прибрежную зону (Орехова, Коновалов, 2018).

Сероводород токсичен для большинства организмов с аэробным типом дыхания. Это связано с его способностью ингибировать цитохром-с-оксидазу дыхательной цепи митохондрий клеток

(Cooper, Brown, 2008) и переводить гемсодержащие белки (гемоглобин, миоглобин) в сульфид-производную форму, которая исключает связывание и транспорт кислорода (Bagarinao, 1992; Grieshaber, Völkel, 1998). Показана способность сульфидов ингибировать экспрессию транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией (hypoxic-inducible factor, HIF) (Wu et al., 2012). Однако многие организмы проявляют выраженную устойчивость к присутствию сероводорода в воде. К ним можно отнести, например, пресноводных рыб семейства Poeciliidae из сероводородных источников на юге Мексики (Tobler et al., 2008, 2011), обитающего в застойных водах Амазонки сома *Hoplosternum littorale* (см.: Brauner et al., 1995), отдельные виды нематод, обнаруженных в зоне черноморского хемоклина (Sergeeva et al., 2021), а также ряд двустворчатых моллюсков, толерантных к повышенным концентрациям сульфидов (Miyamoto, Iwanaga, 2017).

Природа устойчивости гидробионтов к присутствию сульфидов в воде до конца не установлена. В некоторых работах рассмотрены участие сульфидоокисляющей микрофлоры, поселяющейся на респираторных поверхностях, и ее роль в нейтрализации сероводородной нагрузки (Stewart, Cavanaugh, 2006), способность ряда организмов переводить сульфиды в тиосульфаты (Bagarinao, Vetter, 1993). В ряде работ отмечено наличие в гемолимфе гидробионтов особого транспортного белка и нечувствительных к сероводороду гемоглобинов (Agr, Childress, 1981, 1983), а также присутствие в эритроцитах некоторых видов зернистых включений, содержащих гематин, которые способны окислять сульфиды (Vismann, 1993; Holden et al., 1994).

Двустворчатый моллюск *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) – вид-вселенец, появившийся в Черном море в конце 1960-х годов. В условиях эксперимента его особи показали устойчивость не только к острым формам гипоксии и аноксии (Cortesi et al., 1992), но и к сероводородной нагрузке (Miyamoto, Iwanaga, 2017; Nakano et al., 2017). Ранее в эритроцитах этого моллюска описаны зернистые включения и показано их участие в процессах адаптации анадары к повышенным концентрациям сульфидов (Солдатов и др., 2018). В настоящей работе продолжены исследования по изучению влияния повышенных концентраций сульфидов на эритроидные клетки гемолимфы *A. kagoshimensis*.

Цель работы – при помощи методов проточной цитометрии, светооптической и конфокальной микроскопии исследовать особенности морфологии и функционального состояния эритроидных клеток гемолимфы *A. kagoshimensis* в условиях повышенных концентраций сульфидов

и развивающейся на этом фоне внешней гипоксии разной интенсивности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследование выполнено на взрослых особях *Anadara kagoshimensis*, собранных в июне 2021 г. в б. Ласпи (Крым). Высота раковины моллюсков (от замка до края створки) составляла от 26 до 38 мм.

Схема эксперимента

Контрольную группу моллюсков содержали в воде с концентрацией кислорода 7.0–7.1 мг O₂/л (нормоксия) (группа 1). Экспериментальную группу подвергали действию сероводорода. В воде с моллюсками (группа 2) растворяли Na₂S до финальной концентрации 6 мг S²⁻/л. Экспозиция составляла 24 ч. Присутствие в воде сульфид-иона приводило к ее защелачиванию, которое компенсировали внесением 0.1н HCl. Значения pH удерживали на уровне 8.2–8.3. В результате взаимодействия сульфид-иона с кислородом содержание обоих газов в воде аквариума понижалось. Спустя 24 ч концентрация кислорода в воде составляла 1.8 мг O₂/л, а сероводород не был обнаружен. Через 24 ч у семи моллюсков взяли образцы гемолимфы. Еще 7 особей (группа 3) подвергли повторной сероводородной нагрузке. В воду аквариума вносили Na₂S до финальной концентрации 9 мг S²⁻/л. Спустя 24 ч в воде аквариума были отмечены следы кислорода (0.03 мг O₂/л), а уровень сероводорода составлял 1.9 мг S²⁻/л. У моллюсков, подвергшихся повторной сероводородной нагрузке, также были отобраны образцы гемолимфы.

Содержание кислорода в воде контролировали при помощи оксиметра DO Meter ST300D RU (Ohaus, США). Значения pH измеряли на pH-метре InoLab pH 720 (Германия). Концентрацию сульфид-иона в воде определяли потенциометрически с применением сульфидселективного сенсора “MSBS” (Нидерланды).

Проточная цитометрия

Гемолимфу отбирали стерильным шприцем из экстрапаллиальной полости моллюска, трижды отмывали в стерилизованной морской воде в течение 5 мин (500 г) и фильтровали через фильтр с диаметром ячейки 20 мкм для удаления частиц не клеточной природы (Зуева и др., 2020; Zeng et al., 2021). Процедуру выполняли при низкой температуре (4–5°C), препятствующей образованию агрегатов клеток, и проводили микроскопический контроль за процессом агрегирования. После отмывки часть концентрата клеток использовали для приготовления мазков. Оставши-

еся клетки ресуспендировали в морской воде (концентрация гемоцитов $1-2 \times 10^6$ кл/мл).

Для идентификации типов клеток на проточном цитометре Beckman Coulter FC500 готовую суспензию окрашивали ДНК-красителем SYBR Green I (Sigma Aldrich, США) (финальная концентрация в пробе 10 мкмоль/л, время инкубации составляло 40 мин в темноте при температуре 4°C). Типы гемоцитов классифицировали на основании относительного размера (по величине прямого рассеяния FSC) и уровня гранулярности цитоплазмы (по величине бокового рассеяния SSC).

Способность гемоцитов к спонтанной продукции активных форм кислорода оценивали по флуоресценции красителя 2-7-дихлорфлуоресцеин-диацетата (DCF-DA, Sigma Aldrich, США). Для этого 1 мл суспензии гемоцитов инкубировали с 10 мкл раствора DCF-DA в течение 40 мин в темноте при температуре 4°C. Финальная концентрация красителя в пробе составляла 10 мкмоль/л. Флуоресценцию красителя анализировали на канале FL1 (экстинкция – 485 нм, эмиссия – 525 нм).

Изменения мембранного потенциала митохондрий (МПМ) в эритроцитах контролировали, измеряя интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных родамином 123 (R123) (Molecular Probes, США). Эритроциты R123 окрашивали в течение 10 мин. Концентрация красителя в пробе составляла 2.5 мкл/л. Интенсивность флуоресценции красителя определяли на канале FL1 (экстинкция – 508 нм, эмиссия – 528 нм).

Осмотическая стойкость эритроцитов

Осмотическую резистентность клеток красной крови оценивали с помощью метода лазерной дифракции (Kladchenko et al., 2022). Для количественного описания осмотической хрупкости гемоцитов *A. kagoshimensis* использовали точки 10% (H_{10}), 50% (H_{50}) и 90% (H_{90}) гемолиза, отражавшие осмолярность среды, при которой наблюдался лизис 10, 50 и 90% клеток в образце. В работе использовали лазерный анализатор микрочастиц LaSca-ТМ (BioMedSystems, Россия) (Mindukshev et al., 2016; Миндукшев и др., 2019). Полученную информацию обрабатывали с помощью оригинального программного обеспечения LaSca_32 v.1498. Величину осмолярности растворов контролировали, используя криосмометр OsmoSpecial 1 (Astori, Italy).

Конфокальная микроскопия

Для оценки количества митохондрий в эритроидных клетках использовали конфокальный микроскоп Stellaris 5 (Leica, Germany). Клеточную суспензию окрашивали красителем R123,

инкубация длилась 30 мин. Препараты просматривали при длине волны лазера 530 нм. Число митохондрий оценивали как количество светящихся точек, приходившихся на одну клетку. При этом учитывали размеры очага свечения. Крупные точки рассматривали как скопление двух митохондриальных единиц. На каждом препарате просматривали не менее 500 эритроидных клеток. На основании полученных данных определяли среднее число митохондрий, приходившихся на один эритроцит.

Светлооптическая микроскопия

Мазки гемолимфы окрашивали комбинированным методом Паппенгейма (Золотницкая, 1987) и анализировали при помощи светового микроскопа PR-2 Lum (Biomed, Russia), оборудованного камерой C NG Series (Levenhuk, China). Большой и малый диаметры клеток (C_1 и C_2) и ядер (N_1 и N_2) измеряли по фотографиям в программе ImageJ 1.44 p у 100 клеток на каждой мазке. На основании полученных значений по известным алгоритмам рассчитывали средноклеточный объем (V_c) (Houchin et al., 1958), объем ядра (V_n) (Ташкэ, 1980) и толщину клетки (h) (Чижевский, 1959):

$$V_c = 0.7012 \left(\frac{C_1 + C_2}{2} \right)^2 h + V_n;$$

$$V_n = \frac{\pi N_1 N_2^2}{6};$$

$$h = 1.8 + 0.0915(C_1 - 7.5).$$

Одновременно на мазках гемолимфы из расчета на 1000 клеток определяли число макроцитов и клеток с низким содержанием гранулярных включений (менее 30 единиц на клетку).

Статистические сравнения выполнены на основе непараметрического критерия Манна–Уитни. Результаты представлены как $M \pm m$. В работе использовали стандартный пакет Grapher (версия 11).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проточная цитометрия

По относительному размеру клеток и уровню гранулярности в гемолимфе моллюска выделены два типа гемоцитов: эритроциты и амебоциты (рис. 1). Эритроциты явно преобладали, на их долю приходилось более 85% клеточной массы. Повышение интенсивности флуоресценции DCF-DA (рис. 2) подтвердило, что сероводородная нагрузка вызвала увеличение продукции активных форм кислорода эритроцитами. Рост наблюдался уже в первые сутки эксперимента (группа 2) и становился еще более выраженным после повторной

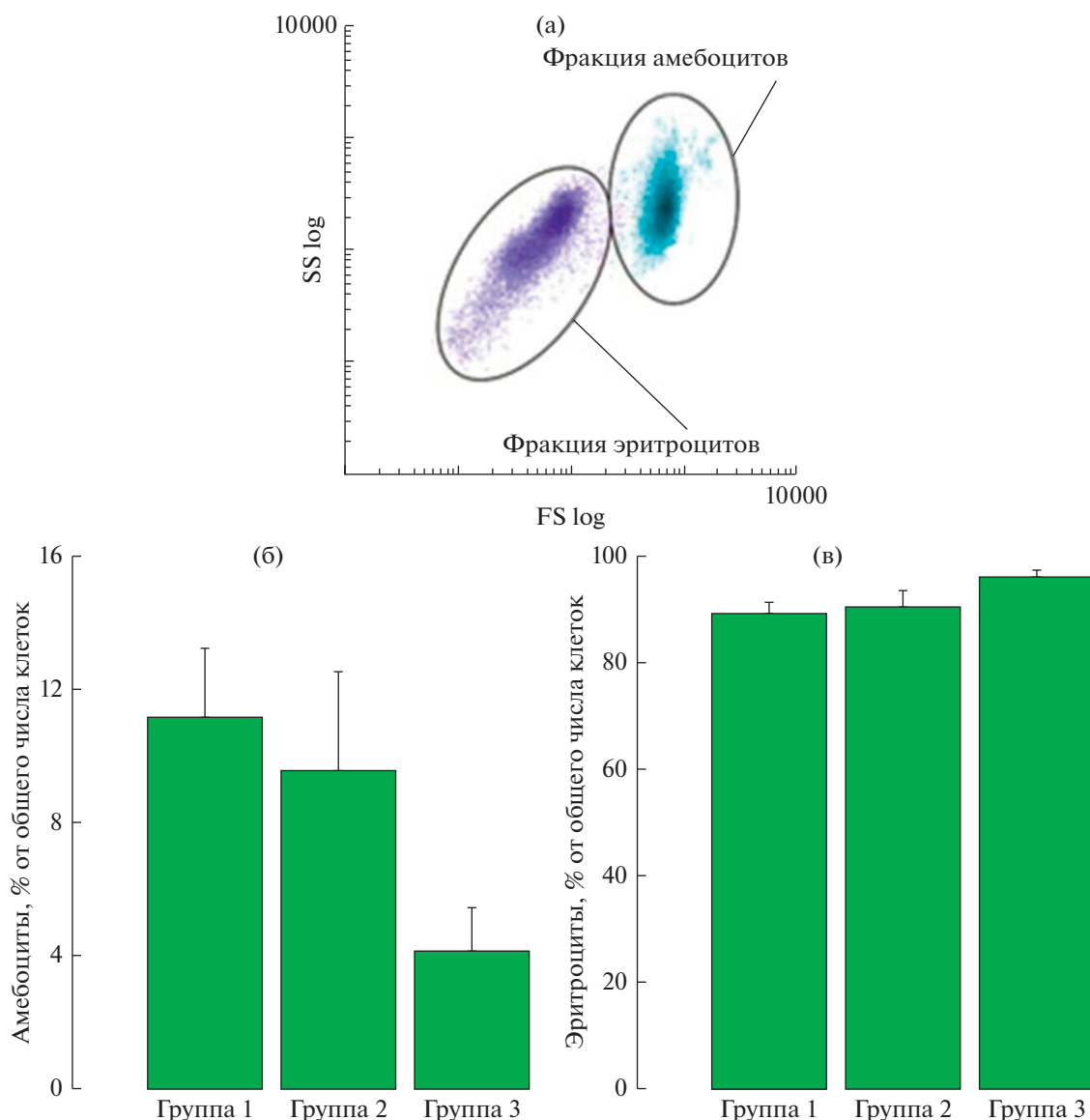


Рис. 1. Соотношение гемоцитов в гемолимфе анадары: а – распределение клеточных типов по показателю относительного размера (FS Log) и относительной гранулярности (SS Log); б – зависимость относительного числа амёбоцитов в гемолимфе от величины сероводородной нагрузки; в – зависимость относительного числа эритроцитов в гемолимфе от величины сероводородной нагрузки; группа 1 – контроль; группа 2 – сутки после внесения Na₂S; группа 3 – двое суток после внесения Na₂S.

сероводородной нагрузки (группа 3). Прирост интенсивности флуоресценции DCF-DA по сравнению с таковой в контрольной группе моллюсков в целом составил 33–34% ($p < 0.05$).

О величине МПМ эритроцитов судили по интенсивности флуоресценции родамина R123 (рис. 2). Основное увеличение МПМ отмечено на вторые сутки эксперимента (группа 3). Его значения в 2.3 раза ($p < 0.01$) превышали контрольные величины. В первые сутки (группа 2) различия были выражены слабо.

Осмотическая стойкость

Популяция эритроидных клеток по признаку осмотической стойкости в гемолимфе анадары была сравнительно гетерогенна. Первые признаки лизиса (Н₁₀) были отмечены при 145.9 ± 23.3 мОсм/кг, а завершение (Н₉₀) – при 39.2 ± 4.5 мОсм/кг (табл. 1). Диапазон резистентности варьировал в пределах 79–134 мОсм/кг. Основная масса клеток разрушалась (Н₅₀) при 72.3 ± 19.2 мОсм/кг.

Рост значений Н₁₀ показал, что под влиянием сероводородной нагрузки осмотическая стой-

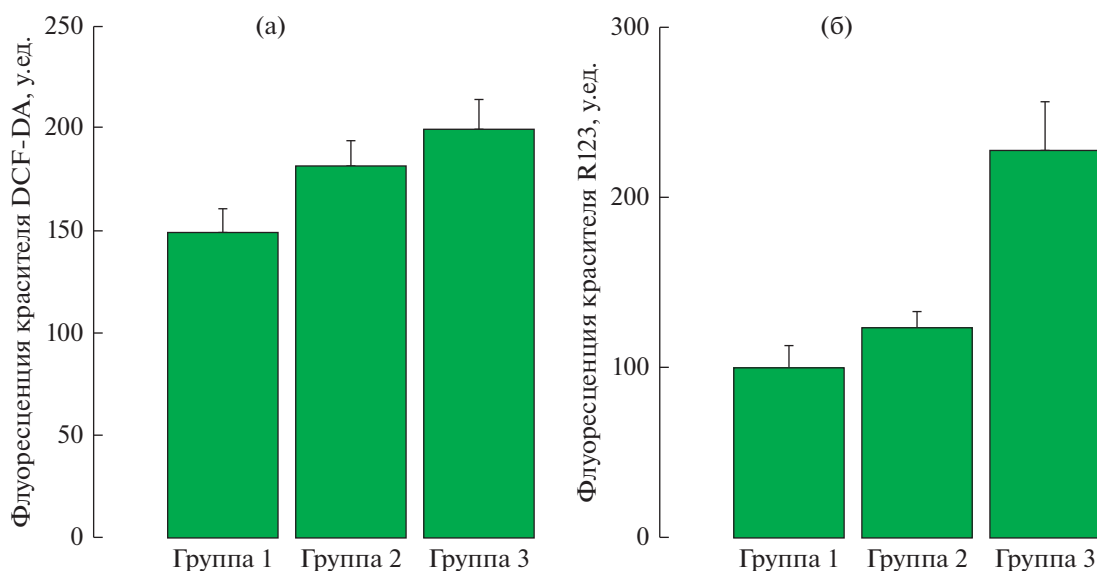


Рис. 2. Интенсивность флуоресценции DCF-DA (а) и R123 (б) эритроцитарных взвесей анадары. Группа 1 – контроль, группа 2 – сутки после внесения Na₂S, группа 3 – двое суток после внесения Na₂S.

кость клеток в первые сутки эксперимента (группа 2) понижалась. При этом увеличивалось число высоко устойчивых к осмотическому шоку эритроцитов (H_{90}). Полный лизис происходил при 13.4 ± 3.0 мОсм/кг, что в 3 раза ($p < 0.05$) ниже контрольных значений. Диапазон осмотической резистентности был более широким (145–181 мОсм/кг), это отражало рост гетерогенности эритроидной популяции клеток в присутствии сероводорода.

На вторые сутки эксперимента (группа 3) популяция эритроидных клеток была более однородной. Первые признаки лизиса (H_{10}) зарегистрированы при 130.2 ± 11.1 мОсм/кг. Доля высокоустойчивых к лизису клеток (H_{90}) оставалась на уровне, отмеченном в первые сутки (19.4 ± 2.8 мОсм/кг), т.е. диапазон резистентности был более узким – 97–125 мОсм/кг. При этом устойчивость к осмотическому шоку основной группы клеток (H_{50}) оставалась низкой – 49.6 ± 5.1 мОсм/кг, что составляло лишь 32% от контрольных значений.

Конфокальная микроскопия

Окраска клеточной взвеси эритроцитов роданином R123 позволила визуализировать митохондриальные единицы в клетках (рис. 3). В контрольной серии (группа 1) на один эритроцит в среднем приходилось 7.2 ± 0.3 митохондрий. Сероводородная нагрузка оказала негативное влияние на состояние эритроидных клеток. Число митохондрий в них равномерно понижалось: 4.4 ± 0.1 (группа 2) и 3.5 ± 0.1 (группа 3).

Светлооптическая микроскопия

Эритроциты гемолимфы анадары представляют собой крупные округлые клетки (рис. 4а). Продольный (C_1) и поперечный (C_2) диаметры имеют близкие значения: 18.9 ± 0.6 и 16.1 ± 0.5 мкм. Средний объем клетки (V_c) составляет 678.5 ± 52.0 мкм³. Ядро компактное, с высокой долей гетерохроматина, что отражает низкую функциональную активность данной структуры. Форма ядра эллипсоидная ($N_1 = 5.5 \pm 0.1$ мкм; $N_2 = 4.1 \pm 0.1$ мкм), объем $V_n = 50.1 \pm 3.1$ мкм³; обычно оно располо-

Таблица 1. Показатели осмотической стойкости эритроидных клеток в норме и в условиях сероводородной нагрузки

Степень лизиса	Длительность эксперимента		
	контроль (группа 1)	24 ч (группа 2)	48 ч (группа 3)
H_{10}	145.9 ± 23.3	176.3 ± 15.1	130.2 ± 11.1
H_{50}	72.3 ± 19.2	47.8 ± 7.7	49.6 ± 5.1
H_{90}	39.2 ± 4.5	13.4 ± 3.0	19.4 ± 2.8

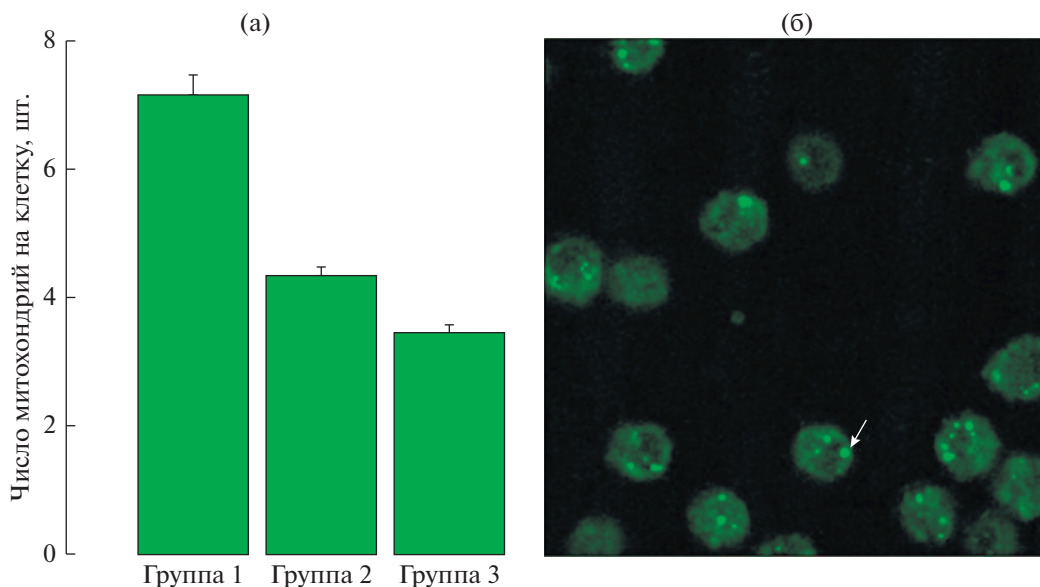


Рис. 3. Число митохондрий в эритроидных элементах гемолимфы анадары: а – изменение числа R123-положительных митохондрий в условиях сероводородной нагрузки (группа 1 – контроль, группа 2 – сутки после внесения Na₂S, группа 3 – двое суток после внесения Na₂S); б – флуоресцентная микроскопия эритроидных элементов гемолимфы, окрашенных R123 (стрелка указывает на функционально активную митохондрию).

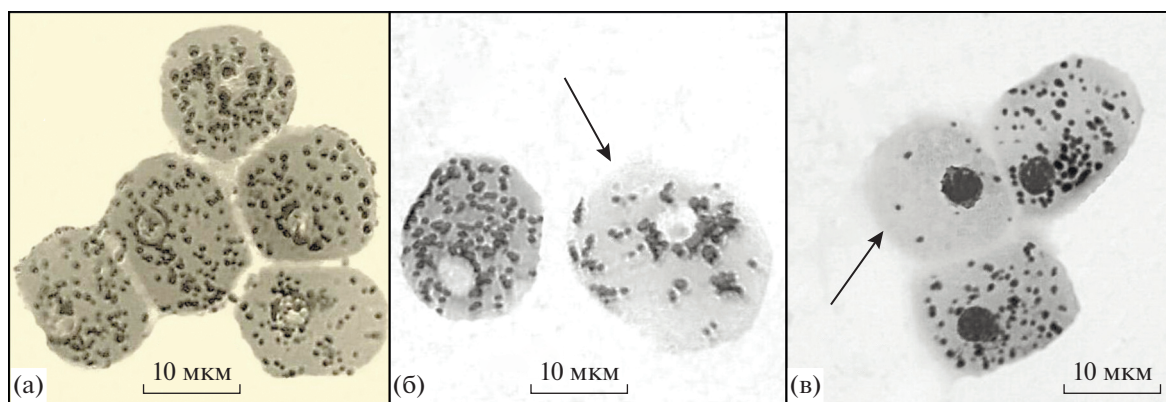


Рис. 4. Морфологические особенности эритроидных элементов гемолимфы анадары: а – общий вид; б – макроцит; в – клетка с низким содержанием гранулярных включений, менее 30 единиц на клетку.

жено в центре клетки. Цитоплазма ацидофильная с высоким содержанием гемоглобина и большим числом мелких зернистых включений. Внесение Na₂S в воду аквариума, где содержались моллюски, привело к значительному росту объема клетки и ее ядра (группа 2) (рис. 5). Увеличение составило 24.3 и 30.1% ($p < 0.05$). На вторые сутки эксперимента (группа 3) картина была противоположной.

Анализ морфологических особенностей эритроцитов показал значительный рост числа макроцитов в гемолимфе моллюска ($p < 0.05$) в условиях сероводородной нагрузки (первые сутки эксперимента, группа 2) (рис. 4б, 6). Одновременно по-

вышалось и число клеток с низким уровнем зернистых включений (рис. 4в, 6), однако эти различия были статистически незначимы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Внесение в воду аквариума Na₂S привело к существенной модификации условий водной среды, в которой находились особи анадары. Сначала сероводородная нагрузка была нейтрализована присутствием кислорода. Спустя 24 ч (группа 2) сульфиды в воде не были обнаружены, а содержание кислорода понизилось до 1.8 мг O₂/л, что соответствовало условиям умеренной гипоксии

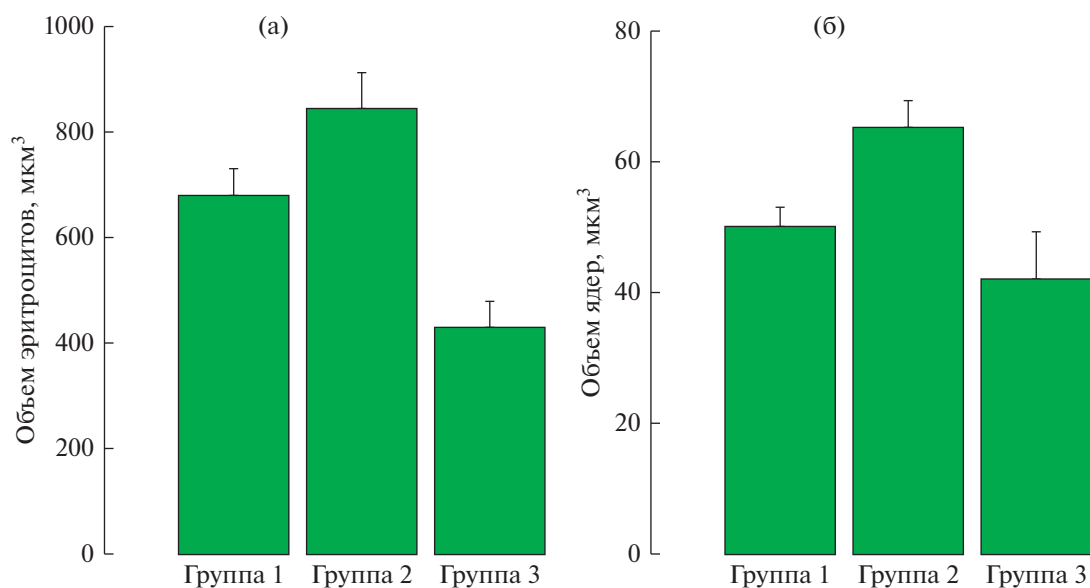


Рис. 5. Объем эритроцитов (а) гемолимфы анадары и их ядер (б). Группа 1 – контроль; группа 2 – сутки после внесения Na_2S ; группа 3 – двое суток после внесения Na_2S .

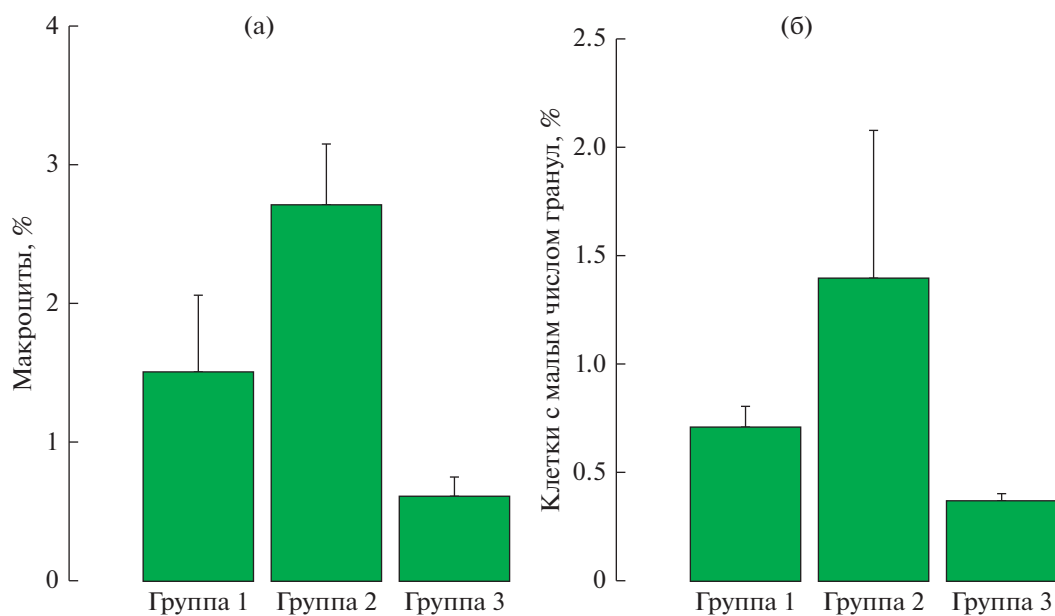


Рис. 6. Содержание макроцитов (а) и клеток с низким содержанием гранулярных включений (б) в гемолимфе анадары. Группа 1 – контроль; группа 2 – сутки после внесения Na_2S ; группа 3 – двое суток после внесения Na_2S .

(Rosenberg et al., 2001). Повторное внесение Na_2S привело практически к полному исчезновению кислорода в воде ($0.03 \text{ мг O}_2/\text{л}$) с сохранением сульфидов на уровне $1.9 \text{ мг S}^{2-}/\text{л}$ (группа 3).

Из представленной информации следует, что организму анадары приходится адаптироваться сначала к условиям кратковременного действия Na_2S и умеренной гипоксии, а затем к условиям аноксии и продолжительному действию сульфидов.

Анализ функционального состояния митохондрий эритроидных клеток гемолимфы анадары показал отсутствие каких-либо значимых изменений в состоянии органоида в условиях умеренной гипоксии (группа 2). Значения МПМ фактически совпадали с контрольными величинами. При аноксии (группа 3) значения МПМ увеличились более чем в 2 раза, что отражает явное функциональное напряжение. Такая реакция вполне

ожидаема. Известно, что анадара длительный период времени способна находиться в условиях аноксии (Zwaan, Babarro, 2002; Солдатов и др., 2009) и удерживать норму потребления кислорода при крайне низком его содержании в среде (Cortesí et al., 1992). Последнее возможно лишь при наличии высокого средства к кислороду у цитохромоксидазы, что свойственно толерантным к острым формам гипоксии видам (Pierron et al., 2012). Не следует исключать из внимания тот факт, что митохондрии видов, устойчивых к сульфидам, способны использовать эти соединения в качестве субстрата окисления для продукции АТФ, что может привести к росту значений МПМ, как это показано для калифорнийского фундулюса *Fundulus parvipinnis* (см.: Bagarinao, Vetter, 1990). Процесс утилизации Na_2S протекает только при его относительно низкой концентрации, что в принципе совпадает с условиями наших экспериментов.

Согласно результатам, полученным при помощи конфокальной микроскопии, токсическая сероводородная нагрузка значительно сокращала число митохондрий в эритроцитах анадары как на первом, так и на втором этапах эксперимента (группы 2 и 3). Показано, что сульфиды способны связываться с цитохромоксидазой, ограничивая ее взаимодействие с кислородом (Cooper, Brown, 2008; Sao et al., 2011). Данный процесс фактически блокирует клеточное дыхание и останавливает функционирование дыхательной цепи митохондрий (гистотоксическая гипоксия). Последнее может сопровождаться лизисом органоидов, что, по-видимому, и наблюдалось. Однако, как следует из результатов настоящей работы, это затрагивало не все митохондрии, часть из них продолжала функционировать, о чем свидетельствовало увеличение их мембранного потенциала. Следовательно, организм анадары способен частично компенсировать СН.

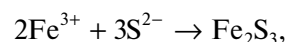
Сероводородная нагрузка приводит к увеличению продукции активных форм кислорода (АФК) в эритроидных клетках анадары, что подтверждалось усилением интенсивности флуоресценции DCF-DA. Необходимо отметить, что эритроидные клетки наряду с выполнением газотранспортной функции являются важным компонентом системы иммунитета моллюска. Уровень АФК в них присутствует постоянно (Kim et al., 2020; Kladchenko et al., 2020). Известно, что сульфиды индуцируют образование метгемоглобина у рыб (Affonso et al., 2002), которое сопровождается генерацией супероксидного анион-радикала. Данный механизм, возможно, присутствует и у анадары, в гемолимфе которой достаточно высокое содержание эритроцитарного гемоглобина (Новицкая, Солдатов, 2011). АФК должны усиливать процессы перекисного окисления липидов в мембранных структурах эритро-

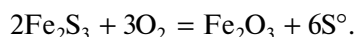
цитов. Косвенным подтверждением этого стало снижение осмотической стойкости клеток в первые сутки эксперимента (H_{10}). Сероводород нарушает состояние цитоплазматических мембран эритроидных форм, о чем свидетельствует агрегирование эритроцитов. Для анадары это показано нами ранее в условиях экспериментальной сероводородной нагрузки (Солдатов и др., 2018).

Сульфидная нагрузка сопровождалась значительным увеличением объема эритроидных клеток и их ядер (более 20%). Можно допустить, что это следствие развития внешней гипоксии: вначале умеренной (группа 2), затем острой (группа 3). Подобная реакция в условиях дефицита кислорода отмечена у многих видов костистых рыб (Nikinmaa et al., 1987; Holk, 1996; Jensen et al., 1998; Новицкая, Солдатов, 2011). Она получила название “swelling” (набухание) и определяется выбросом адреналина в систему циркуляции (Salama, Nikinmaa, 1990; Val et al., 1998). Последний связывается с β -адренорецепторами клеток и активизирует Na^+/H^+ -антипорт, позволяющий стабилизировать величину внутриклеточного pH. Однако подобную схему интерпретации полученных данных невозможно принять в качестве окончательного объяснения, так как этот механизм определяет рост объема клетки не более чем на 5–6% (Nikinmaa et al., 1987). В нашем случае увеличение объема превысило 20% и происходило на фоне роста содержания в гемолимфе макроцитов диаметром более 22 мкм. Появление этих клеточных форм, по-видимому, и определило столь значительное увеличение объема эритроидных клеток.

Появление макроцитов в гемолимфе моллюска в условиях сульфидной нагрузки, вероятно, определяется снижением осмотической стойкости и, как следствие, гидратацией цитоплазмы и набуханием клеток. В дальнейшем это может привести к лизису клеток, как отмечено ранее у анадары в условиях повышенных концентраций сульфидов в воде (Солдатов и др., 2018), или стать началом апоптотических изменений, в результате которых клетка после набухания распадается на отдельные фрагменты (апоптотические тельца) (Манских, 2007). В обоих случаях это должно приводить к освобождению зернистых включений.

Зернистые включения эритроидных клеток в значительном количестве содержат гематины (Vismann, 1993; Holden et al., 1994), которые обладают выраженной окислительной способностью, позволяющей им вступать в реакцию с сероводородом (Vismann, 1993). Продуктом данного взаимодействия может быть образование нестойкого сульфиды трехвалентного железа, который в присутствии кислорода окисляется с образованием атомарной серы:





Показано, что толерантные к сероводородной нагрузке морские беспозвоночные могут накапливать атомарную серу (Powell et al., 1980). Подобный процесс, вероятно, происходит и в организме анадары. Следует также обратить внимание на содержание в гемолимфе анадары эритроидных клеток с пониженным числом зернистых включений. Их количество увеличивалось в присутствии в воде сульфидов. Это позволяет допустить, что эритроциты способны целенаправленно выводить зерна гематина в гемолимфу для нейтрализации Na_2S .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Функциональные эффекты присутствия сульфидов в воде развиваются у анадары на фоне внешней гипоксии разной интенсивности. Они выражаются в увеличении мембранного потенциала митохондрий при одновременном сокращении их числа в эритроидных клетках. Снижается осмотическая стойкость эритроцитов на фоне повышения продукции активных форм кислорода. Повышение содержания макроцитов в гемолимфе приводит к существенному увеличению средноклеточного объема. В эритроидных клетках снижается число содержащих гематин зернистых включений, так как они массово поступают в гемолимфу моллюска. Допускается, что данная совокупность процессов направлена на нейтрализацию высоких концентраций сульфидов в воде.

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 осмотической резистентности гемоцитов анадары после воздействия сероводородной нагрузки выполнено в рамках государственной программы АААА-А18-118021490093-4. Оценку морфометрических и функциональных характеристик гемоцитов (МПМ и продукция активных форм кислорода) проводили в рамках проекта РФФИ 20-04-00037. Конфокальная микроскопия выполнена в рамках Стратегического проекта № 121121700318-1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Беляев В.И., Совга Е.Е. Сероводород в Черном море не взорвется // Пробл. экол. 1991. № 10. С. 47–57.
- Золотницкая Р.П. Методы гематологических исследований // Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина. 1987. С. 106–148.
- Зуева Н.В., Гришуткин Н.В., Зуев Ю.А. и др. Оценка экологического состояния системы реки Паз по гидробиотическим показателям: Материалы VI Международ. конф. молодых ученых, 1–5 сентября 2020 г. Петрозаводск: ФИЦ “Карельский научный центр РАН”, Институт водных проблем Севера КарНЦ РАН.
- Манских В.Н. Пути гибели клетки и их биологическое значение // Цитология. 2007. Т. 49. № 11. С. 909–915.
- Маслов А.В., Подковыров В.Н. Редокс-статус океана 2500–500 млн лет назад: современные представления // Литология и полезные ископаемые. 2018. № 3. С. 207–231.
<https://doi.org/10.7868/S0024497X18030023>
- Миндукиев И.В., Судницына Ю.С., Скверчинская Е.А. и др. Ингибирование реакций эритроцитов на осмотический, аммонийный и окислительный стресс в условиях гипоксии // Биол. мембраны. 2019. Т. 36. № 5. С. 358–372.
<https://doi.org/10.1134/S1990747819040081>
- Новицкая В.Н., Солдатов А.А. Эритроидные элементы гемолимфы *Anadara inaequalis* (Mollusca: Arcidae) в условиях экспериментальной аноксии: функциональные и морфометрические характеристики // Мор. экол. журн. 2011. Т. X. № 1. С. 56–64.
- Орехова Н.А., Коновалов С.К. Кислород и сульфиды в донных отложениях прибрежных районов севастопольского региона Крыма // Океанология. 2018. Т. 58. № 5. С. 739–750.
<https://doi.org/10.1134/S0030157418050106>
- Солдатов А.А., Андреев Т.И., Сысоева И.В., Сысоев А.А. Тканевая специфика метаболизма у двусторчатого моллюска *Anadara inaequalis* Вг. в условиях экспериментальной аноксии // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2009. Т. 45. № 3. С. 284–289.
- Солдатов А.А., Кухарева Т.А., Андреева А.Ю., Ефремова Е.С. Эритроидные элементы гемолимфы двусторчатого моллюска *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) в условиях сочетанного действия гипоксии и сероводородной нагрузки // Биол. моря. 2018. Т. 44. № 6. С. 390–394.
- Ташкэ К. Введение в количественную цитологическую морфологию. Бухарест: Изд-во АН Социал. Респ. Румынии. 1980. 291 с.
- Чижевский А.Л. Структурный анализ движущейся крови. М.: Изд-во АН СССР. 1959. 474 с.
- Affonso E.G., Polez V.L.P., Correa C.F. 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. P. 375–382.
[https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00127-8](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00127-8)
- Affonso E.G., Polez V.L.P., Correa C.F. Metabolic and blood responses of *Hoplosternum littorale* (Siluriformes, Callichthyidae) exposed to acute hydrogen sulfide // Proc.

- Int. Congr. Biol. Fish "Fish Response to Toxic Environments". Baltimore MD: Towson Univ. 1998. P. 153–167.
- Arp A.J., Childress J.J. Blood function in the hydrothermal vent vestimentiferan tube worm // *Science*. 1981. V. 213. P. 342–344.
<https://doi.org/10.1126/science.213.4505.342>
- Arp A.J., Childress J.J. Sulfide binding by the blood of the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* // *Science*. 1983. V. 219. P. 295–297.
<https://doi.org/10.1126/science.219.4582.295>
- Bagarinao T. Sulfide as an environmental factor and toxicant: tolerance and adaptations in aquatic organisms // *Aquat. Toxicol.* 1992. V. 24. P. 21–62.
[https://doi.org/10.1016/0166-445X\(92\)90015-F](https://doi.org/10.1016/0166-445X(92)90015-F)
- Bagarinao T., Vetter R.D. Oxidative detoxification of sulfide by mitochondria of the California killifish *Fundulus parvipinnis* and the speckled sanddab *Citharichthys stigmaleus* // *J. Comp. Physiol. B*. 1990. V. 160. P. 519–527.
<https://doi.org/10.1007/BF00258979>
- Bagarinao T., Vetter R.D. Sulphide tolerance and adaptation in the California killifish, *Fundulus parvipinnis*, a salt marsh resident // *J. Fish Biol.* 1993. V. 42. P. 729–748.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1993.tb00381.x>
- Brauner C.J., Ballantyne C.L., Randall D.J., Val A.L. Air breathing in the armoured catfish (*Hoplosternum littorale*) as an adaptation to hypoxic, acidic, and hydrogen sulphide rich waters // *Can. J. Zool.* 1995. V. 73. P. 739–744.
<https://doi.org/10.1139/z95-086>
- Cao Y., Wang H.G., Cao Y.Y. et al. Inhibition effects of protein-conjugated amorphous zinc sulfide nanoparticles on tumor cells growth // *J. Nanopar. Res.* 2011. V. 13. № 7. P. 2759.
<https://doi.org/10.1007/s11051-010-0163-4>
- Cooper C.E., Brown G.C. The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2008. V. 40. P. 533–539.
<https://doi.org/10.1007/s10863-008-9166-6>
- Cortesi P., Cattani O., Vitali G. et al. Physiological and biochemical responses of the bivalve *Scapharca inaequivalvis* to hypoxia and cadmium exposure: Erythrocytes versus other tissues // *Sci. Total Environ.*, in Marine Coastal Eutrophication, Proceedings of an International Conference. Bologna, Italy. 21–24 March, 1990, 1992, P. 1041–1053.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-89990-3.50090-0>
- Grieshaber M.K., Völkel S. Animal adaptations for tolerance and exploitation of poisonous sulfide // *Annu. Rev. Physiol.* 1998. V. 60. P. 33–53.
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.60.1.33>
- Holden J.A., Pipe R.K., Quaglia A., Ciani G. Blood cells of the arid clam, *Scapharca inaequivalvis* // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 1994. V. 74. № 2. P. 287–299.
<https://doi.org/10.1017/S0025315400039333>
- Holk K. Effects of isotonic swelling on the intracellular Bohr factor and the oxygen affinity of trout and carp blood // *Fish Physiol. Biochem.* 1996. V. 15. P. 371–375.
<https://doi.org/10.1007/BF01875579>
- Houchin D.N., Munn J.I., Parnell B.L. A method for the measurement of red cell dimensions and calculation of mean corpuscular volume and surface area // *Blood*. 1958. V. 13. № 12. P. 1185–1191.
<https://doi.org/10.1182/blood.V13.12.1185.1185>
- Jensen F.B., Fago A., Weber R.E. Hemoglobin structure and function // *Fish Physiol.* 1998. V. 17. P. 1–40.
[https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60257-5](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60257-5)
- Kim J.H., Lee H.M., Cho Y.G. et al. Flow cytometric characterization of the hemocytes of blood cockles *Anadara broughtonii* (Schrenck, 1867), *Anadara kagoshimensis* (Lischke, 1869), and *Tegillarca granosa* (Linnaeus, 1758) as a biomarker for coastal environmental monitoring // *Marine Pollution Bulletin*. 2020. V. 160. P. 111654.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111654>
- Kladchenko E.S., Andreyeva A.Y., Kukhareva T.A., Soldatov A.A. Morphologic, cytometric and functional characterisation of *Anadara kagoshimensis* hemocytes // *Fish Shellfish Immunol.* 2020. V. 98. P. 1030–1032.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.061>
- Kladchenko E.S., Andreyeva A.Y., Mindukshev I.V., Gambaryan S. Cellular osmoregulation of the ark clam (*Anadara kagoshimensis*) hemocytes to hyposmotic media // *J. Exp. Zool. Part A: Ecol. Integr. Physiol.* 2022. P. 1–6.
<https://doi.org/10.1002/jez.2578>
- Mindukshev I., Kudryavtsev I., Serebriakova M. et al. Flow cytometry and light scattering technique in evaluation of nutraceuticals // *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity*. 2016. P. 319–332.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00024-3>
- Miyamoto Y., Iwanaga C. Effects of sulphide on anoxia-driven mortality and anaerobic metabolism in the ark shell *Anadara kagoshimensis* // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 2017. V. 97. Iss. 2. P. 329–336.
<https://doi.org/10.1017/S0025315416000412>
- Nakano T., Yamada K., Okamura K. Duration rather than frequency of hypoxia causes mass mortality in ark shells *Anadara kagoshimensis* // *Mar. Pollut. Bull.* 2017. V. 125. № 1–2. P. 86–91.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.073>
- Nikinmaa M., Cech J.J., Ryhaenen L., Salama A. Red cell function of carp (*Cyprinus carpio*) in acute hypoxia // *J. Exp. Biol.* 1987. V. 47. № 1. P. 53–58.
- Peterson L.C., Haug G.H. Variability in the mean latitude of the Atlantic Intertropical Convergence Zone as recorded by riverine input of sediments to the Cariaco Basin (Venezuela) // *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*. 2006. V. 234. № 1. P. 97–113.
<https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2005.10.021>
- Pierron D., Wildman D.E., Hüttemann M. et al. Cytochrome-c-oxidase: Evolution of control via nuclear subunit addition // *Biochim. Biophys. Acta*. 2012. V. 1817. № 4. P. 590–597.
<https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.07.007>
- Powell E.N., Crenshaw M.A., Rieger R.W. Adaptations to sulfide in sulfide-system meiofauna. Endproducts of sulfide detoxification in three turbellarians and a gastropod // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1980. V. 2. P. 169–177.
<https://booksite.elsevier.com/9780123748553/01~BIB.PDF>
- Rosenberg R., Nilsson H.C., Diaz R.J. Response of benthic fauna and changing sediment redox profiles over a hy-

- oxic gradient // *Estuar. Coastal Shelf Sci.* 2001. V. 53. P. 343–350.
<https://doi.org/10.1006/ecss.2001.0810>
- Salama A., Nikinmaa M.* Effect of oxygen tension on catecholamine-induced formation of cAMP and on swelling of carp red blood cells // *Am. J. Physiol.: Cell Physiol.* 1990. V. 259. P. C723–C726.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.1990.259.5.C723>
- Sergeeva N.G., Ürkmez D., Revkova T.* Meiobenthic nematodes at the deep oxic/anoxic boundary of the Black Sea (Istanbul Strait Outlet Area) with new records for Turkey // *Reg. Stud. Mar. Sci.* 2021. V. 46. Article № 101904.
<https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101904>
- Stewart F.J., Cavanaugh C.M.* Bacterial endosymbioses in *Solemya* (Mollusca: Bivalvia) – model systems for studies of symbiont–host adaptation // *Antonie van Leeuwenhoek.* 2006. V. 90. P. 343–360.
<https://doi.org/10.1007/s10482-006-9086-6>
- Tobler M., DeWitt T.J., Schlupp I.* Toxic hydrogen sulfide and dark caves: phenotypic and genetic divergence across two abiotic environmental gradients in *Poecelia mexicana* // *Evolution.* 2008. V. 62. P. 2643–2649.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00466.x>
- Tobler M., Palacios M., Chapman L.J. et al.* Evolution in extreme environments: replicated phenotypic differentiation in livebearing fish inhabiting sulfidic springs // *Evolution.* 2011. V. 65. № 8. P. 2213–2228.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2011.01298.x>
- Val A.L., De Menezes G.C., Wood C.M.* Red blood cell adrenergic responses in Amazonian teleosts // *J. Fish Biol.* 1998. V. 52. P. 83–93. № 1.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb01554.x>
- Vismann B.* Hematin and sulfide removal in hemolymph of the hemoglobin-containing bivalve *Scapharca inaequivalvis* // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 1993. V. 98. P. 115–122.
<https://doi.org/10.3354/meps098115>
- Völkel S., Berenbrink M.* Sulphaemoglobin formation in fish: a comparison between the haemoglobin of sulphide-sensitive rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and of the sulphide-tolerant common carp (*Cyprinus carpio*) // *J. Exp. Biol.* 2000. V. 203. P. 1047–1058.
<https://doi.org/10.1242/jeb.203.6.1047>
- Wu B., Teng H., Yang G.* Hydrogen sulfide inhibits the translational expression of hypoxia-inducible factor-1 α // *Br. J. Pharmacol.* 2012. V. 167. P. 1492–1505.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02113.x>
- Zeng Y., Huo Y., Yang H.* Immunological assays of hemocytes in the Northern Quahog *Mercenaria mercenaria* // *Fish Shellfish Immunol.* 2021. V. 118. P. 261–269.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.09.006>
- Zwaan A., Babarro J.M.F.* Anoxic survival potential of bivalves: (arte)facts // *Comp. Biochem. Physiol. Part A: Mol. Integr. Physiol.* 2002. V. 131. № 3. P. 615–624.
[https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(01\)00513-X](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(01)00513-X)

Morphofunctional Characteristics of Erythroid Cells of the Hemolymph of the Bivalve *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) under Hydrogen Sulfide Load

A. A. Soldatov^{a, b}, E. S. Kladchenko^a, V. N. Rychkova^a, T. A. Kukhareva^a,
 A. O. Lantushenko^b, and Ya. V. Meger^b

^aA.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, RAS, Sevastopol 299011, Russia

^bSevastopol State University, Sevastopol 299053, Russia

The effect of hydrogen sulfide load (HSL) on the morphological and functional characteristics of erythroid elements of the hemolymph of the bivalve mollusk *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) was studied under experimental conditions. The experiment was performed on adults with a shell height of 26–38 mm. The control group of animals was kept in an aquarium with an oxygen concentration of 7.0–7.1 mg O₂/L (normoxia). The experimental group was exposed to the action of HSL created by dissolving Na₂S in water to a final concentration of 6 mg 6 m²-/L. A day later, the oxygen concentration in the water was 1.8 mg S²⁻/L, and hydrogen sulfide was not detected. Some of the mollusks were re-stressed with hydrogen sulfide by adding Na₂S to a final concentration of 9 mg S²⁻/L. By the end of the second day, 1.9 mg S²⁻/L were recorded with a trace oxygen concentration of 0.03 mg O₂/L in water. The combined effect of sulfides and hypoxia of varying intensity caused a number of unambiguous changes in the functional state of erythroid cells of the ark clams: the membrane potential of mitochondria increased, while the number of mitochondria in cells decreased; against the background of increased production of reactive oxygen species, the osmotic resistance of erythrocytes decreased. Due to the increase in the content of macrocytes in the hemolymph, the average cell volume increased significantly. In erythrocytes, the number of hematin-containing granular inclusions decreased, they massively moved into the hemolymph of the mollusk. It is assumed that the combination of these processes is aimed at neutralization of high concentrations of sulfides in the environment.

Keywords: mollusks, *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906), hydrogen sulfide, hemolymph, erythroid elements

УДК 574.583

СОСТАВ СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ УГЛЕРОДА И АЗОТА У ЛИЧИНОК РОЮЩИХ КРЕВЕТОК ИНФРАОТРЯДОВ GEBIIDEA И AXIIDEA (CRUSTACEA: DECAPODA) ИЗ ЗАЛИВА ВОСТОК ЯПОНСКОГО МОРЯ

© 2022 г. Е. С. Корниенко¹, *, С. И. Кияшко¹¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского (ННЦМБ) ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

*e-mail: kornielena@mail.ru

Поступила в редакцию 28.02.2022 г.

После доработки 11.07.2022 г.

Принята к публикации 02.09.2022 г.

Исследован изотопный состав углерода ($\delta^{13}\text{C}$) и азота ($\delta^{15}\text{N}$) у личинок восьми видов роющих креветок из зал. Восток Японского моря. Установлено, что у зоэа I этих видов состав изотопов углерода варьировал в диапазоне, характерном для планктотрофных организмов; средние значения $\delta^{13}\text{C}$ у личинок упогебий были ниже, чем у личинок аксийд. Наибольшие значения $\delta^{15}\text{N}$, сопоставимые с данными для всеядного зоопланктона, показаны для личинок видов *Leonardsaxius amurensis* и *Voasaxius princeps*. На преобладание фитопланктона в рационе зоэа I *Nihonotrypaea makarovi* указывали низкие значения $\delta^{15}\text{N}$, близкие к соотношению изотопов азота взвешенного органического вещества. В соответствии с изотопным составом азота личинки трех видов *Upogebia* и двух видов *Nihonotrypaea* занимали промежуточное положение ($\delta^{15}\text{N}$ от 6.2 до 6.4‰). Установлено, что рацион исследованных личинок роющих креветок не зависел от таксономического положения; пищевые предпочтения заметно различались даже у зоэа видов, принадлежавших к одному роду, что необходимо учитывать при культивировании личинок декапод в лабораторных условиях.

Ключевые слова: зоэа I, Gebiidea, Axiidea, стабильные изотопы, азот, углерод, Японское море

DOI: 10.31857/S0134347522060080

Десятиногие ракообразные – типичные обитатели морских экосистем, их свободно плавающие планктотрофные личинки (зоэа) – важный сезонный компонент прибрежного меропланктона. В трофических цепях личинки декапод являются потребителем более мелких планктонных организмов, а также служат пищей для хищного зоопланктона и рыб (Lindley et al., 1994). Однако их пищевые предпочтения все еще недостаточно изучены. Когда-то считали, что личинки декапод исключительно хищники (Thorson, 1946), однако к настоящему времени установлено, что они всеядны и в их рацион входят бактерии, фитопланктон от пико- до микроразмера, зоопланктон от нано- до мезоразмерных групп, детрит и фекальные гранулы (Anger, 2001; Schwamborn et al., 2006; Fileman et al., 2014; Umezawa et al., 2018, и др.). Потребляя широкий спектр пищевых частиц разного размера и разной подвижности, личинки декапод демонстрируют избирательность в отношении отдельных видов потенциальной добычи (Fileman et al., 2014). Известно также, что мелкие личинки (например, пенеидных креветок) в большей степени зависят от усвоения фитопланктона,

тогда как крупные (например, личинки омаров) являются плотоядными; у личинок многих видов трофический уровень в ходе онтогенетического развития изменяется (Le Vay et al., 2001). Доступность и качество пищи влияют на выживаемость и рост личинок декапод (Anger, 2001; Zeng et al., 2020).

Выращивание личинок в лабораторной культуре – метод, широко применяемый при изучении биологии декапод. Описание морфологии личинок от самки, принадлежащей к определенному виду, позволяет идентифицировать их в планктоне, что вносит значительный вклад в изучение биоразнообразия десятиногих ракообразных, в первую очередь видов, ведущих скрытый образ жизни. Информация о рационах личинок декапод также получена в основном в результате лабораторных исследований. На лабораторной культуре происходит апробация оптимальных рационов и условий содержания при выращивании объектов марикультуры, например, палемонидных и пенеидных креветок. Показано, что у некоторых видов декапод в зависимости от условий питания может варьировать количество стадий

зоэа (Hamasaki et al., 2020). При культивировании декапод подотряда Pleosuemata в качестве пищи для личинок обычно используют микрозоопланктон: науплиев *Artemia* sp. (см.: Rice, Williamson, 1970) или коловраток *Brachionotus* sp., иногда — личинок корнеголовых ракообразных (Корниенко, Корн, 2005; Корниенко и др., 2007) или зоэа других декапод, например, краба *Uca* spp. (McConaughy, 2002). Использование этих пищевых объектов позволило успешно выращивать в лабораторных условиях личинок десятиногих ракообразных многих видов до оседания или до первых ювенильных стадий. Высокая смертность зоэа, отмечаемая при культивировании некоторых видов, может быть связана с неподходящим рационом.

Роющие креветки инфраотрядов Axiidea и Gebiidea играют заметную роль в бентосных сообществах благодаря образу жизни. При рытье нор они биотурбируют осадок, изменяя его структуру и увеличивая скорость разложения органических веществ (Kinoshita et al., 2003; Webb, Eyre, 2004; Laverock et al., 2010; Das et al., 2017, и др.). Для многих из них характерна значительная плотность поселений, например, у калианассид *Nihonotrypaea harmandi* и *N. japonica* у берегов Японии она достигала соответственно 1440 и 340 экз./м² (Kubo et al., 2006), в российских водах для *N. japonica* отмечена плотность около 200 экз./м² (Селин, 2015а). Это довольно крупные животные с высокой плодovitостью, например, длина тела *Upogebia major* может превышать 10 см, а плодовитость достигает более 4000 яиц (Селин, 2015б). Все это позволяет считать личинок роющих креветок значимым компонентом сезонного меропланктона. В зал. Восток (зал. Петра Великого, Японское море) известны 8 видов роющих креветок: *Upogebia major* (De Haan, 1841), *U. issaefi* (Balss, 1913) и *U. yokoyai* Makarov, 1938 из инфраотряда Gebiidea, а также *Leonardsaxius amurensis* (Kobjakova, 1937), *Boasaxius princeps* (Boas, 1880), *Nihonotrypaea japonica* (Ortmann, 1891), *N. makarovi* Marin, 2013 и *N. petalura* (Stimpson, 1860) (см.: Marin, 2013, 2015; Marin и др., 2013; Marin, Корниенко, 2014) из инфраотряда Axiidea. В лабораторной культуре данные виды выращивали по общепринятой методике, используя науплиев артемии в качестве корма. В результате 7 видов были выращены до стадии мегалопы (Kornienko et al., 2012, 2013, 2014, 2015, 2018; Корн и др., 2017), однако у *N. makarovi* описана только стадия зоэа I, так как высокая смертность личинок наблюдалась уже на ранних стадиях (Korn et al., 2016).

У личинок ракообразных основная роль в сортировке и физической переработке пищевого материала принадлежит, в первую очередь, мандибулам, а также максиллулам, максиллам и максиллипедам (Watling 2013). Мандибулы — это

наиболее важная часть ротового аппарата, служащая для механической обработки пищи. Известно, что у взрослых ракообразных разных таксономических групп морфология мандибул позволяет получить представление о рационе и способе питания. Например, Буруковский (2022), рассматривая строение мандибул в связи с особенностями питания взрослых креветок, отмечает, что у хищников происходит редукция жевательного или режущего отростков, а у детритофагов перетирающие поверхности мандибул хорошо развиты. У личинок десятиногих ракообразных эта связь мало изучена, однако считают, что тупые размазывающие мандибулы характерны для травоядных личинок, присутствие на мандибулах острых зубцов указывает на плотоядность зоэа, а промежуточные формы мандибул встречаются у всеядных личинок (Anger, 2001). Исследование, проведенное нами ранее, показало, что морфология мандибул зоэа упогейбй значительно отличается от таковой личинок калианассид и аксиид (Корниенко, Голубинская, 2018, 2020). Было высказано предположение, что различия в морфологии мандибул у личинок *Upogebia* и *Nihonotrypaea* могут указывать на различия их рационов.

Метод стабильных изотопов углерода и азота все чаще используется в качестве инструмента для анализа трофической структуры наземных и водных экосистем. Содержание тяжелых природных изотопов ¹³C и ¹⁵N в тканях — это естественная метка, с помощью которой можно проследить обмен вещества и энергии между отдельными организмами и целыми сообществами. Соотношение изотопов углерода служит для идентификации источников пищи для животных, а изотопный состав азота позволяет определить позицию животных в трофических цепях (Тиунов, 2007; Le Vay, Gamboa-Delgado, 2011).

Цель настоящей работы — используя метод изотопного анализа, определить трофические позиции в планктонном сообществе у личинок восьми видов роющих креветок инфраотрядов Gebiidea и Axiidea; на основании этих данных выяснить, связаны ли морфологические особенности мандибул личинок гебиидей и аксиидей с различиями их рационов. Полученная информация о характеристиках питания личинок отдельных видов необходима при описании их трофического положения в экосистеме, а также при культивировании личинок декапод в лабораторных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Планктонные пробы брали в районе биостанции “Восток” ННЦМБ ДВО РАН (зал. Восток, Японское море) в июне–июле 2019 г. В качестве образцов для изотопного анализа отбирали зоэа I роющих креветок видов *Nihonotrypaea japonica*,

Таблица 1. Соотношения стабильных изотопов азота ($\delta^{15}\text{N}$) и углерода ($\delta^{13}\text{C}$) (среднее \pm стандартная ошибка среднего) у личинок роющих креветок из зал. Восток Японского моря

Вид	Индекс вида	N	$\delta^{15}\text{N}$, ‰	$\delta^{13}\text{C}$, ‰
<i>Boasaxius princeps</i>	Bp	6	8.0 ± 0.5^a	$-19.4 \pm 1.3^{c, d}$
<i>Leonardsaxius amurensis</i>	La	9	7.2 ± 0.3^b	$-20.6 \pm 0.4^{b, c}$
<i>Nihonotrypaea japonica</i>	Nj	8	6.4 ± 0.2^c	-19.2 ± 0.5^d
<i>Nihonotrypaea makarovi</i>	Nm	5	5.3 ± 0.4^d	$-20.6 \pm 0.4^{b, c, d}$
<i>Nihonotrypaea petalura</i>	Np	5	6.2 ± 0.1^c	$-19.3 \pm 0.1^{c, d}$
<i>Upogebia issaeffi</i>	Ui	8	6.2 ± 0.2^c	-21.0 ± 0.3^b
<i>Upogebia major</i>	Um	14	6.3 ± 0.2^c	$-21.6 \pm 0.9^{a, b}$
<i>Upogebia yokoyai</i>	Uy	10	6.2 ± 0.2^c	-22.4 ± 1.5^a

Примечание. N – количество образцов, взятых для анализа; средние значения с одинаковыми буквенными индексами достоверно не различаются ($p > 0.05$, ANOVA Post-hoc HSD test).

N. petalura и *N. makarovi* (семейство Callianassidae); *Boasaxius princeps* и *Leonardsaxius amurensis* (семейство Axiidae); *Upogebia major*, *U. issaeffi* и *U. yokoyai* (семейство Upogebiidae). Личинок идентифицировали до вида на основе морфологических признаков с помощью определительного ключа (Корн и др., 2017). Из этих же проб были отобраны основные компоненты планктонного сообщества: мизиды, копеподы и сагитты, а также взвешенное органическое вещество (ВОВ), представленное в основном фитопланктоном. Каждый образец для изотопного анализа состоял из нескольких целых особей ($n = 7-25$ экз. в зависимости от размера личинок); количество образцов (N) для отдельного вида личинок или компонента зоопланктона варьировало от 5 до 14 (табл. 1). Образцы сушили в сушильном шкафу при температуре 60°C и хранили в холодильнике при температуре -18°C .

Изотопный анализ выполнен в Лаборатории стабильных изотопов Дальневосточного геологического института ДВО РАН с помощью элементного анализатора FlashEA-1112, соединенного через интерфейс ConFlo-IV с изотопным масс-спектрометром MAT-253 (Thermo Finnigan, Германия). Относительное содержание тяжелых изотопов ^{13}C и ^{15}N в образцах выражали в виде величин δ в промилле от соответствующего стандарта изотопного состава:

$$\delta X (\text{‰}) = [(R_{\text{образца}} - R_{\text{стандарта}}) / R_{\text{стандарта}}] \times 1000,$$

где X – стабильные изотопы ^{13}C или ^{15}N , а R – отношения содержаний стабильных изотопов ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ или $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). Все приведенные ниже значения $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ даны в отношении к общепринятым международным стандартам изотопного состава карбоната PDB и атмосферного азота.

Для калибровки использовали стандарты IAEA CH-6, NBS-22, IAEA N-1 и IAEA N-2 (Меж-

дународное агентство по атомной энергии, Вена). Точность определения величин $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ составила $\pm 0.10\text{‰}$. Данные изотопного анализа приведены в виде среднего значения для нескольких образцов (N) личинок одного вида \pm стандартная ошибка среднего (SE). Стандартная ошибка среднего на рисунке показана линиями. Достоверность различий полученных значений проверяли при помощи дисперсионного анализа (ANOVA). Статистическую обработку данных проводили с использованием программ STATISTICA 8.0 и Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам анализа изотопного состава всех образцов личинок роющих креветок ($N = 65$) размах изотопных соотношений углерода составил 6.9‰ . Вариации изотопного состава углерода личинок определялись видовой принадлежностью образцов ($F = 16.649$, $p < 0.0001$). Средние значения $\delta^{13}\text{C}$ всех исследованных видов находились в диапазоне от -22.4 до -19.2‰ . У личинок калианассид *Nihonotrypaea japonica* и *N. petalura* зарегистрированы самые высокие средние значения $\delta^{13}\text{C}$ (-19.2 и -19.3‰ соответственно).

Сопоставимые значения $\delta^{13}\text{C}$ отмечены для зоэа I *Boasaxius princeps*. Личинки всех видов упогебий показали самые низкие средние значения $\delta^{13}\text{C}$: от -22.4‰ у *Upogebia yokoyai* до -21.0‰ у *U. issaeffi* (табл. 1). В образцах зоэа калианассиды *Nihonotrypaea makarovi* и аксииды *Leonardsaxius amurensis* соотношение изотопов углерода было одинаковым и имело промежуточное значение -20.6‰ .

Образцы личинок исследованных видов роющих креветок различались и по изотопному составу азота, средние значения $\delta^{15}\text{N}$ варьировали от 5.3 до 8.0‰ ($F = 35.952$, $p < 0.0001$). Диапазон

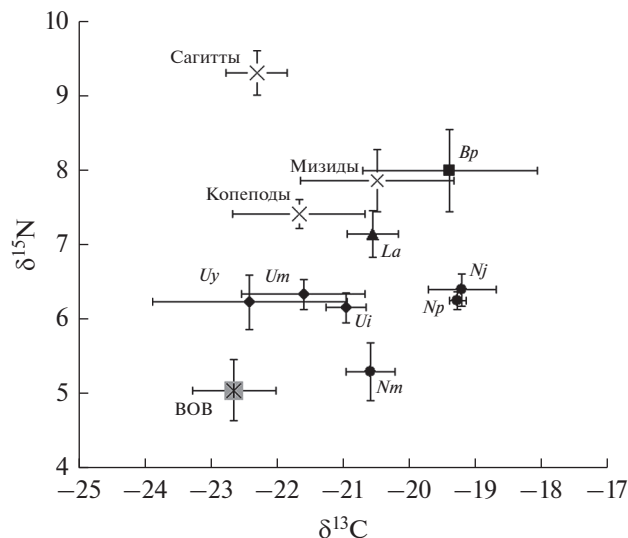


Рис. 1. Соотношения стабильных изотопов углерода и азота (среднее \pm стандартная ошибка среднего) у зоэа I восьми видов роющих креветок инфраотрядов Gebiidea и Axiidea, а также у основных компонентов планктонного сообщества в зал. Восток (Японское море). Индексы видов, как в табл. 1; BOB – взвешенное органическое вещество.

вариаций изотопных соотношений азота составил 3.9‰. Самые высокие значения $\delta^{15}\text{N}$ отмечены у личинок аксийд *B. princeps* и *L. amurensis* – 8 и 7.2‰ соответственно; самые низкие – у каллианассиды *N. makarovi*. Промежуточные значения $\delta^{15}\text{N}$ показали зоэа I каллианассид *N. japonica* и *N. petalura* (6.4 ± 0.2 и 6.2 ± 0.1 ‰ соответственно), которые по изотопному составу азота мало отличались от личинок упогейбий *Upogebia major*, *U. issaeffi* и *U. yokoyai* (рис. 1, табл. 1).

Изотопный состав углерода в образцах основных компонентов планктонного сообщества варьировал от -22.7 до -20.6 ‰. Заметно различался в образцах и изотопный состав азота, что, по-видимому, отражало положение исследованных объектов в трофической иерархии. В образцах BOB, представлявших смесь первичных продуцентов, средние значения $\delta^{15}\text{N}$ составили 5.1 ± 0.4 ‰; у сагитт – хищного компонента зоопланктона, достигали 9.2 ± 0.3 ‰, а для всеядного зоопланктона (мелкие копеподы и мизиды) получены промежуточные значения $\delta^{15}\text{N}$ – соответственно 7.4 ± 0.1 и 7.6 ± 0.1 ‰ (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Информация о факторах окружающей среды, влияющих на продолжительность развития и рост личинок морских беспозвоночных, важна для понимания процессов выживания и распространения личинок, а также взаимосвязи популяций и

динамики их пополнения. Доступность и качество пищи – это один из важнейших факторов, определяющих успех развития личинок (Anger, 2001; Schwamborn et al., 2006; Hamasaki et al., 2020; Zeng et al., 2020). Большая часть информации о рационах личинок декапод основана на лабораторных исследованиях, в ходе которых личинкам предлагали рацион (зачастую избыточный), состоявший из отдельных видов культивируемого фито- или зоопланктона или их смеси. Очевидно, что в естественной среде, где доступность подходящих пищевых организмов значительно варьирует из-за временной и пространственной пятнистости распределения планктона, для удовлетворения энергетических потребностей личинки десятиногих ракообразных используют более широкий спектр питания: растворенное органическое вещество, детрит, бактерии, микроводоросли, простейшие и зоопланктон. Это существенно расширяет возможности оптимального выбора пищи разными формами и стадиями личинок (Anger, 2001).

О рационах и пищевой избирательности личинок роющих креветок инфраотрядов Gebiidea и Axiidea в естественных условиях известно немного (Fileman et al., 2014; Somiya et al., 2014; Umezawa et al., 2018). Согласно результатам молекулярного анализа содержимого кишечника зоэа *Upogebia* spp. из планктона, собранного в прол. Ла-Манш, личинки упогейбий всеядны и потребляют широкий спектр добычи разного размера и разной степени подвижности (Fileman et al., 2014). В этом же исследовании в экспериментах, основанных на методе проточной цитометрии, показано, что культивируемые личинки упогейбий, которых кормили разными микроводорослями, обладали избирательностью по отношению к некоторым из них; кроме того, они поглощали мелкие клетки, включая нано- и пикопланктон.

Изучение функциональной морфологии ротовых придатков и содержимого пищеварительного тракта личинок каллианассиды *Nihonotrypaea harmandi* подтвердило, что зоэа этого вида могут регулярно питаться фитопланктоном, особенно диатомовыми водорослями (Somiya et al., 2014). Следует отметить, что полное развитие *N. harmandi* впервые описано по результатам лабораторных экспериментов, в которых личинок кормили коловратками или науплиями артемии (Konishi et al., 1999; Tamaki et al., 2013). В более поздних экспериментах зоэа, питавшиеся микроводорослями *Chaetoceros gracilis*, также успешно достигли стадии мегалопы (Umezawa et al., 2018). Ранние стадии зоэа *N. harmandi* встречаются, как правило, ниже слоя максимума хлорофилла; по результатам изотопного анализа среднее значение $\delta^{13}\text{C}$ для них составило -18.3 ‰, а $\delta^{15}\text{N}$ – около 6.0‰, что соответствует рациону из фитопланктона и тонущего фитодетрита, на котором при-

сутствуют гетеротрофные простейшие (Umezawa et al., 2018).

По нашим данным в образцах личинок трех исследованных видов упогейбий из зал. Восток соотношение изотопов азота было одинаковым, причем ниже, чем у всеядного зоопланктона, но выше показателей для ВОВ. Следовательно, как и личинки упогейбий в планктоне прол. Ла-Манш, они могут потреблять разнообразную пищу, в том числе фитопланктон разного размера и простейших.

Среди образцов личинок каллианассид, исследованных нами, у зоэа *Nihonotrypaea japonica* и *N. petalura* соотношение изотопов азота было на 0.1–0.2‰ выше значений, полученных для личинок *N. harmandi* (см.: Umezawa et al., 2018). Напротив, у зоэа *Nihonotrypaea makarovi* это соотношение было на 0.7‰ ниже и близко к значению $\delta^{15}\text{N}$, полученному нами для ВОВ ($5.1 \pm 0.4\text{‰}$), что указывает на преобладание в рационе личинок *N. makarovi* растительного компонента. Как и у личинок *N. harmandi* (см.: Somiya et al., 2014), на мандибулах зоэа I *N. makarovi* отмечены остатки пеннатных диатомовых водорослей и следы истирания жевательной поверхности молярного отростка (Корниенко, Голубинская, 2018), что также указывает на растительность личинок этого вида.

Личинки аксийд *Boasaxius princeps* и *Leonard-saxius amurensis* имеющие самые высокие значения $\delta^{15}\text{N}$ среди исследованных видов в планктонном сообществе занимали трофическую позицию, соответствовавшую организмам всеядного зоопланктона (копеподам и мизидам) (рис. 1). Оба вида были успешно выращены в условиях лаборатории, в том числе *B. princeps*, развитие которого включает 8 стадий зоэа (стадии мегалопы личинки достигали через 38 сут после вылупления) (Kornienko et al., 2014, 2018). Вероятно, этому способствовал рацион, близкий к естественному, так как в качестве корма использовали свежесупившихся науплиев *Artemia* sp. Согласно результатам изотопного анализа, естественный рацион исследованных личинок упогейбий, а также каллианассид *N. japonica* и *N. petalura* (значения $\delta^{15}\text{N}$ в диапазоне 6.2–6.4‰) заметно отличался от рациона личинок *B. princeps* и *L. amurensis*. Однако при культивировании личинок этих видов успешно использовали и кормление науплиями артемии (Konishi, 1989; Konishi et al., 1990; Miyabe et al., 1998; Kornienko et al., 2012, 2013, 2015). Вероятно, в данном случае успеху способствовали избыточная концентрация пищи в культуре или то, что вместе с зоопланктоном в культуру личинок попадали микроорганизмы, которые на начальных этапах развития зоэа частично удовлетворяли потребность личинок в пище. Сложности, возникшие при выращивании личинок *N. makarovi*, обусловлены в том числе и тем, что для них такой ра-

цион оказался неприемлемым, так как, согласно результатам изотопного анализа, личинки этого вида предпочитают растительную пищу.

Анализ изотопного состава углерода всех 65 образцов личинок роющих креветок показал, что изотопные соотношения углерода в них оставались в пределах, характерных для прибрежных планктонных организмов, хотя и демонстрировали довольно большой размах вариаций. Самыми низкими были значения $\delta^{13}\text{C}$ у личинок упогейбий *U. major*, *U. issaeffi* и *U. yokoyai*. Соотношения изотопов углерода у личинок всех исследованных аксийд были выше, чем у личинок упогейбий, и изменялись в диапазоне от –20.6‰ у *N. makarovi* и *L. amurensis* до –19.2‰ у *N. japonica*. Большие различия в изотопных соотношениях углерода могут указывать на разные источники пищи животных (Post, 2002), например, личинки декапод способны потреблять разные виды фитопланктона или мертвые клетки микроводорослей на разной степени деградации (Umezawa et al., 2018). Мы не подвергали образцы личинок предварительному обезжириванию, поэтому возможно, что отмеченные вариации значений $\delta^{13}\text{C}$ в какой-то степени отражают различия в содержании липидов в тканях исследованных организмов (Post et al., 2007). Однако из литературных источников известно, что содержание липидов в личинках декапод невысоко, например, у зоэа краба-паука *Maja brachydactyla* на липиды приходится $1.72 \pm 0.25\%$ от сухой массы (Rotllant et al., 2014), а у личинок лобстера *Jasus edwardsii* – от 7.9 до 12.5% в зависимости от стадии развития (Ritara et al., 2003).

Структура пищевых сетей водоемов тесно связана с размером тела составляющих их организмов. Размер в значительной степени определяет трофический уровень консументов и их добычи (Wirtz, 2012). Размер личинок десятиногих ракообразных также часто определяет их трофическое положение в планктонных пищевых сетях; мелкие личинки обычно питаются фито-, а крупные зоопланктоном (Le Vay, Gamboa-Delgado, 2011). В соответствии с полученными ранее данными зоэа I исследованных нами роющих креветок образуют следующий размерный ряд: *L. amurensis* > > *N. makarovi* > *B. princeps* > *U. major* > *N. japonica* > > *N. petalura* > *U. issaeffi* > *U. yokoyai* (Kornienko et al., 2012, 2013, 2014, 2015, 2018; Korn et al., 2016; Корн и др., 2017), что в целом отражает их положение в пищевой сети, за исключением личинок *N. makarovi*, в рационе которых, несмотря на их довольно крупные размеры, преобладает растительный компонент.

Предположение о том, что различия в морфологии мандибул личинок *Upogebia* и *Nihonotrypaea* указывают на различия их рационов, не получило подтверждения, так как по результатам изотопного анализа личинки трех видов упогейбий и двух

видов *Nihonotrypaea* образовали группу с очень близкими значениями $\delta^{15}\text{N}$. В то же время у личинок аксиид и калианассид, имеющих общий план строения мандибул, эти значения заметно различались. У принадлежащих к одному роду *N. makarovi* и *N. japonica* различия в морфологии мандибул зоэа I отсутствуют (Корниенко, Голубинская, 2018), однако значения $\delta^{15}\text{N}$ составили соответственно 5.3 ± 0.4 и $6.4 \pm 0.2\%$. Следовательно, строение мандибул у личинок исследованных видов роющих креветок не отражает специфику их рациона. Ранее было высказано мнение (Geiselbrecht, Melzer, 2010), что в строении мандибул личинок декапод имеются таксон-специфические наборы признаков, которые могут быть использованы для уточнения филогении видов. Наши исследования подтвердили, что особенности питания не скрывают филогенетически значимые морфологические характеристики мандибул личинок декапод.

Таким образом, согласно полученным данным, изотопный состав углерода зоэа исследованных видов декапод изменялся в диапазоне, характерном для планктотрофных организмов, однако у исследованных видов аксиидей значения $\delta^{13}\text{C}$ были выше, чем у упогебий. Наибольшие значения $\delta^{15}\text{N}$, сопоставимые с данными для всеядного зоопланктона, показаны для личинок *L. amurensis* и *B. princeps*; низкие значения $\delta^{15}\text{N}$ отмечены для зоэа *N. makarovi*, они близки к соотношению изотопов азота ВОВ и указывают на преобладание в рационе фитопланктона; промежуточное положение ($\delta^{15}\text{N}$ от 6.2 до 6.4 ‰) занимали личинки трех видов *Upogebia* и двух видов *Nihonotrypaea*. Из этого следует, что рационы исследованных личинок роющих креветок не зависят от таксономического положения вида; строение ротового аппарата личинок, в частности мандибул, не всегда отражает их пищевые предпочтения, так как даже у зоэа декапод одного рода рационы могут заметно различаться, что необходимо учитывать при их культивировании в лабораторных условиях.

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.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Буруковский Р.Н. Креветки: состав пищи и пищевые взаимоотношения. СПб.: Проспект науки. 2022. 568 с.
- Корн О.М., Голубинская Д.Д., Корниенко Е.С. Ключ для определения зоэа роющих креветок инфраотрядов Gebiidea и Axiidea из зал. Петра Великого Японского моря // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 5. С. 341–348.
- Корниенко Е.С., Корн О.М. Культивирование в лабораторных условиях и особенности морфологии личинок японского мохнаторукого краба *Eriocheir japonicus* (De Naan) // Изв. ТИНРО. 2005. Т. 143. С. 35–51.
- Корниенко Е.С., Корн О.М., Кашенко С.Д. Сравнительная морфология личинок прибрежных крабов семейства Varunidae (Crustacea: Decapoda) // Биол. моря. 2007. Т. 33. № 2. С. 83–101.
- Корниенко Е.С., Голубинская Д.Д. Морфология мандибул зоэа I роющих креветок родов *Upogebia* (Gebiidea) и *Nihonotrypaea* (Axiidea) // Биол. моря. 2018. Т. 44. № 4. С. 243–254.
- Корниенко Е.С., Голубинская Д.Д. Морфология мандибул личинок и взрослых роющих креветок *Voasaxius princeps* и *Leonardsaxius amurensis* (Decapoda: Axiidea: Axiidae) // Биол. моря. 2020. Т. 46. № 4. С. 247–260.
<https://doi.org/10.31857/S013434752004004X>
- Марин И.Н., Корниенко Е.С. Десятиногие ракообразные (Decapoda) залива Восток Японского моря // Биота и среда заповедников Дальнего Востока. 2014. № 2. С. 49–71.
- Марин И.Н., Корн О.М., Корниенко Е.С. *Upogebia yokoyai* Makarov, 1938 (Decapoda: Upogebiidae) – новый для фауны Японского моря вид креветок-гебиид // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 3. С. 221–226.
- Селин Н.И. Распределение и некоторые черты биологии креветки-привидения *Nihonotrypaea japonica* (Ortmann, 1891) (Decapoda: Callinassidae) из эстуария реки Волчанка (залив Восток Японского моря) // Биол. моря. 2015а. Т. 41. № 1. С. 13–19.
- Селин Н.И. Некоторые особенности биологии рака-крота *Upogebia major* (De Naan, 1841) (Crustacea: Decapoda) из залива Петра Великого Японского моря // Зоол. журнал. 2015б. Т. 94. № 8. С. 989–992.
- Туинов А.В. Стабильные изотопы углерода и азота в почвенно-экологических исследованиях // Изв. РАН. Сер. биологическая. 2007. № 4. С. 475–489.
- Anger K. The biology of decapod crustacean larvae. Crustacean issues. V. 14. Rotterdam, the Netherlands: Balke-ma. 2001. 419 p.
- Das S., Tseng L.-C., Wang L., Hwang J.-S. Burrow characteristics of the mud shrimp *Austinopecten edulis*, an ecological engineer causing sediment modification of a tidal flat // PLoS One. 2017. V. 12. Art. ID e0187647.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187647>
- Fileman E.S., Lindeque P.K., Harmer R.A. et al. Feeding rates and prey selectivity of planktonic decapod larvae in the Western English Channel // Mar. Biol. 2014. V. 161. P. 2479–2494.

- Geiselbrecht H., Melzer R.R.* Mandibles of zoea I larvae of nine decapod species: a scanning EM analysis (Crustacea, Decapoda) // *Spixiana*. 2010. V. 33. P. 27–47.
- Hamasaki K., Nishimoto S., Okada M. et al.* Dietary effects of phytoplankton and zooplankton on larval survival, duration and growth of four *Caridina* species (Decapoda: Caridea: Atyidae) under laboratory conditions // *Crustacean Res.* 2020. V. 49. P. 225–236.
- Kinoshita K., Wada M., Kogure K., Furota T.* Mud shrimp burrows as dynamic traps and processors of tidal-flat materials // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 2003. V. 247. P. 159–164.
- Konishi K.* Larval development of the mud shrimp *Upogebia (Upogebia) major* (De Haan) (Crustacea: Thalassinidea: Upogebiidae) under laboratory conditions, with comments on larval characters of thalassinid families // *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.* 1989. V. 15. P. 1–17.
- Konishi K., Fukuda Y., Quintana R.R.* The larval development of the mud-burrowing shrimp *Callianassa* sp. under laboratory conditions (Decapoda, Thalassinidea, Callianassidae) // *Crustaceans and the biodiversity crisis. Proc. 4th Int. Crustacean Congr. Amsterdam, the Netherlands, July 20–24, 1998.* V. 1. Leiden, the Netherlands: Brill. 1999. P. 781–804.
- Konishi K., Quintana R.R., Fukuda Y.* A complete description of larval stages of the ghost shrimp *Callianassa petalura* Stimpson (Crustacea: Thalassinidea: Callianassidae) under laboratory conditions // *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.* 1990. V. 17. P. 27–49.
- Korn O.M., Kornienko E.S., Golubinskaya D.D.* First stage larva of the mud shrimp *Nihonotrypaea makarovi* Marin, 2013 (Decapoda: Axiidea: Callianassidae) obtained in the laboratory // *Zootaxa*. 2016. V. 4083. № 2. P. 251–256.
- Kornienko E.S., Korn O.M., Demchuk D.D.* The larval development of the mud shrimp *Upogebia issaeffi* (Balss, 1913) (Decapoda: Gebiidea: Upogebiidae) reared under laboratory conditions // *Zootaxa*. 2012. V. 3269. P. 31–46.
- Kornienko E.S., Korn O.M., Demchuk D.D.* The larval development of the mud shrimp *Upogebia yokoyai* Makarov, 1938 (Decapoda: Gebiidea: Upogebiidae) reared under laboratory conditions // *J. Nat. Hist.* 2013. V. 47. № 29–30. P. 1933–1952.
- Kornienko E.S., Korn O.M., Golubinskaya D.D.* The complete larval development of the lobster shrimp *Boasaxius princeps* Boas, 1880 (Decapoda: Axiidea: Axiidae) obtained in the laboratory // *J. Nat. Hist.* 2014. V. 48. P. 1737–1769.
- Kornienko E.S., Korn O.M., Golubinskaya D.D.* The number of zoeal stages in larval development of *Nihonotrypaea petalura* (Stimpson, 1860) (Decapoda: Axiidea: Callianassidae) from Russian waters of the Sea of Japan // *Zootaxa*. 2015. V. 3919. № 2. P. 343–361.
- Kornienko E.S., Golubinskaya D.D., Korn O.M., Sharina S.N.* The complete description of larval stages of the lobster shrimp *Leonardsaxius amurensis* (Kobjakova, 1937) (Decapoda: Axiidea: Axiidae) identified by DNA barcoding // *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 2018. V. 98. P. 1435–1453.
- Kubo K., Shimoda K., Tamaki A.* Egg size and clutch size in three species of *Nihonotrypaea* (Decapoda: Thalassinidea: Callianassidae) from western Kyushu, Japan // *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 2006. V. 86. P. 103–111.
- Laverock B., Smith C.J., Tait K. et al.* Bioturbating shrimp alter the structure and diversity of bacterial communities in coastal marine sediments // *ISME J.* 2010. V. 4. P. 1531–1544.
- Le Vay L., Jones D.A., Puello-Cruz A.C. et al.* Digestion in relation to feeding strategies exhibited by crustacean larvae // *Comp. Biochem. Physiol., Part A: Mol. Integr. Physiol.* 2001. V. 128. P. 621–628.
- Le Vay L., Gamboa-Delgado J.* Naturally-occurring stable isotopes as direct measures of larval feeding efficiency, nutrient incorporation and turnover // *Aquaculture*. 2011. V. 315. P. 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.033>
- Lindley J.A., Williams R., Conway D.V.R.* Variability in dry weight and vertical distributions of decapod larvae in the Irish Sea and North Sea during the spring // *Mar. Biol.* 1994. V. 120. P. 385–395.
- Marin I.N.* A new species of callianassid ghost shrimp of the genus *Nihonotrypaea* Manning & Tamaki, 1998 (Crustacea, Decapoda, Axiidea, Callianassidae) from southern part of the Russian coast of the Sea of Japan // *Zootaxa*. 2013. V. 3694. № 5. P. 434–444.
- Marin I.N.* Complete morphological re-description of mud-dwelling axiid *Leonardsaxius amurensis* (Kobjakova, 1937) with remarks on Axiidae (Crustacea: Decapoda: Axiidea) from the Russian coast of the Sea of Japan // *Zootaxa*. 2015. V. 3937. № 3. P. 549–563.
- McConaughy J.* Alternative feeding mechanisms in megalopae of the blue crab *Callinectes sapidus* // *Mar. Biol.* 2002. V. 140. P. 1227–1233.
- Miyabe S., Konishi K., Fukuda Y., Tamaki A.* The complete larval development of the ghost shrimp, *Callianassa japonica* Ortmann, 1891 (Decapoda: Thalassinidea: Callianassidae), reared in the laboratory // *Crustacean Res.* 1998. V. 27. P. 101–121.
- Post D.M.* Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions // *Ecology*. 2002. V. 83. № 3. P. 703–718.
- Post D.M., Layman C.A., Arrington D.A. et al.* Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses // *Oecologia*. 2007. V. 152. P. 179–189. <https://doi.org/10.1007/s00442-006-0630-x>
- Rice A.L., Williamson D.I.* Methods for rearing larval decapod Crustacea // *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 1970. V. 20. P. 417–434.
- Ritara A.J., Dunstan G.A., Crear B.J., Brown M.R.* Biochemical composition during growth and starvation of early larval stages of cultured spiny lobster (*Jasus edwardsii*) phyllosoma // *Comp. Biochem. Physiol., Part A: Mol. Integr. Physiol.* 2003. V. 136. P. 353–370.
- Rotllant G., Simeó C.G., Guerao G. et al.* Interannual variability in the biochemical composition of newly hatched larvae of the spider crab *Maja brachydactyla* (Decapoda, Majidae) // *Mar. Ecol.* 2014. V. 35. № 3. P. 298–307.
- Schwamborn R., Ekau W., Silva A.P. et al.* Ingestion of large centric diatoms, mangrove detritus, and zooplankton by zoeae of *Aratus pisonii* (Crustacea: Brachyura: Grapsidae) // *Hydrobiologia*. 2006. V. 560. P. 1–13.

- Somiya R., Suzuki T., Tamaki A.* Mouthpart morphology and wild diet of zoeae of the ghost shrimp, *Nihonotrypaea harmandi* (Decapoda: Axiidea: Callianassidae) // *J. Crustacean Biol.* 2014. V. 34. P. 300–308.
- Tamaki A., Saitoh Y., Itoh J. et al.* Morphological character changes through decapodid-stage larva and juveniles in the ghost shrimp *Nihonotrypaea harmandi* from western Kyushu, Japan: Clues for inferring pre- and post-settlement states and processes // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2013. V. 443. P. 90–113.
- Thorson G.* Reproduction and larval development of Danish marine bottom invertebrates, with special reference to the planktonic larvae in the Sound (Øresund) // *Medd. Komm. Dan. Fisk.- Havunders., Ser. Plankton.* 1946. V. 4. P. 1–523.
- Umezawa Y., Tamaki A., Suzuki T. et al.* Phytoplankton as a principal diet for callianassid shrimp larvae in coastal waters, estimated from laboratory rearing and stable isotope analysis // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 2018. V. 592. P. 141–158.
- Watling L.* Feeding and digestive system // *Functional morphology and diversity. The natural history of the Crustacea.* V. 1. New York: Oxford University Press. 2013. P. 237–260.
- Webb A.P., Eyre B.D.* Effect of natural populations of burrowing thalassinidean shrimp on sediment irrigation, benthic metabolism, nutrient fluxes and denitrification // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 2004. V. 268. P. 205–220.
- Wirtz K.W.* Who is eating whom? Morphology and feeding type determine the size relation between planktonic predators and their ideal prey // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 2012. V. 445. P. 1–12.
- Zeng C., Rotllant G., Giménez L., Romano N.* Effects of environmental conditions on larval growth and development // *Developmental Biology and Larval Ecology, The Natural History of the Crustacea.* V. 7. New York: Oxford University Press. 2020. P. 195–222.

Stable Carbon and Nitrogen Isotope Composition of Larvae of Burrowing Shrimps (Crustacea: Decapoda: Gebiidea and Axiidea) from Vostok Bay, Sea of Japan

E. S. Kornienko^a and S. I. Kiyashko^a

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

Larvae of eight burrowing shrimp species from Vostok Bay, Sea of Japan, were analyzed for carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope composition. In zoea I larvae of these species, the $\delta^{13}\text{C}$ values varied in a range characteristic of planktotrophic organisms, with the average values for larvae of gebiids being lower than for larvae of axiids. The highest $\delta^{15}\text{N}$ values, comparable to those reported for omnivorous zooplankton, were recorded from larvae of *Leonardsaxius amurensis* and *Boasaxius princeps*. The dominance of phytoplankton in the diet of zoea I larvae of *Nihonotrypaea makarovi* was indicated by the low $\delta^{15}\text{N}$ values close to the nitrogen isotope ratio of particulate organic matter. According to the nitrogen isotope composition, the larvae of three *Upogebia* species and two *Nihonotrypaea* species held an intermediate position (with $\delta^{15}\text{N}$ values ranging from 6.2 to 6.4‰). It was found that the diet of the studied burrowing shrimp larvae does not depend on the taxonomic position, and food preferences differ markedly even in zoeae of congener species, which should be taken into account when cultivating decapod larvae under laboratory conditions.

Keywords: zoea I, Gebiidea, Axiidea, stable isotopes, nitrogen, carbon, Sea of Japan

УДК 597.556.331.1(265.5)

НАХОДКА ТЕМНОГО МОРСКОГО ОКУНЯ *SEBASTES CILIATUS* (TILESIUS, 1813) (SEBASTIDAE) У КОМАНДОРСКОГО АРХИПЕЛАГА С ЗАМЕЧАНИЯМИ О ЕГО “ПОИМКАХ” В ПРИПОВЕРХНОСТНОМ СЛОЕ У СЕВЕРНЫХ КУРИЛЬСКИХ ОСТРОВОВ

© 2022 г. Ю. К. Курбанов¹, *, Р. Н. Новиков¹¹Камчатский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (КамчатНИРО), Петропавловск-Камчатский 683000, Россия

*e-mail: kurbanov.u.k@kamniro.ru

Поступила в редакцию 16.02.2022 г.

После доработки 08.04.2022 г.

Принята к публикации 02.06.2022 г.

Приведены сведения о поимках темного морского окуня *Sebastes ciliatus* в 5-мильной морской зоне северной части о-ва Беринга (Командорские острова). На основании анализа литературы представлены данные, подтверждающие ошибочность отнесения окуней, обнаруженных ранее в приповерхностном слое у северных Курильских островов, к группе *S. ciliatus* – *S. variabilis* и указывающие на принадлежность этих находок к виду *S. melanops*.

Ключевые слова: *Sebastes ciliatus*, *S. variabilis*, *S. melanops*, Sebastidae, уловы, тихоокеанские воды, северные Курильские острова, Командорские острова

DOI: 10.31857/S0134347522060092

В прикамчатских и прикомандорских водах обнаружено немного видов морских окуней рода *Sebastes*, среди которых многоиглый *S. polyspinis* и бурый¹ *S. variabilis* в указанных районах известны лишь по немногочисленным или единичным поимкам, а наибольшей численности они достигают у американских берегов. По этой причине данные виды причисляют к восточнотихоокеанским мигрантам (Орлов, 2000; Orlov, 2004; Токранов, Орлов, 2015).

Начиная с 1990-х гг., в северо-западной части Тихого океана увеличилась встречаемость рыб, ареалы которых тяготеют к американскому побережью (Орлов, 2000). Один из таких видов – так называемый *S. ciliatus*, в азиатских водах впервые обнаруженный у о-ва Хоккайдо (Shinohara et al., 1994), а затем у Командорского архипелага, с последующими находками у юго-восточной оконечности Камчатки и северных Курильских островов (Шейко, Транбенкова, 1998; Orlov, 2004). Однако существует мнение, что эти поимки относятся к *S. variabilis*, имеющему более обширный ареал (Orl, Blackburn, 2004; Парин и др., 2014).

¹ Русскоязычное название “темный морской окунь” используют как для *S. ciliatus*, так и для *S. variabilis* (Парин и др., 2014), поэтому в настоящей работе для последнего вида мы используем название “бурый морской окунь”, предложенное Б.А. Шейко и В.В. Фёдоровым (2000).

В дальнейшем его отмечали вдоль всего восточнокамчатского побережья и в западной части Берингова моря до мыса Наварин (Курбанов, 2020; Савельев, Савин, 2021). В то же время указывалось, что *S. ciliatus* обитает лишь в северо-восточной Пацифике от западных Алеутских островов и восточной части Берингова моря до прол. Джонстона у Британской Колумбии (Orl, Blackburn, 2004). Несмотря на то, что первые находки рыб, относящиеся к сборному таксону “*S. ciliatus*”, в российских водах Дальнего Востока отмечены у Командорских островов (Шейко, Транбенкова, 1998)², Парин с соавторами (2014) все же отнесли *S. ciliatus* к потенциально возможным обитателям дальневосточных вод.

В 2010 г. в прибрежной зоне о-ва Беринга обнаружено несколько экземпляров окуней, определенных как *S. ciliatus*³ (рис. 1), поимкам которых и посвящено настоящее сообщение.

² В ходе повторного анализа Б.А. Шейко (ЗИН РАН, г. Санкт-Петербург) пришел к заключению (личное сообщение), что экземпляр, пойманный в 1994 г. у о-ва Арий Камень (КИЭ 1170), относится к *S. ciliatus*, а две особи, отмеченные у о-ва Беринга в 1996 г. (КИЭ 1409), относятся к *S. variabilis*.

³ Видовая принадлежность подтверждена Б.А. Шейко (ЗИН РАН).



Рис. 1. Темный морской окунь *Sebastes ciliatus* из прибрежья о-ва Беринга (Командорские острова), *FL* 38.0 см

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом послужили результаты учебных обловов 5-мильной морской зоны в северной части о-ва Беринга Командорского архипелага в сентябре 2010 г. Обловы проводили с борта ПТР “Лещ” при помощи специализированных морских спиннингов с разными видами катушек, снаряженными обычной леской и плетеным шнуром повышенной прочности. В качестве наживы использовали размороженное мясо и кальмара, а также искусственные приманки. Выполнено 20 учебных постановок (по 3 спиннинга на каждой станции) на глубинах от 7 до 75 м. Температуру и соленость воды в районе исследований определяли с помощью STD-зонда SBE 19plus.

Для построения карты с местами поимок темного окуня использовали программу “ArcView 3.3”. В ходе биологического анализа у пойманных особей *S. ciliatus* определяли длину по Смитту (*FL*) от кончика рыла до конца средних лучей хвостового плавника, а также массу, пол и стадию зрелости.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе учебных обловов с тихоокеанской стороны о-ва Беринга пойманы 4 экз. *Sebastes ciliatus* (рис. 2). Частота встречаемости данного вида во время исследований была относительно низкой и составила 10%. Две особи *S. ciliatus* были обнаружены в точке с координатами 55°12' с.ш. и 165°49' в.д. на глубине 55 м при температуре воды у дна 2.7°C и солености 33.1‰. Пойманные экземпляры были самками (*FL* 38.5 и 39.0 см, масса тела 970 и 1100 г) с гонадами II–III и III стадий зрелости соответственно.

Две другие особи были пойманы в точке с координатами 55°17' с.ш. и 165°37' в.д. на глубине 47 м при температуре воды у дна 3.8°C и солености 33.0‰. Первая особь *S. ciliatus* была самкой (*FL* 38.0 см, масса тела 1024 г) с гонадами III стадии зрелости, второй экземпляр оказался неполовозрелым самцом (*FL* 16.0 см, масса 62 г). На данной станции в учебных уловах совместно с *S. ciliatus* на этой же глубине встречались белокопый палтус *Hippoglossus stenolepis* и двухлинейная



Рис. 2. Места поимок (★) *Sebastes ciliatus* у о-ва Беринга (Командорские острова) в 2010 г.

камбала *Lepidopsetta polyxustra*, доминирующая по численности среди отмеченных видов.

Пойманные в прибрежье о-ва Беринга особи *S. ciliatus*, к сожалению, не сохранились, и их морфометрию по объективным причинам не проводили. А так как *S. ciliatus* и *S. variabilis* морфологически очень близки, во избежание ошибочной идентификации рыб приведена сравнительная характеристика некоторых признаков и особенностей окраски особей *S. ciliatus* и с таковыми *S. variabilis*, обнаруженных первым автором настоящего сообщения у мыса Кроноцкий восточного побережья Камчатки в уловах донного трала.

Одним из отличительных признаков этих видов является степень развития симфизияльного бугорка на нижней челюсти (Orr, Blackburn, 2004). У *S. variabilis* он выражен достаточно хорошо, а у *S. ciliatus* развит слабо (рис. 3а). Характерными особенностями видов также являются окраска брюшной части тела (особенно над анальным плавником) и нижних лучей грудного плавника. У *S. variabilis* брюхо светлое, с ярким розоватым оттенком, поэтому хорошо видна четкая граница между таковым и темными боками тела. У *S. ciliatus* брюхо над анальным плавником однотонно серое (рис. 3б), оно светлее лишь над брюшными плавниками. Все лучи грудного плавника у этого вида темно-серые без каких-либо переходных оттенков, тогда как у *S. variabilis* книзу они светлые, серо-розовые (рис. 3в). Таким образом, пойманные в прибрежье о-ва Беринга особи относятся к *S. ciliatus*.

ОБСУЖДЕНИЕ

В северо-восточной части Тихого океана *Sebastes ciliatus* известен как представитель прибрежного ихтиоцена, обитающий в батиметрическом диапазоне от 5 до 160 м (Orr, Blackburn, 2004; von Szalay et al., 2011, 2017). Наибольшей числен-

ности вид достигает в районе западных и центральных Алеутских островов на глубинах менее 100 м с каменистым и скалистым грунтами и зарослями водорослей. Подобная геоморфология характерна для тихоокеанского побережья о-ва Беринга (Чуян и др., 2004). Следовательно, места наших находок у Командорского архипелага вполне согласуются с предпочитаемым этим видом экотопом. О температурных условиях обитания *S. ciliatus* в других частях его ареала судить довольно сложно, так как более ранние сведения (Снытко, Федоров, 1974; Снытко, 1986) могут относиться и к *S. variabilis*.

Полтев и Шубин (2013) сообщили о поимках *S. ciliatus* в приповерхностном (0–10 м) слое тихоокеанских вод к востоку от северных Курильских островов, но, основываясь на длине тела пойманных рыб, высказали предположение, что данные особи могут относиться как к *S. ciliatus*, так и к *S. variabilis*. В это же время у северо-восточного побережья о-ва Хонсю (Япония) были обнаружены 2 экз. черного окуня *S. melanops* (Kai et al., 2013), ранее не встречавшегося в северо-западной части Тихого океана; вид считался обитателем исключительно американского побережья от южной Калифорнии до центральных Алеутских островов, включая юго-восточную часть Берингова моря (Kramer, O’Connell, 1995; Mecklenburg et al., 2002). Kai с соавторами (Kai et al., 2013) при переписании *S. melanops* проанализировали фотографии рыб, представленные в работе Полтева и Шубина (2013), и предположили, что данные особи относятся к *S. melanops*. На этом основании они включили, помимо японского побережья, район тихоокеанских вод северных Курильских островов в состав уже известного ареала обитания *S. melanops*.

С мнением упомянутых исследователей можно согласиться, однако с некоторыми дополнениями. Во-первых, необходимо учесть особенности экологии *S. ciliatus*, *S. variabilis* и *S. melanops*. Взрослые особи *S. ciliatus* – обитатели прибрежных вод, встречаются на скалистых и каменистых участках дна, а также среди водной растительности. Вид *S. variabilis* стенобионтен к таким компонентам среды обитания, как рельеф дна и течения, предпочитает участки с расчлененным ландшафтом и активной динамикой вод и населяет преимущественно нижнюю часть шельфа с прилегающими районами материкового склона, концентрируясь на глубинах 100–300 м (Orr, Blackburn, 2004). Наиболее близкий к *S. ciliatus* по экологической характеристике *S. melanops* приурочен к диапазону 8–55 м и встречается на глубинах до 366 м (Барсуков, 1981; Снытко, 2001). Однако у этого вида имеется особенность, не характерная для *S. ciliatus* и *S. variabilis*: взрослые рыбы могут мигрировать в пелагиаль на значительные расстояния от побережий, где встречаются над океаниче-

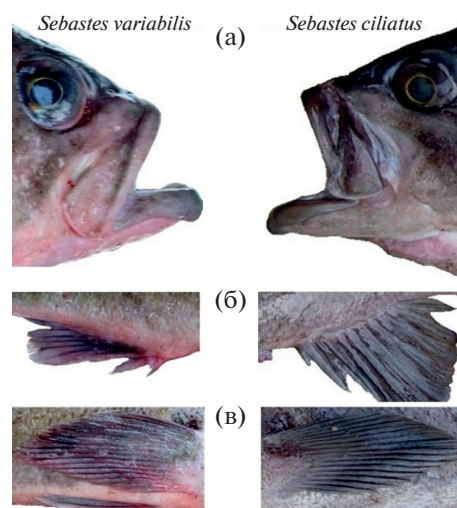


Рис. 3. Основные отличительные признаки бурого *Sebastes variabilis* и темного *S. ciliatus* морских окуней: а – симфизальный бугорок на нижней челюсти; б – окраска брюха над анальным плавником; в – лучи грудного плавника.

скими глубинами. Известны случаи поимок *S. melanops* в 445 км к югу от п-ва Аляска над глубиной 4938 м (Dunn, Hitz, 1969). Подчеркнем, что находки так называемого *S. ciliatus* (см.: Полтев, Шубин, 2013) тоже были сделаны на значительном расстоянии от северных островов Курильской гряды.

Во-вторых, максимально известная длина тела *S. melanops* составляет 65 см (Mecklenburg et al., 2002). Все обнаруженные у северных Курильских островов 11 экз. окуней характеризовались довольно крупными размерами – от 42 до 58.5 см (Полтев, Шубин, 2013). По данным Орра и Блэкберна (Orr, Blackburn, 2004), максимальная длина *S. ciliatus* и *S. variabilis* не превышает 47 и 59 см соответственно. Однако размер *S. variabilis* из прикамчатских вод составляет не более 50 см (Курбанов, 2020).

В-третьих, существуют различия в характере питания сравниваемых окуней. У группы видов *S. ciliatus* – *S. variabilis* основой питания являются копеподы, мизиды, эвфаузииды и другие мелкие ракообразные, а в рацион *S. melanops*, помимо упомянутого зоопланктона, входят сцифоидные медузы, креветки и рыба (Снытко, 2001). Заметим, что по сведениям Полтева и Шубина (2013) в желудках пойманных окуней были обнаружены молодь северного одноперого терпуга *Pleurogrammus monopterygius* и неустановленные мезопелагические рыбы.

Все перечисленные факты подтверждают мнение (Kai et al., 2013) об ошибочном отнесении окуней, ранее обнаруженных в приповерхностном слое к востоку от северных Курильских ост-

ровов, к группе *S. ciliatus* — *S. variabilis* и указывают на принадлежность этих находок к *S. melanops*.

Таким образом, кроме уже известных видов, к восточнотихоокеанским мигрантам дальневосточных вод можно отнести *S. ciliatus*, который в настоящее время обнаружен только у Командорского архипелага, и *S. melanops* из тихоокеанских вод Северных Курил. Однако вопрос, являются ли они постоянными обитателями данных районов, остается открытым.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю признательность Б.А. Шейко (ЗИН РАН, г. Санкт-Петербург) за консультации о видовой принадлежности окуней, пойманных у Командорского архипелага в 1994 и 1996 гг., а также за ценные замечания и рекомендации, сделанные при прочтении рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барсуков В.В. Краткий обзор системы подсемейства морских окуней (Sebastinae) // Вопр. ихтиологии. 1981. Т. 21. № 1. С. 3–27.
- Курбанов Ю.К. Новые находки бурого морского окуня *Sebastes variabilis* (Sebastidae) у восточного побережья Камчатки // Изв. ТИНРО. 2020. Т. 200. № 4. С. 895–906.
- Орлов А.М. Представители орегонской ихтиофауны у азиатских берегов // Промыслово-биологические исследования рыб в тихоокеанских водах Курильских островов и прилежащих районах Охотского и Берингова морей в 1992–1998 гг. М.: ВНИРО. 2000. С. 187–214.
- Парин Н.В., Евсеенко С.А., Васильева Е.Д. Рыбы морей России: аннотированный каталог. М.: Товарищество науч. изд. КМК. 2014. 733 с.
- Полтев Ю.Н., Шубин А.О. О поимках темного морского окуня *Sebastes ciliatus* (Scorpaenoidei: Sebastidae) к востоку от северных Курильских островов // Вопр. ихтиологии. 2013. Т. 53. № 2. С. 237–240.
- Савельев П.А., Савин А.Б. Находки темного морского окуня *Sebastes variabilis* (Sebastidae) и золотистого петушка *Alectridium aurantiacum* (Stichaeidae) в западной части Берингова моря // Вопр. ихтиологии. 2021. Т. 61. № 2. С. 239–243.
- Снытко В.А. Новые места поимок морских окуней подсемейства Sebastinae в северной части Тихого океана // Вопр. ихтиологии. 1986. Т. 26. № 3. С. 381–387.
- Снытко В.А. Морские окуни северной части Тихого океана. Владивосток: ТИНРО-центр. 2001. 468 с.
- Снытко В.А., Федоров В.В. Новые данные о распространении морских окуней подсемейства Sebastinae и заметки о их биологии // Вопр. ихтиологии. 1974. Т. 14. № 6. С. 939–947.
- Токранов А.М., Орлов А.М. Теплолюбивые и восточнотихоокеанские мигранты в ихтиофауне тихоокеанских вод северных Курильских островов и Камчатки в XX–XXI веках // Рос. журн. биол. инвазий. 2015. № 3. С. 50–70.
- Чуян Г.Н., Разжигаева Н.Г., Быкасов В.Е. Геоморфология прибрежной зоны острова Беринга // Тр. КФ ТИГ ДВО РАН. 2004. Вып. V. С. 421–426.
- Шейко Б.А., Транбенкова А.Г. Новые для фауны России и редкие виды рыб, впервые найденные в водах Камчатки, Курильских и Командорских островов // Современные проблемы систематики рыб: Тез. докл. Всерос. конф., посвящ. 95-летию со дня рождения чл.-кор. АН СССР, проф. А.Н. Световидова и 90-летию со дня рождения проф. Д.Н. Талиева. СПб.: ЗИН РАН. 1998. С. 62–63.
- Шейко Б.А., Федоров В.В. Глава 1. Рыбообразные и рыбы // Каталог позвоночных Камчатки и сопредельных морских акваторий. Петропавловск-Камчатский: Камчат. печат. двор. 2000. С. 7–69.
- Dunn J.R., Hitz C.R. Oceanic occurrence of black rockfish (*Sebastes melanops*) in the Central North Pacific // J. Fish. Res. Board Can. 1969. V. 26. № 11. P. 3094–3097.
- Kai Y., Muto N., Noda T. et al. First record of the rockfish *Sebastes melanops* from the Western North Pacific, with comments on its synonymy (Osteichthyes: Scorpaenoidei: Sebastidae) // Species Diversity. 2013. № 18. P. 175–182.
- Kramer D.E., O'Connell V.M. Guide to Northeast Pacific rockfishes: Genera *Sebastes* and *Sebastolobus* // Mar. Advis. Bull. № 25. Alaska Sea Grant. Univ. of Alaska Fairbanks. 1995. 78 p.
- Mecklenburg C.W., Mecklenburg T.A., Thorsteinson L.K. Fishes of Alaska. Bethesda, Maryland: Amer. Fish. Soc. 2002. 1037 p.
- Orlov A.M. Migrations of various fish species between Asian and American waters in the North Pacific Ocean // J. Ichthyol. Aquat. Biol. 2004. V. 8. № 3. P. 109–124.
- Orr J.W., Blackburn J.E. The dusky rockfishes (Teleostei: Scorpaeniformes) of the North Pacific Ocean: resurrection of *Sebastes variabilis* (Pallas, 1814) and a redescription of *Sebastes ciliatus* (Tilesius, 1813) // Fish. Bull. 2004. V. 102. № 2. P. 328–348.
- Shinohara G., Yabe M., Honma T. Occurrence of the scorpaenid fish, *Sebastes ciliatus*, from the Pacific coast of Hokkaido, Japan // Bull. Biogeogr. Soc. Jpn. 1994. V. 49. № 1. P. 61–64.
- von Szalay P.G., Rooper C.N., Raring N.W., Martin M.H. Data report: 2010 Aleutian Islands bottom trawl survey. U.S. Dep. Commer. NOAA Tech. Memo. NMFS-AFSC-215. 2011. 153 p.
- von Szalay P.G., Raring N.W., Rooper C.N., Laman E.A. Data report: 2016 Aleutian Islands bottom trawl survey. U.S. Dep. Commer. NOAA Tech. Memo. NMFS-AFSC-349. 2017. 161 p.

The Finding of the Dark Dusky Rockfish *Sebastes ciliatus* (Tilesius, 1813) (Sebastidae) in the Commander Archipelago with Notes on Its “Captures” in Near-Surface Waters of the Northern Kuril Islands

Yu. K. Kurbanov^a and R. N. Novikov^a

^a*Kamchatka Branch of the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (KamchatNIRO), Petropavlovsk-Kamchatski 683000, Russia*

We present data on captures of the dark dusky rockfish *Sebastes ciliatus* in a 5-mile sea zone off the northern part of Bering Island (Commander Islands). Based on analysis of the literature, evidence is provided indicating that the assignment of rockfish earlier found in the near-surface waters off the northern Kuril Islands to the *S. ciliatus*–*S. variabilis* group was erroneous and that the findings belong to the species *S. melanops*.

Keywords: *Sebastes ciliatus*, *S. variabilis*, *S. melanops*, Sebastidae, catches, Pacific waters, northern Kuril Islands, Commander Islands

УДК 582.263:57.084.1

ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧИСЛЕННОСТИ КЛЕТОК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ РОДА *TETRASELMIS* (CHLOROPHYTA): КАЛИБРОВОЧНЫЕ КРИВЫЕ И УРАВНЕНИЯ ДЛЯ ПОДСЧЕТА

© 2022 г. Ж. В. Маркина¹, *, С. И. Масленников¹, Л. А. Боцун¹¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского, (ННЦМБ) ДВО РАН,
Владивосток 690041, Россия

*e-mail: zhannav@mail.ru

Поступила в редакцию 05.05.2022 г.

После доработки 14.06.2022 г.

Принята к публикации 06.10.2022 г.

Получены уравнения регрессии для учета с помощью спектрофотометрического метода численности клеток четырех видов микроводорослей рода *Tetraselmis* (Chlorophyta), широко применяемых в биотехнологии. Коэффициенты корреляции между численностью и оптической плотностью составили 0.856, 0.941, 0.787 и 0.916 для *Tetraselmis viridis*, *T. striata*, *T. maculata* и *Tetraselmis* sp. соответственно, что свидетельствует о точности этого метода при его использовании для определения численности клеток.

Ключевые слова: аквакультура, микроводоросли, *Tetraselmis*, спектрофотометрический метод

DOI: 10.31857/S0134347522060109

Зеленые одноклеточные водоросли рода *Tetraselmis* культивируют в промышленных масштабах (Pereira et al., 2018; Lee et al., 2021). Их выращивают для использования в качестве корма в аквакультуре морских беспозвоночных (Sivakumar et al., 2011; Hamed, 2016; Sharawy et al., 2020) и мальков рыб (Tulli et al., 2012), а также для производства биотоплива (Sarpal et al., 2019; Lee et al., 2021) и получения каротиноидов (Sansone et al., 2017; Sarpal et al., 2019), белков (Barka, Blecker, 2016; Teuling et al., 2017) и полиненасыщенных жирных кислот (Mohammadi et al., 2015). Преимущество данных видов перед большинством других видов микроводорослей заключается в высокой экологической пластичности по температурному и соленостному режимам (Mohammadi et al., 2015).

В условиях экспериментальных и промышленных технологических циклов необходим метод быстрого подсчета численности клеток микроводорослей. Классический метод подсчета клеток под микроскопом в счетных камерах (Нажотта, Горяева, Седвика–Рафтера и др.) занимает много времени (Franklin et al., 2001; Günerken et al., 2017). Многие другие методы быстрой оценки численности микроводорослей обладают рядом недостатков. Например, при использовании метода, основанного на определении сухого веса клеток, он может заметно различаться в зависимости от количества накопленных веществ, к тому же при анализе в пробу попадают

соли из морской воды, что искажает результаты измерений (Günerken et al., 2017). Другой быстрый способ оценить рост популяции – измерение флуоресценции хлорофилла *a* с помощью флуориметров, однако эти данные плохо коррелируют с численностью клеток, что было показано на зеленых водорослях и цианобактериях при высоких концентрациях клеток (Eleršek, 2012; Bertone et al., 2019). В настоящее время самым точным и быстрым методом для решения биотехнологических задач является проточная цитометрия. Этот метод позволяет верно определить численность клеток даже при их небольшом количестве в пробе. Существенными ограничениями метода являются дороговизна самого прибора и его обслуживания, а также проблема качественной подготовки оператора (Нука et al., 2013; Маркина, 2019). Не менее активно используется метод спектрофотометрического определения оптической плотности микроводорослей с последующим пересчетом на численность клеток. В отличие от прямого подсчета клеток под микроскопом и проточной цитометрии, это косвенный метод, однако он получил широкое распространение благодаря экономичности и скорости применения. К тому же спектрофотометры занимают мало места и приемлемы для работы в полевых условиях (Chirivella-Martorell et al., 2018; Havlik et al., 2022). Ограничением этого метода является необходимость создания калибровочных кривых и уравнения регрессии для расчета численности клеток по оптиче-

Таблица 1. Коэффициенты уравнения регрессии $y = ax + b$ и коэффициент корреляции R^2 для микроводорослей рода *Tetraselmis*

Вид	<i>a</i>	<i>b</i>	R^2
<i>Tetraselmis viridis</i>	0.002	0.053	0.856
<i>Tetraselmis striata</i>	0.004	0.042	0.941
<i>Tetraselmis maculata</i>	0.002	0.091	0.787
<i>Tetraselmis</i> sp.	0.003	0.023	0.916

ской плотности для каждого подсчитываемого вида микроводорослей.

В связи с вышеизложенным цель настоящей работы заключалась в построении калибровочных кривых, а также в получении уравнения регрессии на основе оценки данных по численности клеток и оптической плотности культур одноклеточных водорослей *Tetraselmis viridis*, *T. maculata*, *T. striata* и *Tetraselmis* sp.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектами исследования служили культуры одноклеточных водорослей *Tetraselmis viridis* MBRU_PV85, *T. maculata* MBRU_TM93, *T. striata* MBRU_P86 и *Tetraselmis* sp. (Chlorophyta). Водоросли выращивали на среде *f* (Guillard, Ryther, 1962), приготовленной на основе фильтрованной и стерилизованной морской воды соленостью 32‰ в 250-миллиметровых колбах Эрленмейера с объемом культуральной среды 200 мл, при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$, интенсивности освещения 2500 лк в области видимого света и свето-темновым периодом 12 ч свет : 12 ч темнота. В качестве инокулята использовали культуры на экспоненциальной стадии роста.

Таблица 2. Сравнение данных по численности и оптической плотности микроводоросли *Tetraselmis viridis*, определенных в кювете и 96-луночном планшете

Данные цитометра по численности, кл/мл	Оптическая плотность	
	в кювете	в планшете
464330	0.079	0.097
613487	0.137	0.092
500067	0.099	0.093
777200	0.119	0.095
381227	0.062	0.052
356153	0.061	0.054
310557	0.049	0.036
331140	0.057	0.052
169007	0.032	0.027
261057	0.035	0.035
441363	0.088	0.077
480253	0.081	0.076
498760	0.105	0.098
465923	0.091	0.089

Продолжительность экспериментов составляла 28 сут. Пробы для подсчета клеток и определения оптической плотности отбирали на 0, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 21, 23, 25 и 28-е сут опыта.

Численность клеток подсчитывали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Для анализа в течение каждого измерения записали 20 000 событий (регистрируемых в пробе частиц). Выбор клеток водорослей из общего числа событий, регистрируемых цитометром, проводили по флуоресценции хлорофилла *a*. Интенсивность флуоресценции хлорофилла *a* регистрировали на длине волны 690 нм, длина волны возбуждения составляла 488 нм (Нука et al., 2013), для проточного цитометра CytoFLEX канал регистрации данных – PC 5.5. Погрешность измерений 5%.

Оптическую плотность на длине волны 750 нм (OD_{750}) определяли с помощью спектрофотометра ПЭ-5400ВИ (Экрос, Россия) в стеклянных кюветах с оптическим путем 10 мм для всех исследованных видов. Оптическую плотность *T. viridis* определяли также с помощью мультимодального планшетного ридера Spark 10 TM (Tecan, Швейцария) в стеклянной кювете с оптическим путем 10 мм и в 96-луночном пластиковом планшете. Погрешность измерений для оптической плотности составляла 0.5%. Известно, что длина волны 750 нм применялась для определения оптической плотности разных представителей одноклеточных водорослей (Detweiler et al., 2015; Hirooka et al., 2020; Hotos et al., 2020; Gao et al., 2021; Plöhn et al., 2021; Yoshitomi et al., 2021). Данная длина волны позволяет избежать поглощения света фотосинтетическими пигментами, которые могут влиять на этот показатель, и дает возможность измерить оптическую плотность самих клеток (Griffiths et al., 2011; Chioccioli et al., 2014; Hotos et al., 2020).

Эксперименты проведены в трех биологических повторностях. Статистическую обработку выполняли с помощью программы Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Численность клеток определяли на разных фазах роста культур: лаг-фазе, экспоненциальной и стационарной. Максимальная концентрация клеток составляли 3949×10^3 кл/мл для *T. viridis*, 2539×10^3 кл/мл для *T. striata*, 4038×10^3 кл/мл для *T. maculata* и 4038×10^3 кл/мл для *Tetraselmis* sp. Графики для построения уравнения регрессии $y = ax + b$ представлены в уравнении $y = ax + b$, где y – численность клеток $\times 10^3$ /мл; a и b – коэффициенты, указанные в табл. 1; x – оптическая плотность, измеренная на длине волны 750 нм. Полученные для разных видов коэффициенты корреляции варьировали от 0.787 до 0.941 (табл. 1).

Сравнение данных оптической плотности культуры *T. viridis*, полученных в стеклянной кювете и 96-луночном пластиковом планшете, пока-

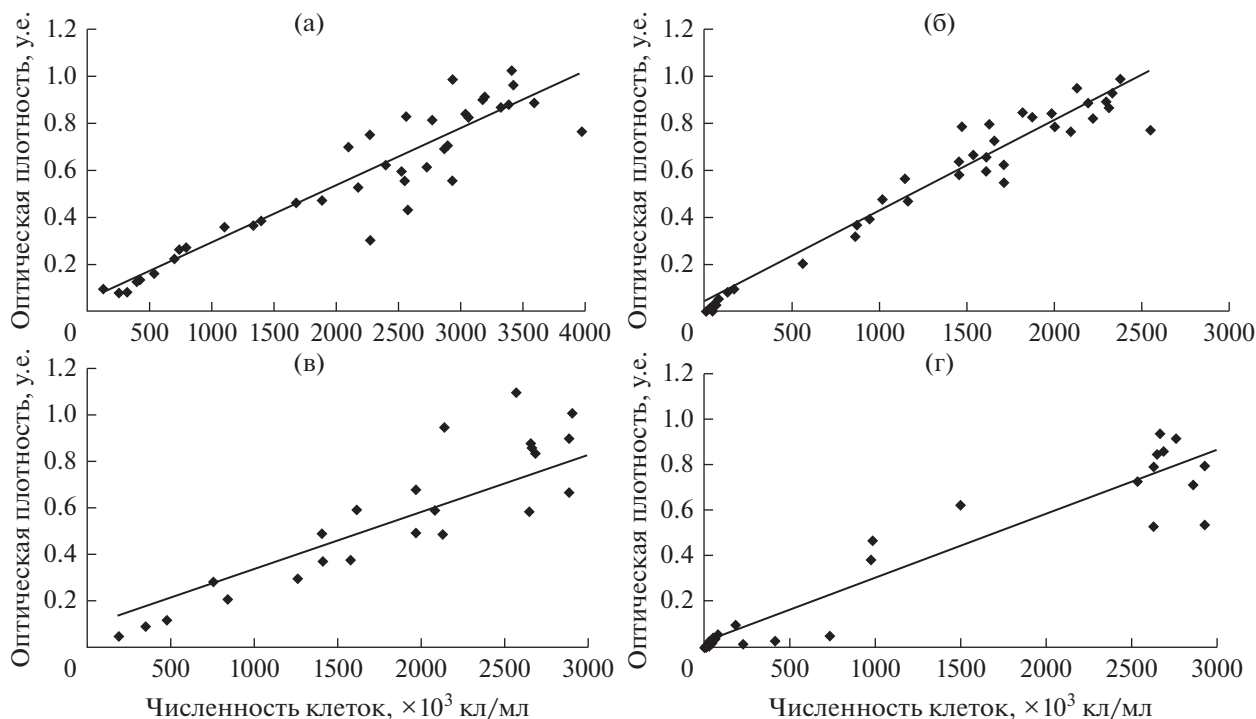


Рис. 1. Связь оптической плотности и численности клеток микроводорослей рода *Tetraselmis*: а – *Tetraselmis viridis*, б – *Tetraselmis striata*, в – *Tetraselmis maculata*, г – *Tetraselmis* sp.

зало, что значения оптической плотности, полученные разными способами, совпадали практически во всех случаях (табл. 2). Поэтому для сокращения трудозатрат можно использовать 96-луночный пластиковый планшет.

Таким образом, нами получены калибровочные зависимости, позволяющие с помощью спектрофотометра быстро, просто и точно определять численность клеток четырех видов микроводорослей рода *Tetraselmis*, имеющих большое значение в аквакультуре. Высокие коэффициенты корреляции подтверждают точность данного метода.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-30004).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Нине Александровне Айздайчер за поддержание культур, использованных в работе. Культуры микроводорослей *Tetraselmis viridis* MBRU_PV85, *T. striata* MBRU_P86 и *T. maculata* MBRU_TM93, а также возможность работы на мультимодальном планшетном ридере Spark 10 TM предоставлены ресурсным центром “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН (<http://marbank.dvo.ru>).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Маркина Ж.В. Проточная цитометрия как метод исследования морских одноклеточных водорослей: развитие, проблемы, перспективы // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 5. С. 291–298.
- Barka A., Blecker C. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review // Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2016. V. 20. № 30. P. 427–436.
- Bertone E., Chuang A., Burford M.A., Hamilton D.P. In-situ fluorescence monitoring of cyanobacteria: Laboratory-based quantification of species-specific measurement accuracy // Harmful Algae. 2019. V. 87. Art. 101625.
- Chioccioli M., Hankamer B., Ross J.L. Flow cytometry pulse width data enables rapid and sensitive estimation of biomass dry weight in the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella vulgaris* // PLoS One. 2014. V. 9. Art. e97269.
- Chirivella-Martorell J., Briz-Redón Á., Serrano-Aroca Á. Modelling of biomass concentration, multi-wavelength absorption and discrimination method for seven important marine microalgae species // Energies. 2018. V. 11. № 5. 1089.

- Detweiler A.M., Mioni C.E., Hellier K.L. Evaluation of wavelength selective photovoltaic panels on microalgae growth and photosynthetic efficiency // *Algal Res.* 2015. V. 9. P. 170–177.
- Eleršek T. The advantages of flow cytometry in comparison to fluorometric measurement in algal toxicity test // *Acta Biol. Slov.* 2012. V. 55. № 2. P. 3–11.
- Franklin N.M., Stauber J.L., Lim R.P. Development of flow cytometry-based algal bioassays for assessing toxicity of copper in natural waters // *Environ. Toxicol. Chem.* 2001. V. 20. P. 160–170.
- Gao F., Sá M., Teles I. et al. Production and monitoring of biomass and fucoxanthin with brown microalgae under outdoor conditions // *Biotechnol. Bioeng.* 2021. V. 118. № 3. P. 1355–1365.
- Griffiths M.J., Garcin C., van Hille R.P., Harrison S.T. Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density // *J. Microbiol. Methods.* 2011. V. 85. № 2. P. 119–123.
- Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. // *Can. J. Microbiol.* 1962. V. 8. P. 229–239.
- Günerken E., Hondt E.D., Eppink M. et al. Flow cytometry to estimate the cell disruption yield and biomass release of *Chlorella* sp. during bead milling // *Algal Res.* 2017. V. 25. P. 25–31.
- Hamed I. The evolution and versatility of microalgal biotechnology: a review // *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2016. V. 15. P. 1104–1123.
- Havlik I., Beutel S., Scheper T., Reardon K.F. On-line monitoring of biological parameters in microalgal bioprocesses using optical methods // *Energies.* 2022. V. 15. № 3. P. 875.
- Hirooka S., Tomita R., Fujiwara T. et al. Efficient open cultivation of cyanidiales red algae in acidified seawater // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 1–12.
- Hotos G.N., Avramidou D., Bekiari V. Calibration curves of culture density assessed by spectrophotometer for three microalgae (*Nephroselmis* sp., *Amphidinium carterae* and *Phormidium* sp.) // *Eur. J. Biol. Biotechnol.* 2020. V. 1. № 6. P. 1–7.
- Hyka P., Liskova S., Přebyl P. et al. Flow cytometry for development of biotechnological processes with microalgae // *Biotechnol. Adv.* 2013. V. 31. P. 2–16.
- Lee W.-K., Ryu Y.-K., Choi W.-Y. et al. Year-round cultivation of *Tetraselmis* sp. for essential lipid production in a semi-open raceway system // *Mar. Drugs.* 2021. V. 19. № 6. P. 314.
<https://doi.org/10.3390/md19060314>
- Mohammadi M., Kazeroni N., Baboli M.J. Fatty acid composition of the marine micro alga *Tetraselmis chuii* Butcher in response to culture conditions // *J. Algal Biomass Utiln.* 2015. V. 6. P. 49–55.
- Pereira H., Páramo J., Silva J. et al. Scale-up and large-scale production of *Tetraselmis* sp. CTP4 (Chlorophyta) for CO₂ mitigation: From an agar plate to 100-m³ industrial photobioreactors // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. P. 1–11.
- Plöhn M., Escudero-Onate C., Funk C. Biosorption of Cd (II) by nordic microalgae: tolerance, kinetics and equilibrium studies // *Algal Res.* 2021. V. 59. 102471.
- Sansone C., Galasso C., Orefice I. The green microalga *Tetraselmis suecica* reduces oxidative stress and induces repairing mechanisms in human cells // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 1–12.
- Sarpal A.S., Teixeira C.M.L.L., Costa C.R.I. et al. Evaluation of low cost medium for the production of lipids for biodiesel and carotenoids from microalgae *Tetraselmis aff chuii* // *World J. Aquat. Res. Dev.* 2019. V. 1. № 1. P. 27–35.
- Sivakumar N., Sundararaman M., Selvakumar G. Efficacy of micro algae and cyanobacteria as a live feed for juveniles of shrimp *Penaeus monodon* // *Afr. J. Biotechnol.* 2011. V. 10. P. 11594–11599.
- Sharawy Z.Z., Ashour M., Abbas E. et al. Effects of dietary marine microalgae, *Tetraselmis suecica*, on production, gene expression, protein markers and bacterial count of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* // *Aquacult. Res.* 2020. V. 51. № 6. P. 2216–2228.
- Teuling E., Wierenga P.A., Schrama J.W., Gruppen H. Comparison of protein extracts from various unicellular green sources // *J. Agric. Food Chem.* 2017. V. 65. P. 7989–8002.
- Tulli F., Chini Zittelli G., Giorgi G. et al. Effect of the inclusion of dried *Tetraselmis suecica* on growth, feed utilization, and fillet composition of European sea bass juveniles fed organic diets // *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 2012. V. 21. P. 188–197.
- Yoshitomi T., Karita H., Mori-Moriyama N. et al. Reduced cytotoxicity of polyethyleneimine by covalent modification of antioxidant and its application to microalgal transformation // *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2021. V. 22. № 1. P. 864–874.

Application of the Spectrophotometric Method for Determination of the Cell Numbers of Microalgae in the Genus *Tetraselmis* (Chlorophyta): Calibration Curves and Equations for Calculation

Zh. V. Markina^a, S. I. Maslennikov^a, and L. A. Botsun^a

^aZhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia

The spectrophotometric method is used to count the number of microalgal cells. Regression equations were obtained for four species of the genus *Tetraselmis* (Chlorophyta), that are widely used in biotechnology. The correlation coefficients between cell number and optical density were 0.856, 0.941, 0.787, and 0.916 for *Tetraselmis viridis*, *T. striata*, *T. maculata*, and *Tetraselmis* sp. respectively, which demonstrates the precision of this method for cell counting.

Keywords: aquaculture, microalgae, *Tetraselmis*, spectrophotometric method

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЖУРНАЛА “БИОЛОГИЯ МОРЯ”

DOI: 10.31857/S0134347522300015

Журнал “Биология моря” печатает статьи по фундаментальным и прикладным проблемам морской биологии. В журнале публикуются обзоры, оригинальные исследования, краткие сообщения, а также хроника и материалы по истории морской биологии. Предпочтение отдается статьям, имеющим общебиологическое значение. По получении рукописи редакция в 14-дневный срок извещает автора по электронной почте о принятии работы к рассмотрению или отклонении. Все поступившие рукописи проходят проверку в системе “Антиплагиат”. К рассмотрению принимаются только статьи, уровень оригинальности которых выше 80%.

Рукописи, принятые к рассмотрению, проходят двойное независимое рецензирование. Решение о публикации или отклонении принимают члены редакционной коллегии. Редакция вправе не вступать в переписку с автором относительно причин отказа в публикации. Очередность публикации статей определяется их научной значимостью. Право на внеочередную публикацию распространяется на статьи аспирантов (на основании письма, заверенного ученым секретарем учреждения). ПДФ файлы высокого разрешения предоставляются авторам по запросу.

Редакция принимает рукописи на русском и английском языках (последнее – от иностранных авторов). Статьи, переведенные на английский язык, и оригинальные статьи иностранных авторов публикуются в англоязычной версии журнала (“Russian Journal of Marine Biology”) по отдельным правилам (см.: <http://pleiades.online/en/authors/guidlines/prepare-electronic-version/text/>).

Во избежание таксономической путаницы рукопись, содержащая описание новых для науки таксонов, публикуется один раз: либо в русскоязычной версии журнала (если статья написана на русском языке), либо в англоязычной версии (если статья написана на английском языке). В первом случае диагноз таксона необходимо привести и на английском языке. Описание новых для науки таксонов должно быть оформлено в соответствии с правилами международных кодексов зоологической (МКЗН) или ботанической (МКБН) номенклатуры.

Текст рукописи следует набирать через 1.5 интервала, размер шрифта – 14. Объем обзора не должен превышать 30 страниц формата А4, статьи – 18, краткого сообщения – 9, прочих материалов (рецензия, хроника и т.д.) – 5 страниц, включая список литературы и таблицы. После переработки рукописи ее объем не должен превышать установленного. Строки и страницы необходимо про-

нумеровать. Статью на электронном носителе можно принести в редакцию или прислать электронной почтой (biolm@imb.dvo.ru), либо направить через Редакционно-Издательскую Систему издателя (<https://sciencejournals.ru/journal/biomor/>).

Вместе с рукописью авторы обязаны предоставить в редакцию в электронном виде “Договор о передаче авторского права” для компании “Pleiades Publishing” и “Лицензионный договор о предоставлении права использования статьи в научном журнале на русском языке, учредителем (соучредителем) которого является РАН”. Договоры должны подписать все авторы статьи. Тексты договоров можно взять в редакции, на сайте журнала www.bm.dvo.ru в разделе “Правила для авторов” или на сайте Pleiades Publishing <https://www.pleiades.online/ru/authors/guidlines/>. Договоры вступают в силу с момента утверждения статьи к печати.

Редколлегия журнала предлагает авторам назвать 3–5 возможных рецензентов своей рукописи (фамилия, имя, отчество, ученая степень, место работы, электронный адрес). Рецензенты не должны работать в одном учреждении с авторами рукописи.

Рукопись, направленная автору на доработку или переработку, должна быть возвращена в редакцию в исправленном виде в течение двух месяцев. По истечении этого срока она будет снята с учета как не возвращенная в срок. К доработанной (переработанной) рукописи необходимо приложить письмо автора с описанием исправлений и с подробными ответами на все замечания рецензентов. После утверждения статьи к печати автор не может вносить существенных изменений и добавлений.

Рукопись оригинальной статьи должна содержать следующие структурные элементы (для кратких сообщений разделение необязательно):

1. Название статьи. инициалы и фамилии авторов с указанием ORCID-кодов, название научного учреждения с указанием города и почтового индекса, адресов электронной почты с отметкой адреса для переписки. Принадлежность авторов к разным учреждениям следует обозначить цифрами. Над названием статьи слева – рубрикация статьи по УДК.

При написании латинского названия вида в названии статьи следует указать автора и год опубликования (в тексте статьи эти сведения можно привести только при первом упоминании таксона). Фамилию автора таксона необходимо писать полностью, без сокращений. Если перед латинским названием объекта исследования не

указывается его принадлежность к таксону более высокого ранга (например, "... форонида *Phoronopsis harmeri*"), то после латинского названия вида или рода в скобках следует указать названия более высоких таксонов, к которым относится объект исследования и ранг которых определяет автор. Это могут быть либо тип и класс (например, Tardigrada: Heterotardigrada), либо класс и отряд (Polychaeta: Phyllodocida), либо отряд и семейство (Decapoda: Lithodidae).

2. Краткая аннотация (не более 1/2 страницы) и ключевые слова (4–7 слов или словосочетаний на основном языке статьи).

3. Введение (не более двух страниц) должно содержать историю вопроса (желательно ограничиться краткой характеристикой его современного состояния), цели, задачи исследования и его актуальность.

4. Материал и методика. Оригинальные или малоизвестные методы необходимо подробно описать. При использовании стандартных методик достаточно дать ссылки. В таксономических и флоро-фаунистических статьях необходимо указать место хранения изученного материала.

5. Результаты. Приводить результаты, полученные в процессе исследования.

6. Обсуждение результатов следует отделять от "результатов".

7. Благодарности. Приводятся сведения о лицах, способствовавших проведению работы. Данный раздел не включает информацию об источниках финансирования.

8. Конфликт интересов. Конфликт интересов — это любые отношения или сферы интересов, которые могли бы прямо или косвенно повлиять на вашу работу или сделать ее предвзятой. В этом разделе авторы заявляют о наличии или отсутствии у них конфликта интересов в финансовой или в какой-либо иной сфере. Если конфликта интересов нет, следует указать: "*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов*". Если конфликт интересов есть, следует указать, например: "*Автор Х.Х.Х. владеет акциями Компании Y, которая упомянута в статье. Автор Y.Y.Y. — член комитета XXXX*".

9. Соблюдение этических норм. Необходимо указать информацию о соблюдении стандартов работы с животными или людьми. Если в работе не использовались животные и люди в качестве объектов исследования, следует написать: "*Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов*".

10. Финансирование. Если работа выполнена при поддержке какой-либо организации, в разделе "Финансирование" следует указать, каким фондом и грантом поддержано данное исследование и каждая часть работы в отдельности, если источники финансирования разные.

11. Список литературы должен быть составлен в алфавитном порядке — сначала на кириллице, затем на латинице. Библиографическое описание работ, опубликованных на японском, китайском

и других восточных языках, необходимо приводить в английском переводе с указанием языка оригинала. Работы одного автора располагаются в хронологическом порядке, при наличии пяти и более авторов приводятся фамилии первых трех с последующим указанием "и др." или "et al.". Для книг: после фамилии и инициалов автора необходимо указать название книги, место издания, издательство, год издания и количество страниц. Для статей: после фамилии и инициалов автора указать название статьи, через две косые линии — название журнала или сборника (место издания и издательство приводятся только при ссылке на составную часть книги), год издания, том, номер или выпуск, страницы. Рукописи со списком литературы, оформленным не по правилам журнала, к рассмотрению не принимаются.

Примеры:

Виноградов М.Е. Вертикальное распределение океанического зоопланктона. М.: Наука. 1968. 320 с.

Гуреева М.А., Иванов А.В. О формировании ценомической мезодермы у эмбрионов *Oligobrachia mashikoi* (Pogonophora) // Зоол. журн. 1986. Т. 65. Вып. 6. С. 780–788.

Иванов А.В. Погонофоры // Фауна СССР. Нов. сер. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 1960. № 75. 271 с.

Burdon-Jones C. Development and biology of the larva of *Saccoglossus horsti* // Phil. Trans. Roy. Soc. London. B. 1952. V. 236. P. 553–590.

12. Таблицы должны быть предоставлены в виде отдельных файлов.

13. Иллюстрации должны быть представлены в виде отдельных файлов в формате tiff или jpeg с минимальным разрешением 300 dpi для фотографий и 600 dpi для графических рисунков. Файлы с другими расширениями редакция не рассматривает. Все рисунки (включая фотографии) должны иметь высокое качество и не требовать дополнительного редактирования.

Иллюстрации следует обозначать как "рис." и нумеровать в порядке их упоминания в тексте. Если рисунок (фотография) состоит из нескольких частей, их следует обозначить русскими буквами в скобках, например: (а), (б), (в) и т.д. Если необходимо, то на изображении ставят масштабную линейку. Ширина линии масштабной линейки должна быть одинаковой на всех изображениях одного рисунка.

При использовании опубликованных ранее рисунков автору следует получить разрешение издателя.

14. Подписи к рисункам. Подписи к рисункам представляются на отдельной странице и оформляются следующим образом: Номер рисунка. Общее название рисунка, характеризующее ВСЕ его части. Номер части — описание фотографии (рисунка); Номер следующей части — описание фотографии (рисунка). Обозначения (в алфавитном порядке). Если обозначения расшифрованы в тексте подписи, то давать их в списке обозначений не нужно. Масштаб.

15. Английский перевод основных научных терминов.

16. Английский перевод аннотации. включая название статьи, фамилии авторов и учреждения, электронные адреса, ORCID – коды.

ТРЕБОВАНИЯ К ОБЗОРНОЙ СТАТЬЕ

В обзорной статье не выделяют в самостоятельные разделы Методы исследования, Результаты исследования, Обсуждение результатов. Все остальные разделы те же, что и для экспериментальной статьи. Текст обзора подразделяется на основе смысловых блоков. Во введении авторы должны сформулировать, в чем новизна представленного обзора и какие задачи они ставят в рамках данного обзора. Основной акцент в статье должен быть сделан на критическом рассмотрении работ, опубликованных в последнее десятилетие. Избыточные исторические экскурсы, пересказ ранее опубликованных обзоров не приветствуются. В обзорной статье должно присутствовать заключение, содержащее авторскую оценку ближайших перспектив изучения данной проблемы.

ОФОРМЛЕНИЕ РУКОПИСИ

Все строки рукописи должны быть пронумерованы. При ссылке на литературный источник в тексте статьи в круглых скобках приводятся фамилия автора (или двух авторов) и год издания. Если авторов больше двух, то приводится фамилия первого с пометкой “и др.” – для русских или “et al.” – для иностранных авторов. При ссылке одновременно на несколько работ одного автора они располагаются в хронологическом порядке.

Если после латинского названия организма не приводятся автор таксона и год, но далее следует библиографическая ссылка, то перед ссылкой необходимо использовать “см.”. Например: “...эмбрионального развития *Phoronopsis harmeri* (см.: Temereva, 1999)”, но не “... эмбрионального развития *Phoronopsis harmeri* (Temereva, 1999)”.

Латинские названия видового и родового ранга следует выделять курсивом.

Синонимию приводить в хронологическом порядке, начиная с названия вида, затем указать авторов, год опубликования, страницы и номера рисунков. Например:

Velutina coriacea (Pallas, 1788)

Helix coriacea Pallas, 1788: 234, pl. VII, fig. 31, 32.

Velutina spongiosa Middendorff, 1851: 108, fig. 1–4.

Velutina coriacea: Tryon, 1886: 67, pl. 28, fig. 49, 50; Kuroda, Kinoshita, 1951: 15; Голиков, Куцакин,

1962: 297, табл. I, рис. 5; Голиков, Гульбин, 1990: 119; Gulbin, Golikov, 1999: 235–236, fig. 9.

Velutina pellucida Derjugin: Дерюгин, 1950: 17–18, рис. 13, табл. II, 13; V, 13; Голиков, Гульбин, Сиренко, 1987: 38, табл. II, рис. 15.

Velutina glabrata Golikov et Kussakin: Голиков, Куцакин, 1962: 301, рис. 8, табл. I, фиг. 7; 1978: 146, рис. 102.

ПРИ НАБОРЕ ТЕКСТА СТАТЬИ НЕОБХОДИМО ПРИДЕРЖИВАТЬСЯ СЛЕДУЮЩИХ ПРАВИЛ:

1. При наборе пользуйтесь стандартным Windows TrueType шрифтом Times New Roman. Размер шрифта – 14; не делайте более одного пробела.

2. Для набора формул используйте редактор формул.

3. В десятичных дробях ставится точка: 0.25 вместо 0,25.

4. Используются только “кавычки”.

5. В тексте все даты в виде “число.месяц.год” набираются следующим образом: 02.05.2014 г.

6. Точка не ставится после: УДК, названия статьи, фамилии автора, адреса, заголовков и подзаголовков, названия таблицы, размерностей (ч – час, с – секунда, г – грамм, мин – минута, сут – сутки, град – градус, м – метр), а также в подстрочных индексах (Сорг).

7. Точка ставится после: сносок, примечания, подписи к рисунку, краткой аннотации, сокращений (мес. – месяц, нед. – неделя, г. – год).

8. Размерности отделяются от цифры пробелом (760 мм рт. ст., 100 кПа, 77 К, 58 Дж/моль), кроме градусов, процентов, промилле: 90°, 20°C, 50%, 20‰; для написания сложных размерностей используются скобки: Дж/(моль К). Размерности переменных приводятся через запятую (Е, кДж/моль), логарифмических величин – в квадратных скобках, без запятой: ln τ [мин].

9. При перечислении, а также в числовых интервалах размерность приводится лишь для последнего числа (18–20°C), за исключением угловых градусов: 5°–10°.

10. Числа с буквами в обозначениях необходимо набирать без пробелов: рис. 1а.

11. В географических координатах широты отделяются пробелами: 56.5° N, 85.0° E.

12. Год, том, номер, страницы в списке литературы разделяются пробелами: 2010. Т. 36. № 2. С. 95–100.

13. Основные часто используемые сокращения: б. – бухта, зал. – залив, о-в – остров, п-в – полуостров, оз. – озеро.