СОДЕРЖАНИЕ

Том 46, номер 1, 2020

Оригинальные статьи

Сравнительная морфологическая классификация иммунных клеток морских беспозвоночных

Ю. А. Каретин, Е. А. Пименова, А. А. Калитник 3

Сравнительная характеристика молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) при ее естественном и заводском воспроизводстве в Сахалинской области

О. В. Зеленников, К. А. Проскуряков, Г. С. Рудакова, М. С. Мякишев 14

Остеологические особенности *Ipnops agassizii* Garman, 1899 (Aulopiformes: Ipnopidae) с батиальных и ультраабиссальных глубин Австрало-Новозеландского района с замечаниями о биогеографическом значении данных находок

В. П. Природина, А. В. Неелов 24

Кариотип седловидного бычка *Microcottus sellaris* (Gilbert, 1896) (Cottidae: Myoxocephalinae)

И. Н. Морева 32

Перспективы использования промысловых и потенциально промысловых бурых водорослей дальневосточных морей в качестве источника полифенолов

Н. М. Аминина, Т. И. Вишневская, Е. П. Караулова, Н. В. Епур, Е. В. Якуш 37

Первая находка бурой эндофитной водоросли *Laminariocolax aecidioides* (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 в дальневосточных морях России

А. В. Скрипцова, Т. Л. Калита 45

Оценка токсического воздействия ионов цинка и наночастиц оксида цинка на раннее развитие морского ежа *Scaphechinus mirabilis* (Agassiz, 1864) (Echinodermata: Echinoidea)

А. А. Мазур, Е. В. Журавель, В. В. Слободскова, М. А. Мазур 53

Краткие сообщения

Notoraja yurii sp. n. (Arhynchobatidae: Rajoidei) – новый вид ската из талассобатиали Индийского океана

В. Н. Долганов 60

Parellisina gruzovi sp. n. (Bryozoa: Calloporidae) – новый вид мшанок из района Курильских островов

В. И. Гонтарь 65

Сезонное накопление амнезиотоксина (домоевой кислоты) у промысловых двустворчатых моллюсков *Mytilus trossulus* Gould, 1850 и *Mizuhopecten yessoensis* Jay, 1850 в заливе Восток Японского моря

И. В. Стоник, Т. Ю. Орлова 70

Contents

Volume 46, No 1, 2020

Original papers

Comparative Morphological Classification of Marine Invertebrate Immune Cells
Yu. A. Karetin, E. A. Pimenova, and A. A. Kalitnik 3

Comparative Characteristics of Naturally Produced and Hatchery-Reared Juvenile Pink Salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792), from Sakhalin Oblast
O. V. Zelennikov, K. A. Proskuryakov, G. S. Rudakova, M. S. Myakishev 14

Osteological Features of *Ipnops agassizii* Garman, 1899 (Aulopiformes: Ipnopidae) from Bathyal and Abyssal Depths of the Australia–New Zealand Region, with Remarks on the Biogeographical Significance of These Findings
V. P. Prirodina, A. V. Neyelov 24

The Karyotype of the Brightbelly Sculpin *Microcottus sellaris* (Gilbert, 1896) (Cottidae: Myoxocephalinae)
I. N. Moreva 32

Prospects for the Use of Commercial and Potentially Commercial Brown Algae of the Far Eastern Seas as a Source of Polyphenols
N. M. Aminina, T. I. Vishnevskaya, E. P. Karaulova, N. V. Epur, E. V. Yakush 37

The First Record of the Brown Endophytic Alga *Laminariocolax aecidioides* (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 (Ectocarpales: Phaeophyceae) in the Russian Far-Eastern Seas
A. V. Skriptsova, T. L. Kalita 45

Assessment of the Toxic Effect of Zinc Ions and Nano-Sized Zinc Oxide on the Early Development of the Sand Dollar *Scaphechinus mirabilis* (Agassiz, 1864) (Echinodermata: Echinoidea)
A. A. Mazur, E. V. Zhuravel, V. V. Slobodskova, M. A. Mazur 53

Brief notes

Notoraja yurii sp. n. (Arhynchobatidae: Rajoidei), a New Skate Species from the Thalassobathyal Zone of the Indian Ocean
V. N. Dolganov 60

Parellisina gruzovi sp. n. (Bryozoa: Calloporidae), a New Species of Bryozoans from the Region of the Kurile Islands
V. I. Gontar 65

Seasonal Accumulation of Amnesic Toxin (Domoic Acid) in Commercial Bivalves *Mytilus trossulus* Gould, 1850 and *Mizuhopecten yessoensis* Jay, 1850 in Vostok Bay, Sea of Japan
I. V. Stonik, T. Yu. Orlova 70

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 3–13

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 576.3

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ИММУННЫХ КЛЕТОК МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

© 2020 г. Ю. А. Каретин[1], *, Е. А. Пименова[1], А. А. Калитник[1]

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

**e-mail: yura15cbx@gmail.com*

Поступила в редакцию 20.12.2018 г.
После доработки 06.05.2019 г.
Принята к публикации 06.05.2019 г.

Сочетание фрактального формализма с линейными методами анализа изображений лежит в основе статистически достоверного описания морфологии и классификации таких иррегулярных с точки зрения евклидовой геометрии форм, как распластанные амебоидные клетки *in vitro*. Разработан алгоритм классификации на основе морфологических признаков иммунных клеток четырех видов морских беспозвоночных: двустворчатых моллюсков *Spisula sachalinensis* (Schrenck, 1862) и *Callista brevisiphonata* (Carpenter, 1864), а также иглокожих *Aphelasterias japonica* (Bell, 1881) и *Asterias amurensis* (Lütken, 1871). Морфологические признаки клеток включали размерностные характеристики (площадь, периметр), особенности описывающей клетку окружности и выпуклой оболочки, характеристики симметричности и округлости клетки, а также фрактальную размерность и лакунарность, которые были определены несколькими способами, оценивающими пространственную сложность клеток. Показано, что оптимальная классификационная структура иммунных клеток всех видов основана на сходном универсальном алгоритме, включающем иерархическую классификацию методом Варда, при использовании переменных с самым высоким индексом мультимодальности, которые в факторном анализе нагружают разные факторы.

Ключевые слова: Aphelasterias japonica, *Asterias amurensis*, *Spisula sachalinensis*, *Callista brevisiphonata*, гемоциты, целомоциты

DOI: 10.31857/S0134347520010052

Количественная характеристика и классификация фибробластоподобных клеток сложной неправильной формы остаются актуальными задачами, решение которых позволит идентифицировать клеточные типы на разных стадиях дифференцировки и изучать морфогенетические преобразования клеток как *in vivo*, так и *in vitro*. В отличие от клеток с четко распознаваемыми и типизируемыми элементами структуры, например, нейронов (Benavides-Piccione et al., 2006), иммунные клетки беспозвоночных (гемоциты двустворчатых моллюсков и целомоциты иглокожих) не имеют однозначно различимых структурных элементов внешней морфологии. Среди филоподий, ламеллоподий и других типов псевдоподий встречается множество переходных форм, а граница между телом клетки и отростками не всегда очевидна. Это затрудняет описание и классификацию данных клеток с помощью общепринятых структурных параметров.

Для описания сложных и хаотичных с точки зрения евклидовой геометрии биологических паттернов стандартом *de facto* используют параметры квазифрактальной организации (Li, 2000). В рамках этого подхода природный паттерн рассматривается как квазифрактал, фрактальную размерность и пространственную неоднородность (лакунарность) которого можно определить разными методами. В данной работе для сравнительной классификации гемоцитов двустворчатых моллюсков и целомоцитов иглокожих, позволяющей выделить характерные для каждого вида животных морфотипы прикрепленных к субстрату иммунных клеток, применен комплексный подход, сочетающий классические морфометрические параметры с квазифрактальными.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа выполнена на двустворчатых моллюсках *Spisula sachalinensis* (Schrenck, 1862) и *Callista brevisiphonata* (Carpenter, 1864), а также на морских звездах *Aphelasterias japonica* (Bell, 1881) и *Asterias amurensis* (Lütken, 1871). Животных собирали в б. Восток (зал. Петра Великого, Японское

море). Моллюсков вскрывали и из сердечной сумки шприцем набирали гемолимфу; целомическую жидкость морской звезды выделяли, надрезая кончик луча. Гемолимфу и целомическую жидкость сразу помещали на покровные стекла и выдерживали в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем клетки фиксировали в 4% растворе формалина на морской воде. После фиксации препараты окрашивали гематоксилин–эозином, обезвоживали и заключали в канадский бальзам. Распластанные клетки фотографировали с помощью цифровой камеры (10 Мпикс) микроскопа Zeiss Axiovert 200M Apotome, выводили на экран планшетного компьютера, зарисовывали и переводили в однобитный формат. Всего обработано 458 гемоцитов *S. sachalinensis* и 628 гемоцитов *C. brevisiphonata*, 569 целомоцитов *A. japonica* и 400 целомоцитов *A. amurensis*. Анализировали как силуэтные, так и контурные двумерные изображения распластанных клеток. В контурных изображениях использовали однопиксельный абрис внешней границы клетки. Фрактальный анализ выполняли при помощи плагина FracLac 2.5 для программы анализа изображений ImageJ 1.41, линейные параметры просчитывали средствами ImageJ 1.41 и с помощью Photoshop SC3. Статистическую обработку результатов осуществляли в программных пакетах STATISTICA 12.0 и NCSS 2007.

Для параметризации клеток использовали 36 параметров, включая 19 параметров линейной морфологии и 17 параметров квазифрактального анализа (Каретин, 2016; Karetin, Pushchin, 2017), из которых для описания клеточной морфологии и классификации отобрали 18 параметров: Area – площадь; Per – периметр клетки; LCFD PreLac – мера гетерогенности или трансляционной инвариантности изображения при разных вариантах наложения решетки; in50/out50 – отношение площади клетки во внешней половине описывающей клетку окружности к площади клетки во внутренней половине окружности; 1/2half – соотношение площадей частей клетки, оказавшихся в двух половинах описывающей клетку окружности, диаметр которой проводится в направлении, максимально неравномерно разделяющем изображение клетки (этот параметр используется как мера асимметричности клетки); AR – соотношение максимального и минимального радиусов описывающего объект эллипса; M/M RadCirc – отношение максимального радиуса к минимальному из центра описывающей объект окружности на границу выпуклой оболочки; M/MHull'sCM – соотношение максимального и минимального радиусов из центра масс выпуклой оболочки на точку на границе объекта; BiggestD – фрактальная размерность контурных изображений, подсчитанная с учетом квадратов лишь больше среднего размера; outMeanD – среднее значение фрактальной размерности, рассчитанное методом подсчета квадратов с учетом множественного наложения решетки с разной ориентацией квадратов на контурное изображение клетки; LF – лакунарность, рассчитанная на основе различий числа пикселей в каждом квадрате изображения при всех ориентациях квадратной решетки с учетом пикселей изображения и без учета пикселей фона (F – foreground mass, пиксели изображения), LF = (Σ[FΛ])/GRIDS; outMeanLFD – средняя локальная фрактальная размерность контурных изображений клеток, подсчитанная этим же способом; outMeanLCFD – средняя локальная связанная фрактальная размерность контурных изображений клеток; outLCFD PreLac – мера гетерогенности или трансляционной инвариантности контурного изображения клеток; MeanΛ – средняя лакунарность, подсчитанная при разных ориентациях решетки; LCFD – связанная локальная размерность, которая подсчитывается непосредственно вокруг пикселя, соединенного с соседними пикселями изображения (пиксель считается связанным, если в квадрате 8 на 8 пикселей вокруг него имеются другие пиксели); MMFD – средняя массовая размерность силуэтных изображений: фрактальная размерность, подсчитанная с учетом числа пикселей в квадратах пробирующей функции DBmass = $\lim\varepsilon \to 0[\ln\mu\varepsilon/\ln\varepsilon]$, $\lim\varepsilon \to 0$, определяется как наклон линии регрессии для $\mu\varepsilon$ и ε, где $\mu\varepsilon$ – среднее число пикселей в квадрате со стороной ε; Circ – округлость клетки, равна $4\pi \times$ площадь/периметр^2 клетки; Hull'sCirc – округлость выпуклой оболочки, равна $4\pi \times$ площадь/периметр^2 выпуклой оболочки. Параметры были нормализованы для выравнивания их вклада в классификацию в качестве кластерных переменных.

Одна из главных проблем кластерного анализа, так называемое “проклятие размерности”, заключается в том, что качество кластеризации быстро ухудшается с увеличением размерности модели – числа параметров (Gordon, 1999; Xu, Wunsch, 2008).

Корреляцию между параметрами измеряли с помощью метода линейного корреляционного анализа Пирсона. Для сокращения числа переменных из анализа исключали параметры, имеющие высокое значение линейной корреляции Пирсона, предположительно описывающие близкие морфологические свойства. При выборе из двух высоко коррелированных параметров предпочтение отдавали параметру с более высоким индексом мультимодальности, определяющим, является ли распределение значений признака моно-, би- или мультимодальным (Schweitzer, Renehan, 1997). Среди параметров, нагружающих каждый фактор, отбирали параметры с максимальным

индексом мультимодальности (Karetin, Pushchin, 2015).

При выделении факторов в факторном анализе использовали ортогональное вращение основных факторных осей методом Варимакс (Varimax). Метод Варимакс максимизирует разброс квадратов нагрузок для каждого фактора, что приводит к увеличению больших и к уменьшению малых значений факторных нагрузок.

Для классификации клеток использовали иерархический кластерный анализ с правилом объединения кластеров по методу Варда и с евклидовым расстоянием в качестве меры близости. Снижение размерности параметрического пространства осуществляли с помощью факторного анализа. Для проверки кластерной структуры использовали дисперсионный анализ.

Статистическую достоверность кластерных решений определяли, оценивая значимость различий между кластерами с использованием однонаправленных ANOVA тестов Крускала–Уоллиса с ретроспективными тестами Манна–Уитни U (Sheskin, 2000). Оценивали также величину эффекта между кластерными различиями. Эта статистика обеспечивает лучшее понимание факторов, лежащих в основе межкластерных различий, позволяя сравнивать результаты, полученные в разных условиях, для разных видов и т.д., а также, что более важно, выявляет небольшие и тривиальные эффекты, формальное значение которых может быть обусловлено чрезмерным размером выборки (Fritz et al., 2012). В настоящем исследовании в качестве величины эффекта для сравнения парных различий между кластерами использован коэффициент Коэна r (Cohen, 1988), который рассчитывали следующим образом: r = Z/SQRT(N), где Z – Z-оценка для соответствующего сравнения, а N – объединенный размер выборки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенного анализа установлено, что 31–34 параметра клеток каждого вида показали достоверно высокую ($p < 0.05000$) корреляцию с одним параметром или более. Для анализа морфологии гемоцитов и целомоцитов отбирали 9–11 слабо коррелированных (менее 0.6) или некоррелированных параметров с наибольшим индексом мультимодальности (табл. 1).

Для дальнейшего уменьшения числа переменных применяли два подхода: отбор некоррелированных переменных с индексом мультимодальности выше заданного порога и факторный анализ. При этом для классификации использовали как сами факторы, так и нагружающие их параметры.

У исследованных видов (кроме *C. brevisiphonata*) параметры нагружали 4 фактора. При этом первый фактор у всех четырех видов был нагружен фрактальными размерностями и лакунарностями разных типов; в целом он отражал квазифрактальные характеристики морфологии клеток. Второй фактор был нагружен параметрами, отражающими такие размерные характеристики клетки, как площадь, периметр, размеры описывающей клетку окружности и выпуклой оболочки. Третий фактор (у *A. japonica* – четвертый) был нагружен параметрами, описывающими округлость и вытянутость клетки, а также ее выпуклой оболочки (Round, AR, Hull'sCirc); четвертый фактор (у *A. japonica* – третий) был нагружен параметрами, связанными с локальной фрактальной размерностью и массовой размерностью контурных изображений клеток: outMeanLCFD, outMeanLFD, outLCFD PreLac и outMMFD. Таким образом, у всех исследованных видов нагрузки большинства параметров оказались распределены сходным образом по четырем факторам, определяющим основные характеристики клеточной морфологии. Пятый фактор у *C. brevisiphonata* оказался нагружен квазифрактальными параметрами контурных изображений, которые у остальных видов объединялись с квазифрактальными параметрами силуэтных изображений в первом факторе. Однако объясненная нагрузка четвертого фактора у *C. brevisiphonata* упала ниже 3, тогда как у остальных видов ниже 3 она была только у факторов, не имеющих ни одного достоверно нагружающего их параметра. Чтобы формально и единообразно ограничить число использованных в кластеризации параметров, в качестве переменных использовали факторы лишь с объясненной нагрузкой выше 3 и достоверно нагружаемые хотя бы одним параметром. Данным условиям у каждого вида соответствовали 4 фактора, взятые в качестве четырех параметров для кластеризации. Кроме этого для кластерного анализа использовали параметры с максимальным индексом мультимодальности, нагружающие каждый фактор (табл. 2).

Самая низкая величина эффекта (0.26–0.38), подсчитанная для использованных параметров всех пар кластеров, получена для кластерных решений на основе четырех параметров, отобранных только по величине индекса мультимодальности, без факторного анализа. Более высокой величиной эффекта (0.39–0.46) характеризовались кластерные структуры с факторами, использованными в качестве параметров кластеризации. Однако у всех изученных видов наибольшие значения величины эффекта (0.41–0.47) имели кластерные структуры, построенные на основе нагружающих выбранные факторы четырех параметров с наивысшим индексом мультимодальности (табл. 2). Самую высокую величину эффекта для *A. japonica* и *C. brevisiphonata* показало четырехкластерное решение (0.4782 и 0.46957 соответственно), а для *A. amurensis* и *S. sachalinensis* опти-

Таблица 1. Некоррелированные параметры морфологии иммунных клеток исследованных видов беспозвоночных с самым высоким индексом мультимодальности (ИМ)

Вид	Параметр	ИМ
Aphelasterias japonica	LCFD PreLac	0.780407
	in50/out50	0.770734
	1/2half	0.622101
	AR	0.608966
	M/M RadCirc	0.58754
	MMFD	0.580189
	Area	0.517929
	M/MHull'sCM	0.496707
	BiggestD	0.478169
	outMeanLFD	0.3825
Spisula sachalinensis	LCFD PreLac	0.70528
	1/2half	0.690094
	Per	0.649817
	M/M RadCirc	0.582813
	in50/out50	0.571991
	AR	0.533511
	M/MHull'sCM	0.496496
	Hull'sCirc	0.460161
	MMFD	0.379436
	outLCFD PreLac	0.370878
	outMeanLFD	0.342725
Callista brevisiphonata	AR	0.649615
	M/M RadCirc	0.621261
	Circ	0.612525
	in50/out50	0.576105
	Per	0.575295
	1/2half	0.503101
	MMFD	0.463013
	outMeanLCFD	0.409034
Asterias amurensis	1/2half	0.820338
	AR	0.648875
	in50/out50	0.623412
	Per	0.615885
	M/M RadCirc	0.600593
	LCFD PreLac	0.508746
	MeanΛ	0.483697

Таблица 2. Параметры морфологии иммунных клеток исследованных видов беспозвоночных, отобранные для оптимального кластерного решения

Asterias amurensis	*Aphelasterias japonica*	*Callista brevisiphonata*	*Spisula sachalinensis*
AR	AR	AR	AR
Per	BiggestD	Per	Per
MeanΛ	MMFD	MMFD	LF
outMeanLFD	outMeanLFD	outMeanD	outLCFD PreLac

мальным было трехкластерное решение (0.46884 и 0.46506 соответственно) (рис. 1).

Кластерная модель классификации целомоцитов *A. japonica* выделила четыре морфологических типа клеток (рис. 2). Тип I – крупные наименее отростчатые клетки с самым низким значением фрактальной размерности контурных изображений (outMeanD), что характерно для клеток с простой топологией клеточных границ. Тип II – самые мелкие клетки с простой микроскульптурой границ, не имеющей филоподиальных отростков. Тип III объединил самые крупные симметричные (практически округлые) клетки со сложной микроскульптурой границ, покрытой мелкими многочисленными отростками. Тип IV – это клетки наиболее неправильной асимметричной формы с самыми низкими значениями параметров округлости (Circularity) и закругленности (Roundness), а также с наиболее высокими значениями лакунарности (LF) и параметра 1/2half, отражающего асимметричность клетки внутри описывающей клетку окружности.

Оптимальная кластерная структура *C. brevisiphonata* включала четыре морфологических типа клеток (рис. 3). Тип I – клетки с наиболее простой микроскульптурой границ, с низкими лакунарностью и фрактальной размерностью контурных изображений, а также с самыми высокими значениями округлости и плотности, что характеризует морфологически простые симметричные клетки. Тип II – это вытянутые клетки; значение закругленности у клеток данного типа было значительно ниже, чем у клеток других морфотипов. Морфологически тип III объединил несколько более отростчатые, чем в типе I, клетки; по многим параметрам они ближе к клеткам типа II, но значительно отличаются от них большим значением лакунарности (LF) и параметром закругленности, который ближе к таковому у клеток типа I. Тип IV – это крупные клетки самой сложной морфологии с длинными ветвящимися отростками. Клетки типа IV больше клеток других типов по фрактальной размерности контурных изображений (outMeanD), площади и лакунарности. Они характеризуются минимальными значениями параметров округлости и плотности как асимметричные клетки с большой площадью стратификации отростков.

Классификация иммунных клеток *A. amurensis* с лучшим значением величины эффекта включала три типа клеток (рис. 4). Тип I – самые крупные клетки с большими отростками неправильной формы, а также с наибольшими значениями площади, лакунарности, фрактальной размерности контурных изображений и с минимальным значением параметра плотности. Тип II – округлые клетки почти без отростков с наименьшими значениями LF и outMeanD и с максимальным значением округлости. Клетки типа III – это вытянутые клетки средней сложности наименьшего размера с максимальным значением AR; в данный тип входят клетки с оптически перфорированной в процессе распластывания мембраной, характерные для распластанных целомоцитов *A. amurensis*.

Оптимальная кластерная модель *S. sachalinensis*, как и *A. amurensis*, выделила три типа клеток. Тип I – клетки с самыми высокими среди выделенных типов клеток значениями параметров outMeanD, LF и Per, что характеризует клетки сложной морфологии с большим числом крупных и мелких отростков. Клетки типа II, как и клетки этого типа у *C. brevisiphonata*, имеют самое высокое значение параметра LCFD PreLac и среднее, но достоверно отличное, значение фрактальной размерности контурных изображений. Визуально у таких клеток более простая “усредненная” форма с меньшим числом небольших отростков. К типу III отнесены клетки с меньшей, чем у других типов, площадью распластывания, с самым высоким значением параметра AR и низким показателем outMeanD. Визуально они имеют наиболее простую микроскульптуру границ с минимальным числом отростков, однако общая форма клеток типа III разнообразна и асимметрична. Как правило, клетки этого типа вытянутые, а иногда слегка закругленные, что характерно для движущихся клеток (рис. 5).

В соответствии с тестом множественного сравнения Tukey–Kramer на различие средних значений, выделенные клеточные типы достоверно различались по большинству классифицирующих параметров и по ряду иных параметров линейной и квазифрактальной морфологии. Исходя из значений частной лямбды Уилкса, кластерная структура *A. japonica* опиралась прежде всего на квазифрактальные параметры. Вклад параметров в классификацию клеток *A. amurensis* и *S. sachalinensis* был близок к равномерному; вклад всех четырех использованных параметров в классификацию клеток *C. brevisiphonata* также оказался высоким, причем наибольшим он был для параметра AR (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что лучшая классификация клеток каждого исследованного вида включает разные параметры и выделяет видоспецифичные типы, которые различаются аспектами морфологии, оптимальная классификационная структура иммунных клеток всех изученных видов основана на сходном алгоритме, который включает иерархическую классификацию методом Варда, а в качестве межкластерного различия используется евклидово расстояние. Данный метод кластеризации показал наилучшие результаты при класси-

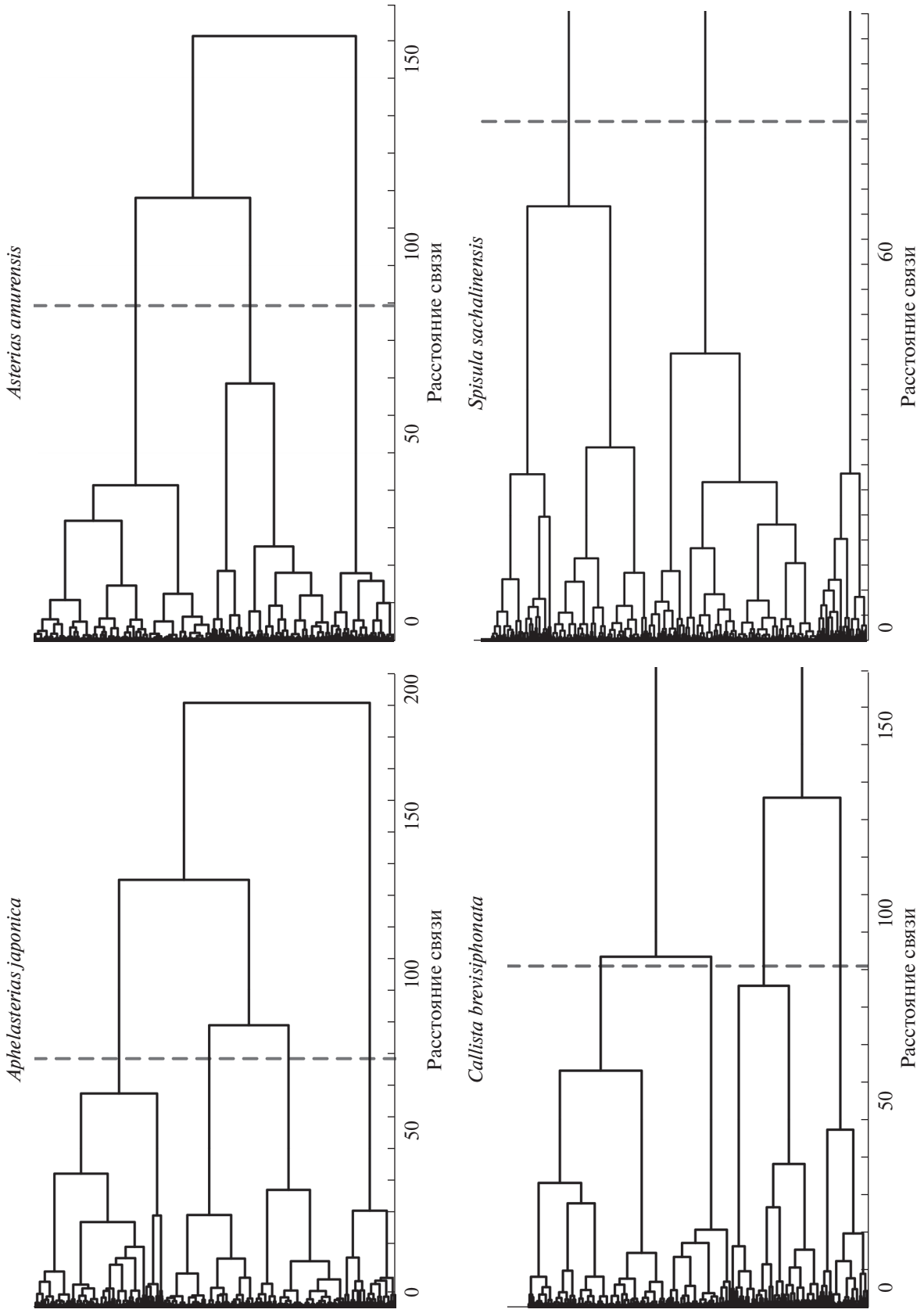

Рис. 1. Кластерные решения с самой высокой величиной эффекта для иммунных клеток *Aphelasterias japonica*, *Callista brevisiphonata*, *Asterias amurensis* и *Spisula sachalinensis*.

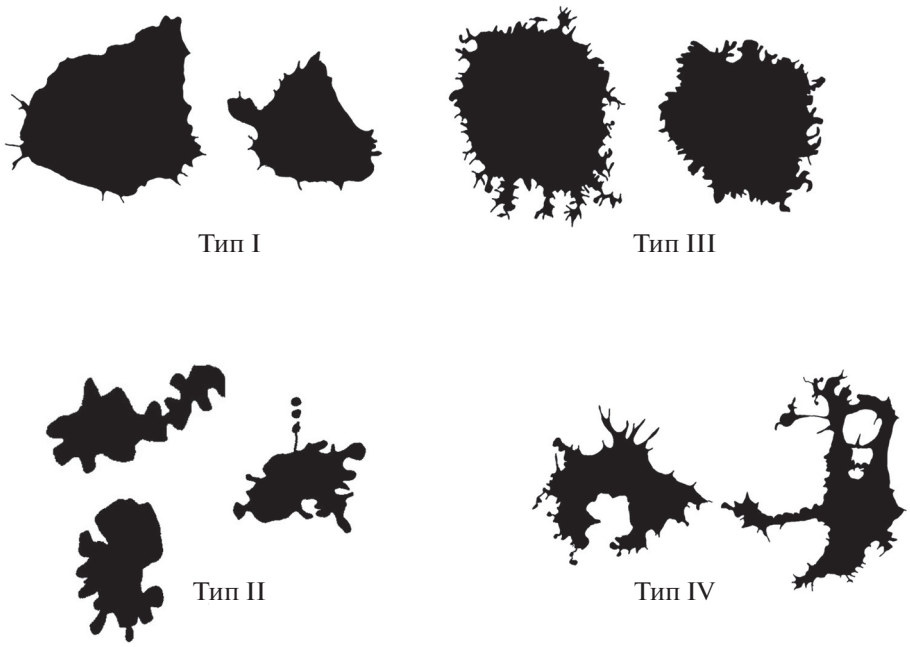

Рис. 2. Силуэтные изображения разных типов целомоцитов морской звезды *Aphelasterias japonica*.

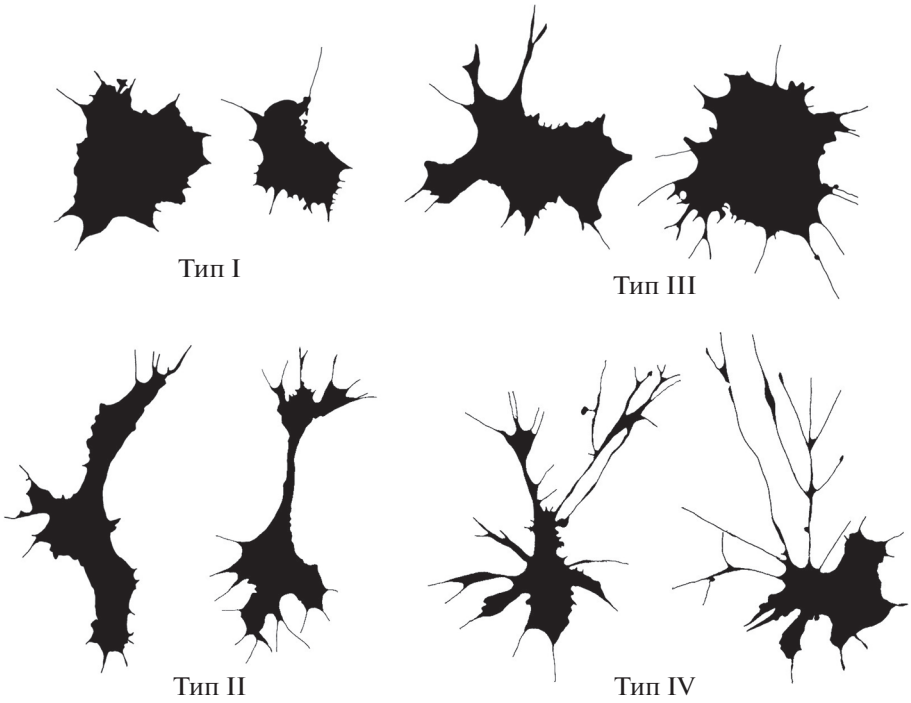

Рис. 3. Силуэтные изображения разных типов гемоцитов двустворчатого моллюска *Callista brevisiphonata*.

фикации нейронов (Pushchin, Karetin, 2009, 2014) и иммунных клеток беспозвоночных (Karetin, Pushchin, 2015). Количество тестируемых кластеров не превышало число клеточных типов, обычно выделяемое в иммунной системе беспозвоночных (3–6) (Dyrynda et al., 1997; Chang et al., 2005); тестировались также наборы кластеров с расстоянием межкластерной связи, визуально значительно превосходящим расстояния между следующими бифуркациями деления кластеров.

Для классификации отбираются параметры с самым высоким индексом мультимодальности,

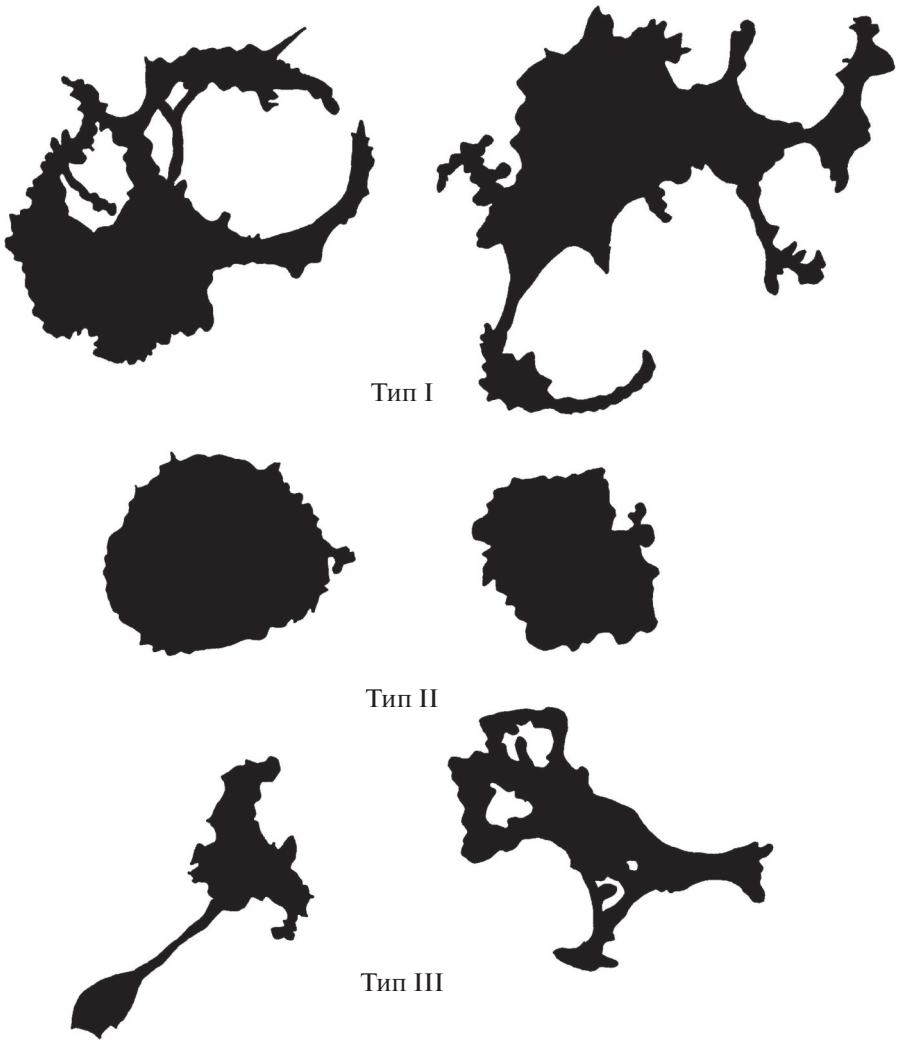

Рис. 4. Силуэтные изображения разных типов целомоцитов морской звезды *Asterias amurensis*.

нагружающие факторы факторного анализа. Классификационная модель с наилучшей кластерной структурой сочетает как линейные, так и квазифрактальные параметры, отражая разные аспекты клеточной морфологии. В одни и те же факторы, полученные в результате факторного анализа, распределяются параметры, описывающие схожие аспекты морфологии. Благодаря этому в классификации клеток исследованных видов представлены параметры, отражающие асимметрию клеток (AR) и размерные характеристики (Per), а также квазифрактальные параметры, описывающие сложность структуры силуэтных (MMFD) и контурных изображений клеток (outMeanD). При этом из всех параметров, представляющих каждый аспект морфологии, выбран один, распределение которого в выборке наиболее мультимодально, следовательно, выборка по данному параметру гетерогенна и этот параметр наиболее четко раскрывает ее составную структуру, включающую клетки разных морфологических типов.

Согласно традиционной цитологической классификации, адгезированные *in vitro* клетки исследованных беспозвоночных можно отнести к одному типу, который характеризуется агранулярной базофильной цитоплазмой. Однако в широкой морфологической вариабельности адгезированных клеток четко выделяются видоспецифичные морфотипы, различающиеся некоторыми линейными и нелинейными морфологическими параметрами.

Традиционные цитологические параметры классификации иммунных клеток беспозвоночных включают такие признаки, как гранулярность цитоплазмы, ядерно-цитоплазматические отношения и способность к фагоцитозу. Агранулоциты характеризуются меньшими размерами, чем гранулоциты, более высоким отношением ядра к цитоплазме и отсутствием гранул (Donaghy et al., 2009; Matozzo, Bailo, 2015). Гиалиноциты,

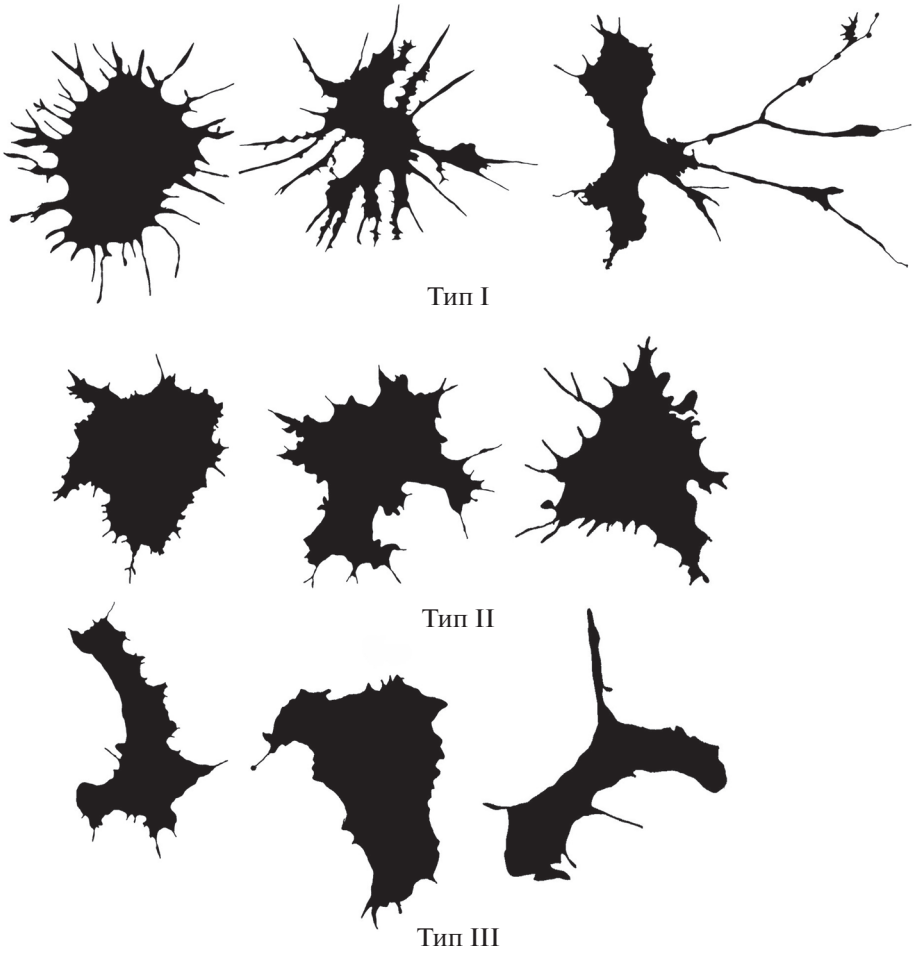

Рис. 5. Силуэтные изображения разных типов гемоцитов двустворчатого моллюска *Spisula sachalinensis.*

как и гранулоциты, делят на маленькие и большие (Preziosi, Bowden, 2016). Многие из этих признаков обладают вариабельностью (Fisher, 1986), например, гранулоциты могут иметь агранулярных предшественников; по опубликованным данным (Martin, Hose, 1992), гранулы могут появляться или теряться при изменении условий или присутствовать в клетках, которые по другим морфологическим признакам определяются как гиалиноциты.

Характеристика внешней морфологии в естественной классификации иммунных клеток беспозвоночных занимает не последнее место, поскольку внешняя морфология клеток определяется множеством факторов: функциональной динамикой, в частности, реакциями на особенности внешней среды (Paine et al., 1994); внеклеточным матриксом (Ingber, 1990); генетическими (Qiu et al., 2002) и биохимическими (Fairbanks et al., 2009) особенностями, в частности, структурой цитоскелета (Suzuki, Ohno, 2006), а также набором молекул клеточной адгезии (Racusen, 1994). Анализ морфологии клеток принципиален для понимания их функционального состояния и закономерностей онтогенеза (Kilian et al., 2010).

Главный с биологической точки зрения вопрос при рассмотрении морфологии клеток разных видов животных: чем определяется различие морфологии распластанных гемоцитов у разных видов беспозвоночных? Независимо от того, лежат ли в основе различий форм гемоцитов и целомоцитов у разных видов экологические причины и подвержены ли особенности их морфологии естественному отбору, кажется несомненным, что различие клеточных форм определяется генетически. Оно связано с такими различиями клеточной физиологии, как общая структура и динамика цитоскелета, видоспецифические особенности клеточного поведения, функционирование рецепторов клеточной адгезии, взаимодействие клетка–клетка и клетка–субстрат. Поэтому логичен переход к рассмотрению клеточных форм на основе биологического анализа параметров, описывающих формы клеток. Возможно, это даст ответ на вопрос: какие именно генетические и цитофизиологические видоспецифичные особен-

Таблица 3. Частная лямбда Уилкса для параметров морфологии иммунных клеток исследованных видов беспозвоночных, использованных в избранных кластерных структурах

Вид	Параметр	Частная лямбда Уилкса
Aphelasterias japonica	AR	0.961618
	BiggestD	0.565155
	MMFD	0.403119
	outMeanLFD	0.665635
Spisula sachalinensis	LF	0.746466
	Per	0.761195
	AR	0.773631
	outLCFD PreLac	0.565398
Asterias amurensis	AR	0.774968
	Per	0.765077
	outMeanLFD	0.611673
	MeanΛ	0.597782
Callista brevisiphonata	MeanMassFD	0.692703
	Per	0.795709
	outMeanD	0.779820
	AR	0.405223

ности клетки определяют значение того или иного рассматриваемого параметра, а также позволит прогнозировать особенности клеточной физиологии, исходя из детального морфологического анализа. Разработка численного формального алгоритма описания внешней морфологии клеток *in vitro* имеет практическое значение для статистически достоверного описания морфологии культивируемых клеток как в норме, так и в эксперименте, где до сих пор используется неформализованный, неточный язык описания клеточных форм.

Предложенная методология классификации клеток по морфологическим критериям позволила выделить обладающий наибольшей дискриминирующей силой набор морфологических параметров для каждого исследованного вида беспозвоночных. При этом общий алгоритм оптимальной классификации остается неизменным, несмотря на различие отобранных параметров и индивидуальные морфологические особенности типов клеток, выделенных из разных животных. Примененный нами подход классификации иммунных клеток по морфологическим критериям с использованием квазифрактальных параметров может стать альтернативой или дополнением к классическим подходам описания и классификации полиморфных клеток, в частности элементов иммунной системы беспозвоночных, позволяя выделить присутствующие в популяции морфотипы клеток и благодаря этому повышая дискриминирующую способность существующих моделей классификации клеток *in vitro*.

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 Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 18-04-00430 А.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Каретин Ю.А. Нелинейный анализ морфологии гемоцитов морских звезд *Aphelasterias japonica* (Bell, 1881), *Patiria pectinifera* (Muller et Troschel, 1842) и двустворчатого моллюска *Callista brevisiphonata* (Carpenter, 1864) // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 4. С. 275–282.

Benavides-Piccione R., Hamzei-Sichani F., Ballesteros-Yáñez I. et al. Dendritic size of pyramidal neurons differs among mouse cortical regions // Cereb. Cortex. 2006. V. 16. P. 990–1001.

Chang S.J., Tseng S.M., Chou H.Y. Morphological characterization via light and electron microscopy of the hemocytes of two cultured bivalves: a comparison study between the hard clam (*Meretrix lusoria*) and Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) // Zool. Stud. 2005. V. 44. № 1. P. 144–153.

Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences: 2nd ed. Hillsdale, N.J.: Lawrence Erlbaum Associates. 1988. 400 p.

Donaghy L., Lambert C., Choi K.S., Soudant P. Hemocytes of the carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) and the

Manila clam (*Ruditapes philippinarum*): Current knowledge and future prospects // Aquaculture. 2009. V. 297. № 1–4. P. 10–24.

Dyrynda E.A., Pipe R.K., Ratcliffe N.A. Sub-populations of haemocytes in the adult and developing marine mussel, *Mytilus edulis*, identified by use of monoclonal antibodies // Cell Tissue Res. 1997. V. 289. № 3. P. 527–536.

Fairbanks B.D., Schwartz M.P., Halevi A.E. et al. A versatile synthetic extracellular matrix mimic via thiol-norbornene photopolymerization // Adv. Mater. 2009. V. 21. № 48. P. 5005–5010.

Fisher W.S. Structure and functions of oyster hemocytes // Immunity in Invertebrates / Ed. M. Brehélin. Proceedings in Life Sciences. Berlin: Springer-Verlag. 1986. P. 25–35.

Fritz C.O., Morris P.E., Richler J.J. Effect size estimates: current use, calculations, and interpretation // J. Exp. Psychol. Gen. 2012. V. 141. № 1. P. 2–18.

Gordon A.D. Classification: 2nd ed. Boca Raton; London: Chapman and Hall/CRC. 1999. 272 p. (Monographs on Statistics and Applied Probability; № 82).

Ingber D.E. Fibronectin controls capillary endothelial cell growth by modulating cell shape // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1990. V. 87. № 9. P. 3579–3583.

Karetin Yu.A., Pushchin I.I. Analysis of the shapes of hemocytes of *Callista brevisiphonata in vitro* (Bivalvia, Veneridae) // Cytometry. Part A. 2015. V. 87. P. 773–776.

Karetin Yu.A., Pushchin I.I. Analysis of the shapes of coelomocytes of *Aphelasterias japonica* in vitro (Echinodermata: Asteroidea) // Protoplasma. 2017. V. 254. P. 1805–1811.

Kilian K.A., Bugarija B., Lahn B.T., Mrksich M. Geometric cues for directing the differentiation of mesenchymal stem cells // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2010. V. 107. № 11. P. 4872–4877.

Li B.-L. Fractal geometry applications in description and analysis of patch patterns and patch dynamics // Ecol. Model. 2000. V. 132. № 1–2. P. 33–50.

Martin G.G., Hose J.E. Vascular elements and blood (hemolymph) // Microscopic anatomy of invertebrates. V. 10: Decapod Crustacea. 1992. New York: Wiley-Liss. P. 117–146.

Matozzo V., Bailo L. A first insight into haemocytes of the smooth venus clam *Callista chione* // Fish Shellfish Immunol. 2015. V. 42. № 2. P. 494–502.

Paine R. 3rd., Christensen P., Toews G.B., Simon R.H. Regulation of alveolar epithelial cell ICAM-1 expression by cell shape and cell-cell interactions // Am. J. Physiol. Lund Cell. Mol. Physiol. 1994. V. 266. P. L476–L484.

Preziosi B.M., Bowden T.J. Morphological characterization via light and electron microscopy of Atlantic jackknife clam (*Ensis directus*) hemocytes // Micron. 2016. V. 84. P. 96–106.

Pushchin I.I., Karetin Yu.A. Retinal ganglion cells in the eastern newt *Notophthalmus viridescens*: topography, morphology, and diversity // J. Comp. Neurol. 2009. V. 516. P. 533–552.

Pushchin I., Karetin Y. Retinal ganglion cells in the Pacific redfin, *Tribolodon brandtii dybowski*, 1872: morphology and diversity // J. Comp. Neurol. 2014. V. 522. P. 1355–1372.

Qiu J.L., Jilk R., Marks M.D., Szymanski D.B. The Arabidopsis *SPIKE*1 gene is required for normal cell shape control and tissue development // Plant Cell. 2002. V. 14. № 1. P. 101–118.

Racusen L.C. Cell shape changes and detachment in cell culture: models of renal injury // Nephrol. Dial. Transplant. 1994. V. 9. Suppl. 4. P. 22–25.

Schweitzer L., Renehan W.E. The use of cluster analysis for cell typing // Brain Res. Protoc. 1997. V. 1. P. 100–108.

Sheskin D.J. Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures: 2nd ed. Boca Raton, Fla.: Chapman and Hall/CRC. 2000. 982 p.

Suzuki A., Ohno S. The PAR-aPKC system: lessons in polarity // J. Cell Sci. 2006. V. 119. P. 979–987.

Xu R., Wunsch D. Clustering. Hoboken, N.J.: Wiley-IEEE Press. 2008. 368 p.

Comparative Morphological Classification of Marine Invertebrate Immune Cells

Yu. A. Karetin[a], E. A. Pimenova[a], and A. A. Kalitnik[a]

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

Combination of fractal formalism with the linear methods of image analysis underlies a statistically reliable description of the morphology and classification of forms that are irregular from the point of view of Euclidean geometry, such as *in vitro* flattened amoeboid cells. We have developed a classification algorithm that is based on the morphological characteristics of immune cells of four species of marine invertebrates: the bivalves *Spisula sachalinensis* (Schrenck, 1862) and *Callista brevisiphonata* (Carpenter, 1864) and also echinoderms *Aphelasterias japonica* (Bell, 1881) and *Asterias amurensis* (Lütken, 1871). Morphological features of the cells included dimensional characteristics (area, perimeter), features of the circle and the convex hull circumscribing the cell, characteristics of the symmetry and roundness of the cell, as well as fractal dimension and lacunarity, which were determined in several ways assessing the spatial complexity of cells. It was shown that the optimal classification structure of immune cells of all species studied was based on a similar universal algorithm including hierarchical classification by the Ward method, using variables with the highest multimodality index, which load different factors in the factor analysis.

Keywords: Aphelasterias japonica, *Asterias amurensis*, *Spisula sachalinensis*, *Callista brevisiphonata*, hemocytes, coelomocytes

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 14–23

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 597.442.591.147.8

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОДИ ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* (WALBAUM, 1792) ПРИ ЕЕ ЕСТЕСТВЕННОМ И ЗАВОДСКОМ ВОСПРОИЗВОДСТВЕ В САХАЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2020 г. О. В. Зеленников[1, *], К. А. Проскуряков[2], Г. С. Рудакова[3], М. С. Мякишев[3]

[1]*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург 199034, Россия*

[2]*ООО "Салмо", Южно-Сахалинск 693006, Россия*

[3]*Сахалинский филиал ФГБУ "Главрыбвод", Южно-Сахалинск 693006, Россия*

**e-mail: Oleg_Zelennikov@rambler.ru*

Поступила в редакцию 14.12.2018 г.
После доработки 28.02.2019 г.
Принята к публикации 19.03.2019 г.

Анализировали размер и массу тела, а также изучали морфофизиологическое состояние комплекса внутренних органов у природной молоди горбуши, выловленной в пяти реках в период ската, и у заводской молоди, отобранной перед выпуском на всех 22 рыбоводных заводах, на которых ее выращивали в Сахалинской области в 2016 и 2017 гг. Установлено, что масса тела у природной молоди горбуши из разных рек и в разные годы достоверно различалась. Заводские мальки перед выпуском в среднем были в 1.5–2.5 раза крупнее природных, причем на разных заводах масса тела мальков тесно коррелировала с суммой набранных градусо-дней. Все мальки от естественного нереста в период ската имели остаток желточного мешка, хотя часть мальков активно питалась уже в пресной воде. Независимо от темпа роста заводских мальков перед выпуском у них также сохранялся остаток желточного мешка. Во всех группах природной и заводской молоди выявлены разные варианты микроморфологической организации печеночной паренхимы.

Ключевые слова: Сахалин, Итуруп, рыбоводные заводы, горбуша

DOI: 10.31857/S0134347520010118

В настоящее время Сахалинская область, где воспроизводство тихоокеанских лососей имеет вековую историю (Живоглядов, 2012), является единственным регионом России, в котором выращивают молодь горбуши. Однако сведения о роли рыбоводных заводов в формировании промыслового стада этого вида довольно противоречивы. С одной стороны, опубликована информация об эффективности работы горбушевых рыбоводных заводов в Сахалинской области (Романчук, 1999; Коряковцев, 2001; Хованский, 2005) и о повышении выживаемости заводских рыб после перехода заводов на современную биотехнологию, предусматривающую кратковременную подкормку молоди перед выпуском (Тарасюк, Тарасюк, 2007), а также о недооценке роли искусственного воспроизводства в общем формировании стада горбуши (Хоревина, Хоревин, 2004). С другой стороны, влияние заводского воспроизводства на динамику улова горбуши ставится под сомнение (Каев, 2010а); высказано мнение о пониженной жизнеспособности заводской молоди горбуши по сравнению с молодью от естественного нереста (Стекольщикова, 2015). С последним трудно согласиться, так как, во-первых, у молоди горбуши, выращенной на рыбоводных заводах, ни на цитоморфологическом уровне (Обухов и др., 2005), ни при анализе ионорегуляции (Grant et al., 2009, 2010) не выявлены признаки одомашнивания. Во-вторых, не вызывает сомнения роль заводского воспроизводства в формировании крупных стад кеты (Любаева и др., 1999; Mayama, Ishida, 2003; Кловач и др., 2018), а это самый близкородственный горбуше вид среди тихоокеанских лососей (Осинов, 1999).

При оценке жизнеспособности горбуши нельзя исключить возможность методической погрешности. Как известно, подсчет молоди, скатывающейся с естественных нерестилищ, проводят на участках контрольных рек, или контрольно-наблюдательных станциях. Затем данные, полученные для нескольких водотоков, экстраполируются на весь нерестовый фонд (Антонов, 2006; Каев и др., 2011). В настоящее время этот метод является единственно возможным способом оценки численности природной молоди горбуши, необходи-

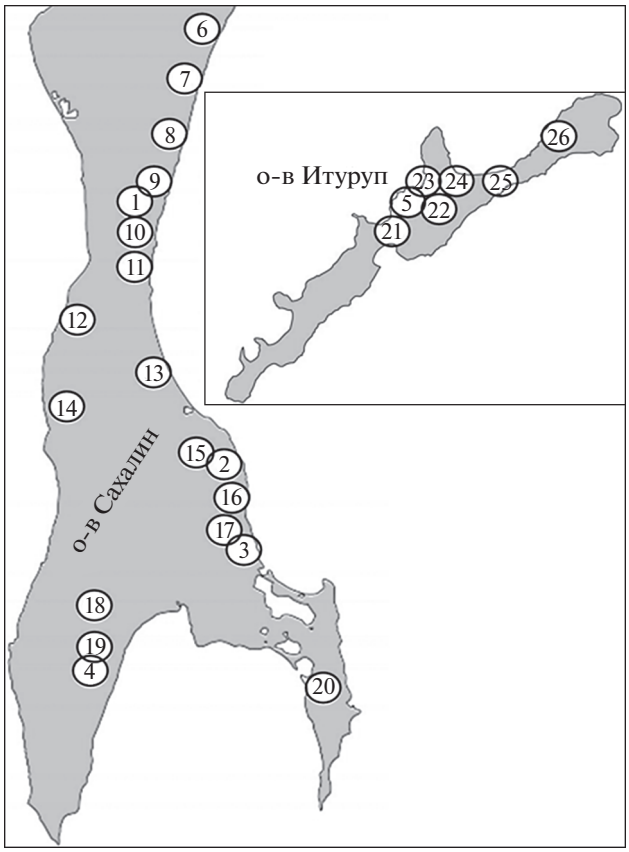

Рис. 1. Места отлова молоди горбуши в реках и на рыбоводных заводах Сахалина и о-ва Итуруп. Реки: 1 – Пугачевка, 2 – Бахура, 3 – Очепуха, 4 – Таранай, 5 – Рыбацкая; рыбоводные заводы: 6 – Нитуй, 7 – Поречье, 8 – Лазовой, 9 – Пугачевский, 10 – Тихая, 11 – Мануй, 12 – Урожайный, 13 – Фирсовка, 14 – Красноярка, 15 – Бахура, 16 – Долинка, 17 – Лесной, 18 – Анивский, 19 – Таранайский, 20 – Монетка, 21 – Куйбышевский, 22 – Курильский, 23 – Китовый, 24 – Бухта Оля, 25 – Рейдовый, 26 – Скальный. На схеме отсутствует завод Тымовское, расположенный в центральной части о-ва Сахалин.

мым для прогнозирования численности производителей. Однако его применение показывает, что подсчитать заводскую и природную молодь горбуши с одинаковой точностью методически невозможно, так как при подсчете численности заводской молоди экстраполяцию данных не применяют.

Предлагаемый нами подход, не отрицая существующих методов исследования, предусматривает комплексный сравнительный морфофизиологический анализ заводской и природной молоди. Отметим, что все лососевые рыбоводные заводы (ЛРЗ) в Сахалинской области были построены или перестроены в течение последних 25 лет и приобрели новые технические характеристики.

Цель данной работы – сравнить темпы роста, размерную разнокачественность, динамику потребления желтка, состояние печени и разных отделов пищеварительного тракта у природной молоди из ряда рек и у заводской молоди, отобранной на всех рыбоводных заводах. Мы полагаем, что полноценная заводская молодь горбуши с точки зрения функционирования систем жизнеобеспечения при прочих равных условиях должна иметь такие же возможности для выживания, как молодь от естественного нереста.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Изучали природную молодь горбуши, которую отлавливали в пяти реках ночью во время ската, и заводскую молодь первой партии, отобранную непосредственно перед выпуском на 22 рыбоводных заводах, на которых в 2016 и 2017 гг. в Сахалинской области выращивали горбушу (рис. 1). У всех мальков от естественного нереста и у большинства заводских мальков анализировали размерно-возрастные ряды. При исследовании молоди с пяти рыбоводных заводов (Анивский, Тымовское, Скальный, Курильский и Рейдовый) использовали результаты анализа, проведенного рыбоводами перед ее выпуском с этих предприятий.

Для гистофизиологического исследования по 50 мальков из каждой партии природной и заводской молоди фиксировали в жидкостях Буэна или Серра. У фиксированных особей выделяли весь комплекс внутренних органов, который обрабатывали по традиционной гистологической методике (Микодина и др., 2009). Для каждой особи делали по 80–120 серийных поперечных срезов в области печени, кардиального и пилорического отделов желудка, средней кишки и пилорических придатков. Срезы окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну. Всего были выделены и гистологически обработаны комплексы внутренних органов 523 особей. Оценивая состояние печени, у каждого малька на трех случайно взятых участках печеночной паренхимы площадью 0.02 мм^2 подсчитывали число гепатоцитов; результаты трех подсчетов усредняли.

Полученные данные обрабатывали статистически. Достоверность различий средних показателей определяли с использованием *t*-критерия Стьюдента. Размерно-массовые параметры мальков из разных мест отлова сравнивали, применяя непараметрический критерий Манна–Уитни. Взаимосвязь между суммарным количеством полученного молодью тепла и массой рыб оценивали с помощью коэффициента парной корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средняя масса тела мальков горбуши от естественного нереста варьировала от 191.4 мг в р. Бахура до 224.5 мг в р. Рыбацкая (табл. 1); полученные различия, оцененные с применением критерия Манна–Уитни, были достоверными ($p < 0.05$). Масса тела мальков заметно изменялась в одной реке и в разные годы. Так, в р. Очепуха в 2016 г.

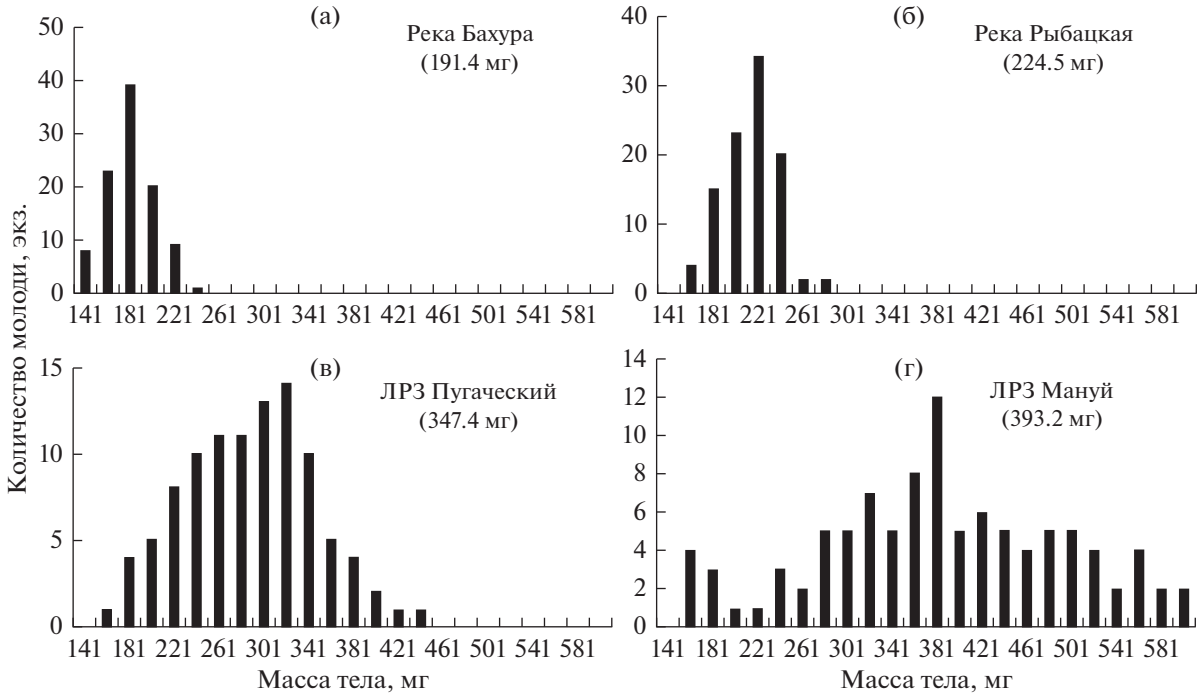

Рис. 2. Размерный ряд достоверно различающейся по массе молоди горбуши от естественного нереста из рек Бахура и Рыбацкая и с рыбоводных заводов Пугачевский и Мануй. В скобках указана средняя масса тела мальков.

масса тела мальков двух групп по 100 экз. в среднем составляла 200.8 и 199.8 мг, а в 2017 г. – 219.0 и 223.7 мг ($p < 0.05$; табл. 1). Размерный ряд в группах одновременно пойманных рыб был сравнительно коротким (рис. 2а, 2б). Например, масса тела молоди, выловленной в реках Бахура и Рыбацкая, варьировала соответственно от 141 до 236 мг и от 178 до 295 мг (табл. 1), а диапазон между наименьшим и наибольшим значениями составил около 100 мг.

Размерно-массовая характеристика заводской молоди была качественно иной. Во-первых, вся заводская молодь была значительно крупнее природной. Так, масса мальков горбуши, выловленных в реках Очепуха (06.06), Пугачевка (09.06) и Бахура (10.06), в среднем составляла соответственно 206.0, 191.4 и 195.8 мг, а масса заводской молоди, выпущенной в этот же день с находящихся на этих реках заводов (Лесной, Пугачевский и Бахура), составляла соответственно 349.0, 347.4 и 347.5 мг. Таким образом, масса тела у заводской молоди была на 70–80% больше, чем у мальков от естественного нереста. Во-вторых, масса тела заводских мальков из первых партий при выпуске в сходные сроки, но с разных предприятий, различалась несопоставимо более существенно, чем масса мальков от естественного нереста; она варьировала от 284.5 мг на Анивском ЛРЗ до 523.9 мг на Рейдовом ЛРЗ (табл. 1). И это без учета мальков с ЛРЗ Бухта Оля – одного из наиболее тепловодных заводов в Сахалинской области, на котором воспроизводят кету, но в 2015–2016 гг. в режиме производственного эксперимента выращивали также партию молоди горбуши.

По мере увеличения средней массы тела молоди встречались особи со все бóльшей массой тела. Однако в каждой группе сохранялись активно питающиеся мальки с индивидуально пониженным темпом роста, масса тела которых перед выпуском не превышала 200 мг. Именно поэтому размерные ряды заводских мальков оказывались значительно длиннее по сравнению с таковыми мальков от естественного нереста: чем больше была средняя масса тела рыб, тем шире был диапазон значений (рис. 2в, 2г). Следует отметить, что масса тела заводских мальков горбуши до начала кормления незначительно отличалась от массы тела мальков от естественного нереста. Перед выпуском в течение 2–4 нед. заводских рыб подкармливают и их масса быстро увеличивается. Например, на Лесном ЛРЗ в течение последних 10 сут выращивания масса тела мальков увеличилась с 246.5 до 349.0 мг (табл. 1). При этом масса тела мальков была тесно связана с суммой набранных ими градусо-дней ($r = 0.85$).

У всех мальков горбуши от естественного нереста в период ската сохранялся желточный мешок. У одних рыб он занимал до 30–40% поперечного среза через комплекс внутренних органов, а у других был практически полностью утилизирован и его можно было обнаружить только после гистологической обработки (рис. 3а). Состояние пилорического (рис. 3б) и кардиального (рис. 3в) отделов желудка у большинства рыб было харак-

Таблица 1. Размерно-массовая характеристика природной и заводской молоди горбуши

Место отбора молоди	Дата отбора	Длина рыб, мм		Масса тела, мг
		L	*l*	
Река				
Бахура*	10.06.16	–	–	191.4 (152–242)
Пугачевка*	09.06.16	–	–	195.8 (127–253)
Очепуха**	07.06.17	35.1 (32–39)	31.1 (29–34)	199.8 (164–255)
		35.4 (31–43)	31.3 (28–38)	200.8 (142–302)
Таранай	02.06.17	35.4 (31–38)	31.5 (29–34)	203.2 (149–251)
Очепуха**	27.05.16	35.1 (32–38)	31.2 (29–34)	219.0 (177–287)
		34.6 (31–39)	30.6 (27–35)	223.7 (161–318)
Рыбацкая	02.06.16	33.9 (31–36)	30.0 (27–32)	224.5 (178–295)
Лососевый рыбоводный завод				
Поречье	15.06.17	35.5 (30–42)	31.7 (27–37)	282.0 (165–420)
Анивский	30.05.16	38.7 (37–42)	34.6 (32–38)	284.5 (221–370)
Таранайский	30.05.16	38.2 (34–42)	34.5 (31–38)	284.8 (181–401)
Лазовой	10.06.16	39.0 (34–45)	34.6 (29–40)	295.6 (160–574)
Пугачевский	09.06.16	38.5 (29–45)	33.7 (26–40)	298.3 (169–456)
Долинка	16.06.16	40.0 (35–47)	35.3 (30–43)	307.0 (170–510)
Тымовское	20.06.16	38.5 (34–45)	34.1 (30–40)	314.1 (200–480)
Тихая	09.06.16	38.4 (30–47)	34.1 (26–42)	316.1 (170–580)
Красноярка	25.05.17	39.1 (31–45)	35.2 (30–42)	321.4 (169–583)
Скальный	20.06.16	35.1 (33–39)	32.4 (29–36)	333.2 (275–452)
Фирсовка	14.06.16	39.3 (34–45)	34.7 (29–40)	334.9 (160–488)
Курильский	10.06.16	39.1 (36–46)	35.1 (32–42)	346.2 (243–486)
Бахура	09.06.16	40.5 (34–48)	35.9 (30–44)	347.5 (191–547)
Лесной	27.06.16	33.9 (31–36)	30.0 (28–31)	246.5 (185–292)
	07.06.16	40.3 (35–48)	36.7 (31–45)	349.0 (182–563)
Урожайный	31.05.16	41.7 (35–49)	38.1 (32–44)	353.9 (181–572)
Нитуй	10.06.16	40.3 (39–42)	35.9 (35–38)	355.8 (193–547)
Монетка	31.05.16	41.4 (34–49)	37.0 (30–43)	383.3 (156–601)
Мануй	14.06.16	40.5 (32–50)	36.1 (28–45)	393.2 (165–616)
Куйбышевский	06.06.16	36.1 (30–43)	32.3 (25–39)	400.0 (201–633)
Китовый	10.06.16	40.7 (34–48)	36.8 (30–45)	428.1 (180–749)
Рейдовый	10.06.16	43.4 (36–51)	39.3 (32–47)	523.9 (257–819)
Бухта Оля	23.06.16	54.4 (43–67)	49.5 (39–62)	1201.1 (509–2088)

Примечание. *L* – длина тела от вершины рыла до конца средних лучей хвостового плавника (по Смитту); *l* – длина тела от вершины рыла до конца чешуйчатого покрова. *Фиксация материала в жидкости Серра привела к деформации хвостового плавника, что не позволило измерить длину тела молоди. **Из р. Очепуха в 2016 и 2017 гг. для анализа отловлено по 200 экз. рыб; в таблице эти данные представлены как две группы по 100 экз.

терным для непитающейся молоди: высокие складки пищеварительного эпителия практически закрывали внутренний просвет; в основании складок кардиального отдела желудка находились анатомически сформированные пищеварительные железы (рис. 3в). Однако в каждой из рек среди природных мальков были найдены особи, перешедшие на экзогенное питание: даже при отсутствии пищи в пищеварительном тракте стенка их желудка оставалась растянутой, а складки пищеварительного эпителия были расправленными (рис. 3г). У всех мальков в складках пищеварительного эпителия передней расширенной части средней кишки присутствовали отдельные бокаловидные слизевые клетки (рис. 3д). В яичниках всех исследованных рыб практически заверши-

Таблица 2. Число ядер гепатоцитов на 0.02 мм^2 площади печеночной паренхимы у мальков горбуши, выловленных в период ската в четырех реках и взятых перед выпуском на ближайших лососевых рыбоводных заводах (ЛРЗ) ($M \pm m$; диапазон значений)

Река	Количество ядер, экз.	Завод	Количество ядер, экз.
Очепуха	5.36 ± 0.26 (4.44–6.15)	Лесной, 27.05	4.83 ± 0.38 (3.08–5.81)
		Лесной, 07.06	4.48 ± 0.37 (2.74–7.18)
Бахура, 01.06.	6.96 ± 0.51 (4.79–8.54)	Бахура	6.04 ± 0.34 (4.79–7.52)
Бахура, 10.06.	5.76 ± 0.59 (3.41–7.87)		
Пугачевка	6.55 ± 0.46 (5.47–7.87)	Пугачевский	5.53 ± 1.04 (3.79–8.51)
Рыбацкая	5.81 ± 0.71 (3.41–8.54)	Курильский, Китовый*	4.86 ± 0.75 (3.08–6.84)

Примечание. На р. Рыбацкая нет рыбоводного завода; ближе всего к этой реке на о-ве Итуруп расположены ЛРЗ Курильский и Кетовый.

лось формирование единственной генерации ооцитов периода превителлогенеза (рис. 3е). Половые клетки более ранних стадий развития – гонии и ооциты периода ранней профазы мейоза – присутствовали как исключение.

При анализе состояния печени среди групп молоди из каждой реки выявили широкую вариацию организации печеночной паренхимы. У одних рыб в гепатоцитах практически отсутствовали жировые включения, а ядра клеток располагались сравнительно плотно – до 8–9 на единицу площади среза печени (рис. 4а). У других рыб печень выглядела как ажурная из-за высокого содержания жировых включений (рис. 4б), а число ядер на единицу площади было в 2–3 раза меньше.

В отличие от природной молоди, все заводские мальки активно питались. В пилорическом (рис. 5а) и кардиальном (рис. 5б) отделах желудка мальков присутствовала пища в разной степени переваривания; стенки обоих отделов были растянуты, а складки пищеварительного эпителия сравнительно низкими. В основании складок кардиального отдела желудка были видны железы в активном функциональном состоянии. Об этом, в частности, свидетельствовало то, что внутренний просвет на срезах пищеварительных желез был больше их боковых стенок (рис. 5в). В средней кишке выявлены не только отдельные бокаловидные клетки, но и их комплексы с высоким содержанием секрета (рис. 5г).

Гистологический анализ показал, что у мальков, взятых на каждом заводе, состояние печени существенно различалось. Жировые включения могли практически отсутствовать или присутствовать как в умеренном (рис. 5д), так и в значительном количестве. Мы подсчитали число ядер гепатоцитов у природных мальков и у рыб, отобранных на предприятиях, расположенных на тех же реках или неподалеку. В пределах всех групп наблюдалась широкая вариабельность по данному показателю, но среднее число гепатоцитов у рыб, взятых на разных заводах, статистически не различалось, как и среднее количество гепатоцитов у заводских и природных особей (табл. 2).

У всех мальков перед выпуском с рыбоводных предприятий сохранялся остаток желточного мешка (рис. 5е). При этом желток был обнаружен не только у сравнительно тугорослых рыб, масса тела которых перед выпуском не превышала 200–250 мг, но и у мальков с максимально высоким темпом роста, масса которых перед выпуском с заводов составляла 400–600 мг и более. Мы не можем судить, сохранялся ли запас желтка у очень крупных мальков с ЛРЗ Бухта Оля, масса тела которых достигала 1000 мг, поскольку у этих рыб обрабатывали не весь комплекс внутренних органов, а отдельно печень, гонады и разные отделы пищеварительного тракта.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя полученные данные, в первую очередь отметим, что масса молоди от естественного нереста в разных реках, а также в одной реке, но в разные годы может достоверно различаться. Очевидно, это свидетельствует о том, что условия развития в разных реках или в разные годы также оказываются различными, ведь масса рыб в течение сезона ската в одной реке в среднем не изменяется (Зеленников, Федоров, 2005). Казалось бы, масса тела заводских рыб, выращенных на разных ЛРЗ, различается более существенно, чем масса природной молоди из разных рек. Однако имеется обстоятельство, на которое следует указать особо. Молодь горбуши воспроизводят на наиболее холодноводных заводах или при наиболее холодноводных режимах, если предприятия обеспечены несколькими источниками водоснабжения и могут регулировать температуру воды. Таким образом, на многочисленных предприятиях создаются сходные термические условия для выращивания горбуши. В результате в начале–середине мая к началу кратковременной подкормки масса личинок горбуши на разных рыбоводных заводах в среднем оказывается сходной. При этом различия между наименьшим и наибольшим значениями у заводских и природных мальков близки.

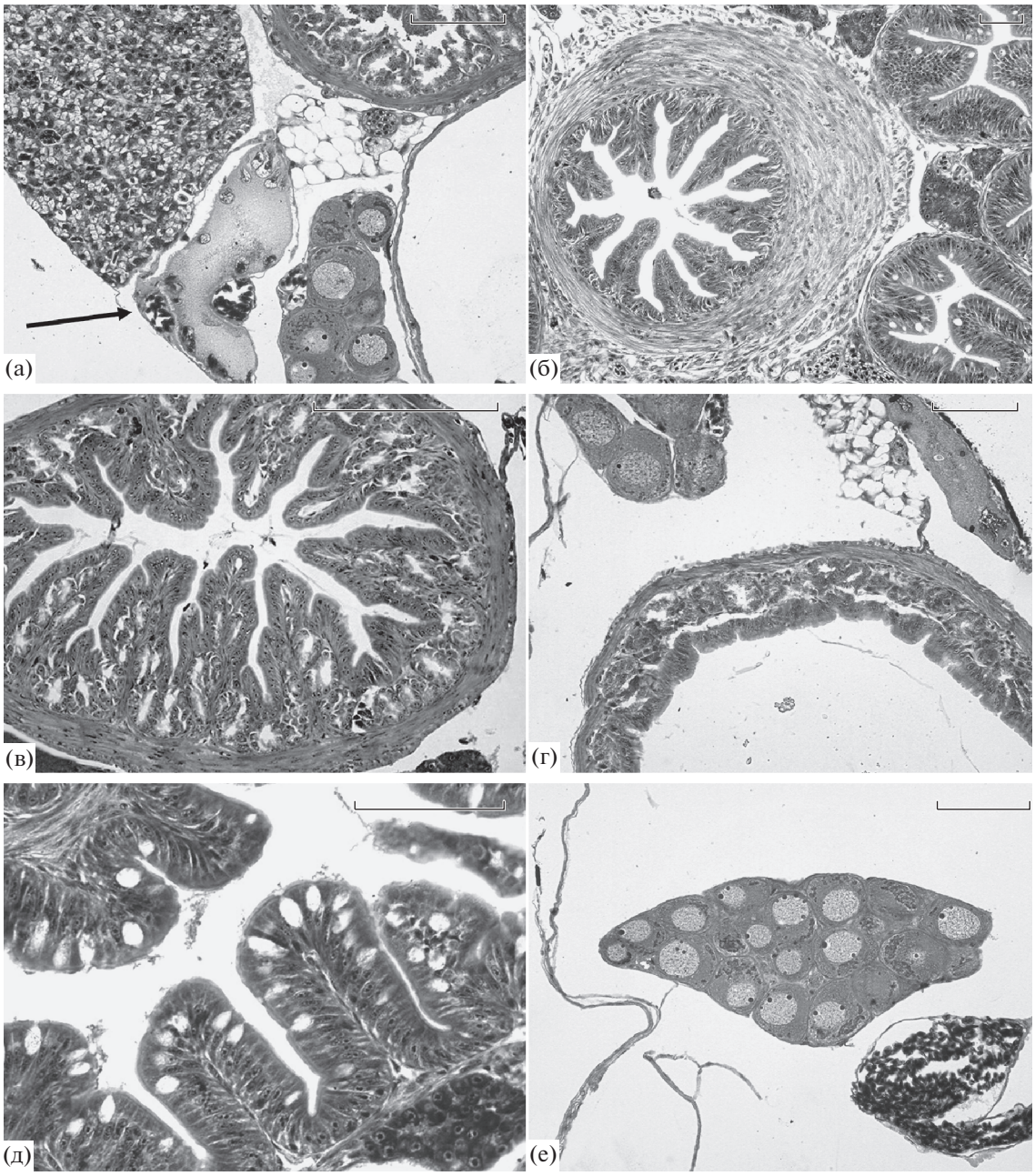

Рис. 3. Характерное состояние внутренних органов у мальков горбуши, отловленных в реках Бахура (а, г, е), Очепуха (б, в) и Рыбацкая (д). У всех особей обнаружен остаток желточного мешка (а – стрелка); у непитающихся мальков видны высокие складки пищеварительного эпителия в пилорическом (б) и кардиальном отделах желудка (в); у питающихся рыб складки в кардиальном отделе растянуты (г); слизевые клетки в составе пищеварительного эпителия переднего отдела средней кишки до начала экзогенного питания малочисленны (д); в яичниках всех самок ооциты периода превителлогенеза (е). Масштаб: а–г, е – 0.1 мм; д – 0.05 мм.

Температурные различия проявляются на завершающем этапе выращивания при повышении температуры речной воды. Поскольку молодь лососей характеризуется экспоненциальным ростом (Самарский, 2005), то именно условия выращивания в течение последних 2–4 нед., которые совпадают с периодом кормления, играют наиболее важную роль при увеличении массы тела. То, что увеличение размерного ряда не является особенностью заводских рыб, было установлено нами ранее при выращивании природной молоди горбуши на Анивском ЛРЗ (Зеленников, Федоров, 2005). Молодь от естественного нереста, как и заводская молодь, переходила на искусственное вскармливание и быстро росла, соответственно, увеличивался ее размерный ряд.

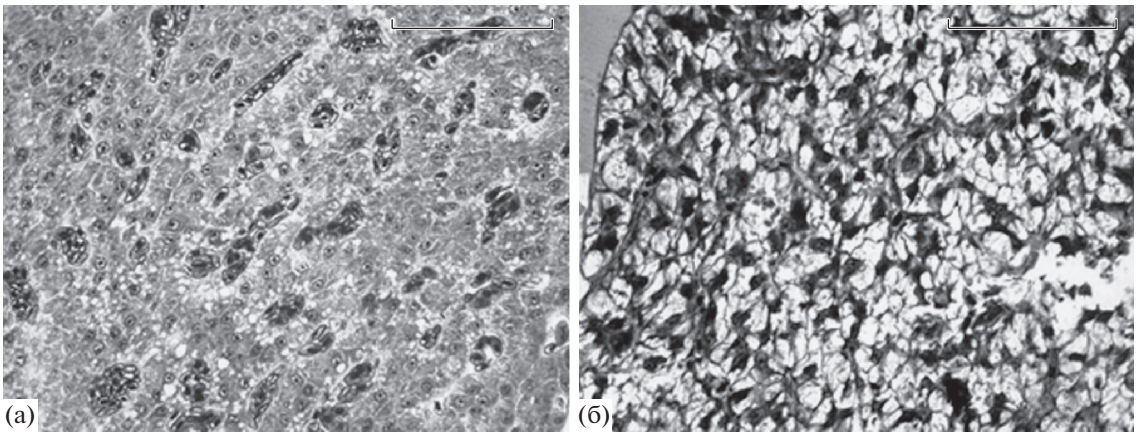

Рис. 4. Состояние печеночной паренхимы у мальков горбуши: а – в клетках печени относительно небольшое содержание жира (р. Бахура); б – в клетках многочисленные жировые включения (р. Рыбацкая). Шкала – 0.05 мм.

В результате нашего исследования установлено, что различия между заводской и природной молодью при современных условиях воспроизводства не столь существенны, как полагали ранее. Оказалось, что природная молодь горбуши переходит на экзогенное питание уже в пресной воде. И хотя факт питания молоди горбуши в пресной воде хорошо известен (Смирнов, 1975), мы полагали, что в сравнительно коротких сахалинских реках молодь этого вида не питается (Казарновский, 1962). В яичниках всех исследованных рыб завершилось формирование единственной генерации ооцитов периода превителлогенеза, что характерно для моноцикличных лососевых (Зеленников, 2003; Зеленников, Юрчак, 2019).

При оценке качества мальков специалисты в первую очередь обращают внимание на состояние печени. При этом от рыбоводов можно слышать определение “песочная печень”, характеризующее ее значительное ожирение. В результате анализа большого числа рыб нами установлено, что во всех группах пойманной одновременно природной молоди, как и в группах содержавшихся совместно одновозрастных заводских мальков, встречались разные варианты микроморфологической организации печени. В каждой группе присутствовали особи, в гепатоцитах которых практически отсутствовали включения, а также мальки с большим содержанием жировых включений.

Неожиданным оказалось обнаружение остатка желточного мешка у всех мальков, выращенных на горбушевых рыбоводных заводах, причем как у сравнительно тугорослых особей, так и у рыб с максимально высоким темпом роста. Поскольку кормить молодь горбуши начинают после того, как содержимое желточного мешка уменьшается до 5%, мы полагали, что с началом экзогенного питания желток потребляется полностью. Однако, если рассматривать желток как запас питательных веществ, то сохранение его остатка следует признать естественным. Можно полагать, что, получая пищу извне, организм малька способен зарезервировать ненужный на данный момент остаток желтка. Согласно последним данным, остаточный запас желтка у мальков горбуши играет важную роль в поддержании водного баланса при их попадании в морскую среду (Gallagher et al., 2013), так как становление системы осморегуляции у этих рыб завершается после выхода в прибрежье (Краюшкина и др., 1995).

С учетом выявленного сходства между природной и заводской горбушей рассмотрим два обстоятельства, относящихся к оценке выживания молоди этого вида. Во-первых, несмотря на то, что горбуша – доминирующий вид лососевых в Северной Пацифике (Ruggerone, Nielsen, 2004), в Сахалинской области в течение последних 20 лет количество выращиваемой молоди горбуши постепенно уменьшилось. При этом увеличился выпуск молоди кеты (Каев, 2010а; Живоглядов, 2012). Так, в 2017 г. из 52 ЛРЗ на 48 предприятиях воспроизводили кету, на 22 – горбушу и только на четырех предприятиях горбуша была единственным выращиваемым видом. Очевидно, что кета, обладающая более стабильным хомингом, оказывается экономически выгоднее горбуши. Однако очевидно и то, что при снижении численности заводской молоди горбуши уменьшается ее доля в промысловом стаде. Во-вторых, хорошо известна способность горбуши широко расселяться от родной реки (Смирнов, 1975; Agler et al., 2001; Мякишев и др., 2019), а в отдельные годы при определенных условиях совершать глобальные межрегиональные миграции (Глубоковский, Животовский, 1986). Эта особенность горбуши в полной мере проявилась при ее интродукции на европейский Север России, когда молодь, выпущенная в бассейне Белого моря, вернулась на нерест в реки от Исландии до побережья Карского моря (Исаев, 1961; Крупицкий, Устюгов, 1977; Дорофеева и др., 2006; Алексеев и др., 2008).

По совокупности полученных данных можно полагать, что заключение о пониженной жизнеспособности заводской молоди базируется на не-

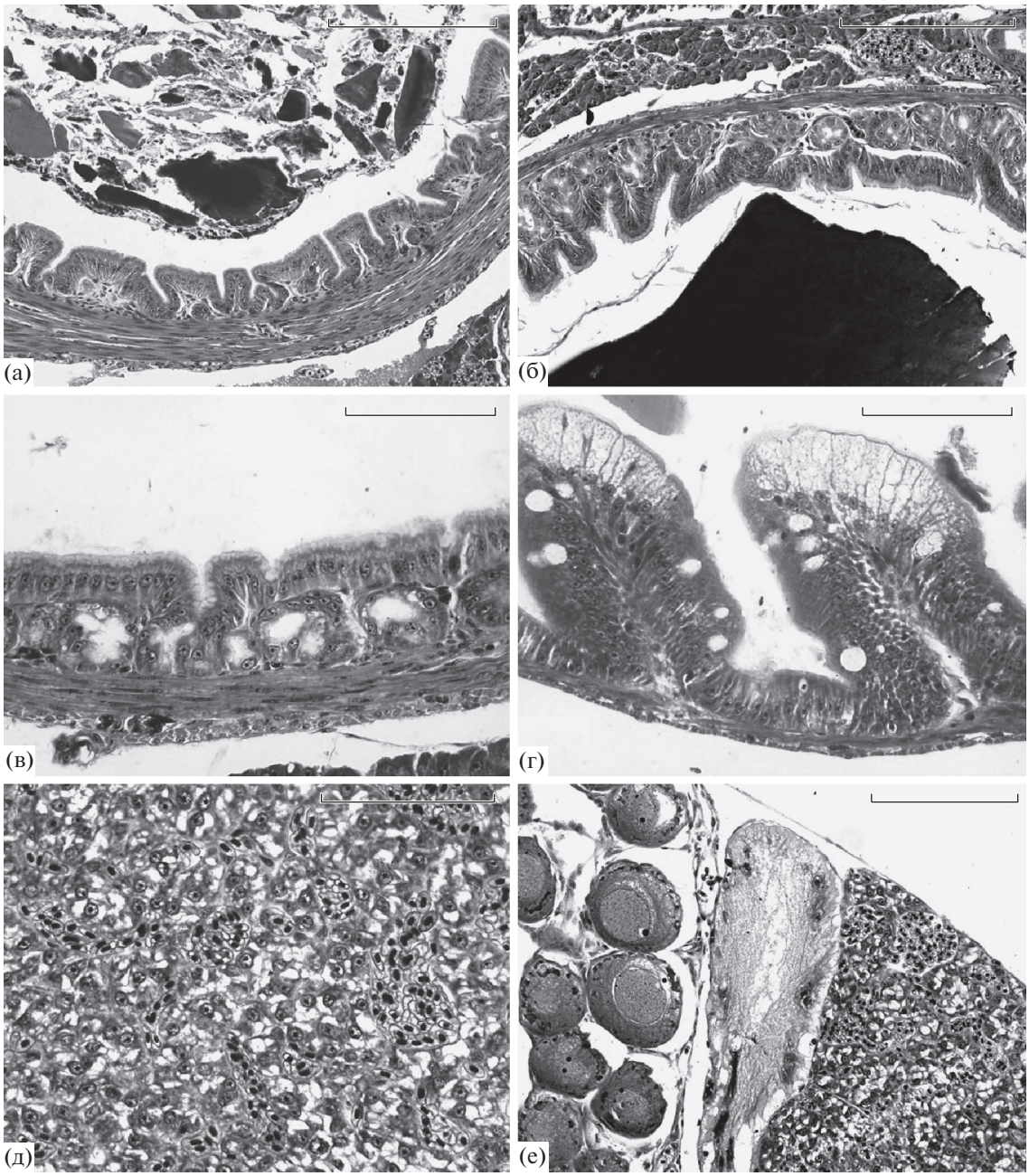

Рис. 5. Характерное состояние внутренних органов у питающихся мальков горбуши перед выпуском с ЛРЗ Лесной (а, б), Фирсовка (в), Бахура (г) и Мануй (д, е). Поперечный срез через пилорический (а) и кардиальный отделы желудка при наличии (б) и отсутствии (в) пищи, видны растянутые складки пищеварительного эпителия; г – срез через передний отдел средней кишки, клетки кишечного эпителия содержат значительное количество секрета; д – характерное состояние печени при умеренном содержании жировых включений; е – остаток желточного мешка у малька горбуши массой 445 мг, расположенный между яичником (слева) и участком печени. Масштаб: а, б, е – 0.1 мм; в, г, д – 0.05 мм.

преодолимых трудностях сравнительного подсчета численности заводских и природных мальков. Представляется очевидным, что если мы можем подсчитать, а сейчас и пометить (Kawana et al., 2001; Акиничева и др., 2012) всю заводскую молодь, то для природной молоди это невозможно. Специалисты, занимающиеся оценкой молоди, скатывающейся с естественных нерестилищ, указывают, что подсчет мальков даже в одной конкретной реке может сопровождаться большой ошибкой (Каев, 2010б). Мы не знаем, какова величина этой ошибки, но опубликованные данные позволяют получить представление о ее масштабе. В период с 13 мая по 1 июля 2014 г. по стандартной схеме был проведен учет ската природной и заводской молоди горбуши в р. Рейдовая. Согласно итогам учета, по реке скатилось 10.6 млн мальков. При этом известно, что с ЛРЗ Рейдовый, распо-

ложенного на реке в 11 км выше от места учета молоди, было выпущено 49.7092 млн мальков (Зеленихина и др., 2015). Следовательно, мальков (природных и заводских) по реке скатилось примерно в 5 раз меньше, чем было выпущено с рыбоводного завода. О тщательности выполненного специалистами ВНИРО учета говорит тот факт, что в статье приведены подробные данные не только за каждый день, но и за каждый час работы. Однако и численность рыбоводной продукции в течение года также неоднократно оценивается в ходе инвентаризации под контролем специалистов нескольких организаций. Несоответствие данных можно объяснить ошибкой, заложенной в методике проведения работ. Очевидно, эта ошибка многократно умножается при экстраполяции результатов, полученных для одной реки, на весь фонд естественных нерестилищ.

Исходя из высказанных соображений, можно заключить, что ни данные, полученные нами, ни сведения, имеющиеся в литературе, не позволяют выявить критерии, за счет которых заводская молодь могла бы быть менее жизнеспособной. Она крупнее, чем молодь от естественного нереста, активно питается и, как и природная молодь, имеет запас желтка, который, согласно литературным данным, несомненно, помогает ей перейти с искусственного вскармливания на самостоятельное питание.

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

Алексеев А.П., Дорофеева Е.А., Зеленников О.В. Проблемы и перспективы акклиматизации дальневосточной горбуши в бассейне Белого моря // Рыбоводство и рыб. хоз-во. 2008. № 8. С. 24–28.

Акиничева Е.Г., Шубин А.О., Стекольщикова М.Ю. Современное состояние исследований по маркированию и идентификации заводских лососей в Сахалино-Курильском регионе // Сб. науч. тр. СахНИРО. 2012. Т. 13. С. 83–90.

Антонов А.А. Результаты учета покатной молоди горбуши из рек Сахалина и южных Курильских островов в 2006 г. // Бюл. № 1 реализации “Концепции дальневосточной бассейновой программы изучения тихоокеанских лососей”. Владивосток: ФГУП “ТИНРО-центр”. 2006. С. 232–236.

Глубоковский М.К., Животовский Л.А. Популяционная структура горбуши: система флуктуирующих стад // Биол. моря. 1986. № 2. С. 39–44.

Дорофеева Е.А., Алексеев А.П., Зеленников О.В., Зеленков В.М. Дальневосточная горбуша в бассейне Белого моря // Рыб. хоз-во. 2006. № 6. С. 71–73.

Живоглядов А.А. Обзор исследований в области лососеводства Сахалина и Курил. Основные этапы, направления и проблемы // Сб. науч. тр. СахНИРО. 2012. Т. 13. С. 34–43.

Зеленихина Г.С., Ельников А.Н., Точилина Т.Г. Покатная миграция сеголетков горбуши и кеты в р. Рейдовой о. Итуруп (южные Курильские острова) в весенне-летний период 2014 г. // Тр. ВНИРО. 2015. Т. 158. С. 6–15.

Зеленников О.В. Сравнительный анализ состояния яичников у молоди тихоокеанских лососей в связи с проблемой становления моноциклии // Вопр. ихтиологии. 2003. Т. 43. № 4. С. 490–498.

Зеленников О.В., Федоров К.Е. Ранний гаметогенез горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum при ее естественном и заводском воспроизводстве на островах Сахалин и Итуруп // Вопр. ихтиологии. 2005. Т. 45. Вып. 5. С. 653–664.

Зеленников О.В., Юрчак М.И. Гаметогенез тихоокеанских лососей. 1. Состояние гонад у молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum при ее естественном и заводском воспроизводстве в Сахалинской области // Вопр. ихтиологии. 2019. Т. 59. № 6. С. 741–744.

Исаев А.И. Акклиматизация тихоокеанских лососей в Баренцевом и Белом морях // Вопр. ихтиологии. 1961. Т. 1. Вып. 1. С. 46–51.

Каев А.М. Значение заводского разведения горбуши и кеты для их промысла в Сахалинской области // Рыб. хоз-во. 2010а. № 5. С. 57–61.

Каев А.М. Методические аспекты количественного учета покатной молоди лососей в реках Сахалино-Курильского региона // Изв. ТИНРО. 2010б. Т. 162. С. 194–206.

Каев А.М., Антонов А.А., Захаров А.В. и др. К оценке покатной молоди горбуши в реках Восточного Сахалина и южных Курильских островов // Бюл. № 6 реализации “Концепции дальневосточной бассейновой программы изучения тихоокеанских лососей”. Владивосток: ФГУП “ТИНРО-центр”. 2011. С. 112–117.

Казарновский М.Я. Питание покатной молоди горбуши и мальмы в реках Сахалина // Рыб. хоз-во. 1962. № 6. С. 24–25.

Кловач Н.В., Леман В.Н., Ельников А.Н., Вараксин И.А. Воспроизводство и промысел кеты о. Итуруп (южные Курильские острова): прошлое, настоящее и будущее // Рыб. хоз-во. 2018. № 6. С. 42–47.

Коряковцев Л.В. Эффективность работы горбушевых рыбоводных заводов Сахалина // Рыб. хоз-во. 2001. № 6. С. 36–37.

Краюшкина Л.С., Степанов Ю.И., Семенова О.Г., Панов А.А. Функциональное состояние осморегуляторной системы молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в речной (предмиграционный) и морской (миграционный) периоды жизни // Вопр. ихтиологии. 1995. Т. 35. № 3. С. 388–393.

Крупицкий Ю.Г., Устюгов А.Ф. Горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) в реках севера Красноярского края // Вопр. ихтиологии. 1977. Т. 17. № 2. С. 360–363.

Любаева Т.Н., Любаев В.Я., Сидорова С.В. Формирование заводских популяций кеты и их вселение в естественную среду (на примере Охотского ЛРЗ) // Вопросы взаимодействия естественных и искусственных популяций лососей: Материалы Российско-американской конф. по сохранению лососевых. Хабаровск. 1999. С. 70–79.

Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д. и др. Гистология для ихтиологов: опыт и советы. М.: Изд-во ВНИРО. 2009. 112 с.

Мякишев М.С., Иванова М.А., Зеленников О.В. К вопросу о мечении молоди лососей и эффективности работы рыбоводных заводов // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 5. С. 342–348.

Обухов Д.К., Затулякин А.В., Обухова Е.В., Королева Т.В. Влияние среды на формирование ЦНС молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb., 1792) // Структурно-функциональные особенности биосистем Севера (особи, популяции, сообщества): Материалы международ. конф. Петрозаводск. 26–30 сент. 2005. Ч. 2. С. 61–64.

Осинов А.Г. Лососевые рыбы *Salmo, Parasalmo* и *Oncorhynchus*: генетическая дивергенция, филогения и классификация // Вопр. ихтиологии. 1999. Т. 39. № 5. С. 595–611.

Романчук Е.Д. Взаимодействие смешанных популяций горбуши искусственного и естественного воспроизводства в Сахалино-Курильском бассейне // Вопросы взаимодействия естественных и искусственных популяций лососей: Материалы Российско-американской конф. по сохранению лососевых. Хабаровск. 1999. С. 96–102.

Самарский В.Г. Формирование размерного состава молоди кеты и структуры ее чешуи в условиях искусственного воспроизводства: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 2005. 24 с.

Смирнов А.Н. Биология, размножение и развитие тихоокеанских лососей. М.: МГУ. 1975. 336 с.

Стекольщикова М.Ю. Некоторые результаты мониторинга заводских стад горбуши зал. Анива (о. Сахалин) // Изв. ТИНРО. 2015. Т. 183. С. 51–60.

Тарасюк Е.В., Тарасюк С.Н. Оценка влияния подращивания молоди горбуши на ее возврат // Динамика численности тихоокеанских лососей и прогнозирование их подходов: Международ. науч. конф. Южно-Сахалинск, 3–5 окт. 2007. С. 35–36.

Хованский И.Е. Эколого-физиологические и биотехнологические факторы эффективности лососеводства: на примере искусственного разведения тихоокеанских лососей на северном побережье Охотского моря: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Хабаровск. 2005. 47 с.

Хоревина Н.Б., Хоревин Л.Д. Эффективность и значение искусственного разведения тихоокеанских лососей в Сахалино-Курильском регионе // Тр. международ. форума по проблемам науки, техники и образования. М. 2004. С. 22–23.

Agler B.A., Hagen P.T., Scott J.R. et al. Wandering pink salmon: 1999 and 2000 thermal mark recoveries in Southeast Alaska // NPAFC Tech. Rep. 2001. № 3. P. 47–49.

Gallagher Z.S., Bystriansky J.S., Farrell A.P., Brauner C.J. A novel pattern of smoltification in the most anadromous salmonid: Pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 2013. V. 70. № 3. P. 349–357.

Grant A.M., Gardner M., Hanson L.M. et al. Early life stage salinity tolerance of wild and hatchery-reared juvenile pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* // J. Fish. Biol. 2010. V. 77. № 6. P. 1282–1292.

Grant A.M., Gardner M., Nendick L. et al. Growth and ion-oregulatory ontogeny of wild and hatchery-raised juvenile pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Can. J. Zool. 2009. V. 87. № 3. P. 221–228.

Kawana M., Urawa S., Hagen P., Munk K.M. High-seas ocean distribution of Alaskan hatchery pink salmon estimated by otolith marks // NPAFC Tech. Rep. 2001. № 3. P. 27–30.

Mayama H., Ishida Y. Japanese studies on the early ocean life of juvenile salmon // NPAFC Bull. 2003. № 3. P. 41–67.

Ruggerone G.T., Nielsen J.L. Evidence for competitive dominance of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) over other salmonids in the North Pacific Ocean // Rev. Fish Biol. Fish. 2004. V. 14. № 3. P. 371–390.

Comparative Characteristics of Naturally Produced and Hatchery-Reared Juvenile Pink Salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792), from Sakhalin Oblast

O. V. Zelennikov[a], K. A. Proskuryakov[b], G. S. Rudakova[c], and M. S. Myakishev[c]

[a]*St. Petersburg University, St. Petersburg 199034, Russia*

[b]*OOO Salmo, Yuzhno-Sakhalinsk 693006, Russia*

[c]*Sakhalin Branch, FGBU Glavrybvod, Yuzhno-Sakhalinsk 693006, Russia*

The body size and weight characteristics were analyzed and the morpho-physiological condition of the system of internal organs was studied in wild juvenile pink salmon caught from five rivers during downstream migration, as well as in hatchery-reared juveniles collected prior to release at all 22 salmon hatcheries of Sakhalin Oblast where they were produced in 2016 and 2017. It was found that body weight of wild juvenile pink salmon from different rivers and in different years varied significantly. Hatchery-reared fry before release were on average 1.5–2.5 times larger than wild juveniles; at different hatcheries, the body weight of fry closely correlated with the sum of accumulated degree-days. All fry from natural spawning grounds during the downstream migration had remnants of a yolk sac, although some of them were actively feeding already in fresh water. Hatchery-reared fry, irrespective of their growth rate, also retained yolk-sac remnants before release. In all groups of wild and hatchery-reared juveniles, different variants of the micromorphological organization of hepatic parenchyma were identified.

Keywords: Sakhalin Island, Iturup Island, fish hatcheries, pink salmon

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 24–31

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 597.56;591.4;591.542:551.51:569:574.9

ОСТЕОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *IPNOPS AGASSIZII* GARMAN, 1899 (AULOPIFORMES: IPNOPIDAE) С БАТИАЛЬНЫХ И УЛЬТРААБИССАЛЬНЫХ ГЛУБИН АВСТРАЛО-НОВОЗЕЛАНДСКОГО РАЙОНА С ЗАМЕЧАНИЯМИ О БИОГЕОГРАФИЧЕСКОМ ЗНАЧЕНИИ ДАННЫХ НАХОДОК

© 2020 г. В. П. Природина[1, *], А. В. Неелов[1]

[1]*Зоологический институт (ЗИН) РАН, Санкт-Петербург 199034, Россия*

**e-mail: antarct@zin.ru*

Поступила в редакцию 01.11.2018 г.
После доработки 17.05.2019 г.
Принята к публикации 30.05.2019 г.

На основании материала, полученного с батиальных и ультраабиссальных глубин (3020–5410 м), дано остеологическое описание глазного отдела головы и грудного пояса (по ализариновым препаратам) *Ipnops agassizii* Garman, 1899 (семейство Ipnopidae); приведено детальное описание осевого скелета и проанализированы особенности скелета плавников (по рентгенограммам). Описаны морфологические преобразования в скелете, возникшие как результат глубоководного образа жизни. Показан широкий диапазон функционально-морфологической специализации, которая носит адаптивный характер, направленный на приспособление к жизни на больших глубинах в контакте с дном. Плавниковые лучи непарных плавников и поддерживающие их элементы (соответственно интерневралии и интергемалии) имеют усиленные костные головки. Брюшные плавники находятся на вертикали окончания лучей грудного плавника несколько впереди от уровня середины туловища. Спинной плавник расположен далеко впереди от анального. Хвостовой стебель одинаково уплощен как латерально, так и дорсовентрально.

Ключевые слова: Ipnopidae, *Ipnops agassizii*, остеология, функционально-морфологическая специализация, распространение

DOI: 10.31857/S0134347520010088

Рыбы семейства Ipnopidae, как и представители некоторых других семейств, входящих согласно современной классификации в отряд Aulopiformes (Nelson, 2006), относятся к морским донным глубоководным видам, принадлежащим к батиально-абиссальной и ультраабиссальной (хадобентальной) ихтиофауне (Парин, 1988). Семейство включает 5 родов: *Bathypterois* Günther, 1878 (20 видов); *Ipnops* Günther, 1878 (3 вида); *Bathymicrops* Hjort, Koefoed, 1912 (5 видов); *Bathytyphlops* Norman, 1937 (4 вида) и *Discoverichthys* Merrett, Nielsen, 1966 (1 вид). Относящиеся к роду *Ipnops* виды локально распространены в Атлантическом (*I. murrayi* Günther, 1878), Индийском и Тихом океанах (*I. agassizii* Garman, 1899 и *I. meadi* Nielsen, 1966) (Gray, 1956; Nielsen, 1966; Sulak, 1977; Щербачев, 1980; Merrett, Nielsen, 1987; Johnson et al., 1996; McEachran, Fechhelm, 1998; Nelson, 2006; Franco et al., 2009, и др.). В ходе экспедиции НИС “Дмитрий Менделеев” (1975–1976 гг.) особи *Ipnops agassizii* впервые были обнаружены в приантарктических водах Австрало-Новозеландского района на ультраабиссальных глубинах 5400–5410 м. По итогам экспедиции опубликовано описание выловленных экземпляров *I. agassizii* и дана характеристика основных видовых признаков этого вида и вида *I.meadi* Nielsen, 1966 из коллекции Института океанологии РАН; проведено сравнение всех трех видов рода *Ipnops*, приведены сведения о их распространении (Щербачев, 1980).

Цель настоящей работы – на примере *I. agassizii* выявить морфологические преобразования в скелете, возникшие как результат глубоководного образа жизни рыб семейства Ipnopidae, уделяя основное внимание строению головной “костной пластинки”, скелета плечевого пояса и грудных плавников.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использован материал из западной части индо-тихоокеанской провинции (море Фиджи), Юго-Восточной Австралии (Большой Ав-

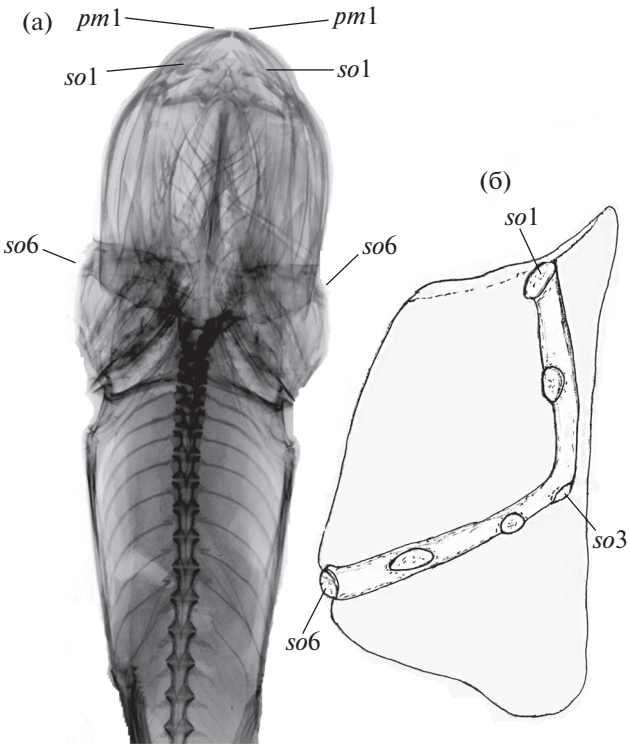

Рис. 1. Скелетные элементы *Ipnops agassizii* (ЗИН № 45333): а – рентгенограмма головы и передней части туловища до начала брюшных плавников; б – левая часть лобной костной пластинки и левая ветвь проходящего в ней надглазничного сенсорного канала (ализариновый препарат). *pm*1 – передняя пара пор предкрышечно-нижнечелюстного канала; *so*1, *so*3 и *so*6 – передняя, средняя и задняя поры левой ветви надглазничного канала.

стралийский залив, плато Натуралистов) и желоба Маккуори-Хьорт. Рыбы были выловлены донным тралом “Галатея” в 16-м рейсе НИС “Дмитрий Менделеев” в 1975–1976 гг. с участием одного из авторов настоящей статьи (В.П. Природиной).

Проанализированы следующие материалы, хранящиеся в коллекциях ЗИН РАН: *Ipnops agassizii* – № 45332, 1 экз. *SL* 74.6 мм, ст. 1263, южная часть моря Фиджи, 30°36′ ю.ш., 169°22′ в.д., гл. 3305–3470 м, 04.01.1976; колл. А.П. Андрияшев, В.П. Природина. – № 45333, 1 экз. *SL* 118.0 мм, ст. 1292, южная часть Маккуорийского желоба, 54°59′ ю.ш., 159°21′ в.д., гл. 5400–5410 м, температура 0.9°С, темно-коричневый алевритовый ил с обломками минералов, 25.01.1976; колл. А.П. Андрияшев, В.П. Природина. – № 45334, 2 экз. *SL* 62.0 и 117.0 мм, ст. 1365, Большой Австралийский залив, 34°26′ ю.ш., 128°12′ в.д., гл. 3870–3880 м, красная глубоководная глина, 26.02.1976; колл. А.П. Андрияшев, В.П. Природина. – № 45335, 5 экз., *SL* 55.5–132.3 мм, ст. 1254, южная часть моря Фиджи, 30°00′ ю.ш., 169°02′ в.д., гл. 3020–3060 м, 01.01.1976; колл. А.П. Андрияшев, В.П. Природина.

В плавниках подсчитывали число лучей и отмечали, на вертикали какого позвонка начинается первый луч плавника. Остеологию грудного плавника и его пояса, а также головной “костной пластинки” изучали на окрашенных ализариновых препаратах по методике, разработанной в лаборатории ихтиологии ЗИН РАН (Якубовский, 1970; Андрияшев и др., 1977).

В работе приняты терминология и порядок изложения материалов, использованные при описании внешней морфологии видов рода *Ipnops* (см.: Nielsen, 1966), примененные при изучении рыб других таксономических групп (Сазонов, 1986; Неелов, 1979; Природина, Цветков, 2016) и дополненные авторами данной статьи.

В статье приняты следующие сокращения: *SL* – стандартная длина рыбы; *D* – спинной плавник; *A* – анальный плавник; *P* – грудной плавник; *V* – брюшной плавник; *C* – хвостовой плавник, хвостовой стебель (расстояние от вертикали основания последнего луча анального плавника до конца чешуйного покрова); *aD* – антедорсальное расстояние; *aA* – антеанальное расстояние; *rad* – радиалии; *pu* – предуростилярный позвонок; *vert* – общее число позвонков, включая уростилярный; *U* – уростиль; *inn* – интерневралии, *inhm* – интергемалии. Сокращения, принятые при описании грудного пояса, осевого скелета и хвостового плавника, приведены в подписях к рисункам.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ipnops agassizii Garman, 1899 – иппопс Агассица

Синонимия. *Ipnops agassizii* Garman, 1899: 259, Pl. H. (figs. 2–2a) (Галапагосские острова, 2°34′ N, 92°06′ S, гл. 1360 fathoms). – Theisen, 1965: 17 (*Ipnops*, висцеральный скелет, головная пластина *Ipnops murrayi*). – Nielsen, 1966: 56–57, fig. 4 (лектотип MCZ 28501, выделен Нильсеном, без описания, рентген, состояние гонад и размножение, Индо-Пацифика, донный образ жизни, глубина 1392–2820 м). – Щербачев, 1980: 47–67 (описание вида, изменчивость, сравнительные данные, распространение). – Okiyama, 1981: 247–253 (личинка *SL* 13.9 мм в эпипелагиали и молодь 49 мм; ализариновое окрашивание). – Okiyama, 1984: 20 (поимка молоди ранней стадии онтогенеза, онтогенетическая вертикальная миграция). – Okiyama, 1986: 443–445, fig. 1, *SL* 55 мм (батипелагиаль, первая находка молодого экземпляра в толще воды на глубине 1810–1990 м, метаморфоз). – Sulak, 1986: 260–281 (род *Ipnops* в семействе Chlorophthalmidae, меристические признаки *I. agassizii* + *I. murrayi*).

Ipnops pristibrachium Fowler, 1943: 53–91 (биология, Филиппинский архипелаг и прилегающие регионы).

Диагноз. *Vert* 21–23 + 37 = 58–60 (61); лучей: *D* 9, *A* 14–16, *P* 13–15, *V* 8–7 (редко), *C* 21–22; жабер-

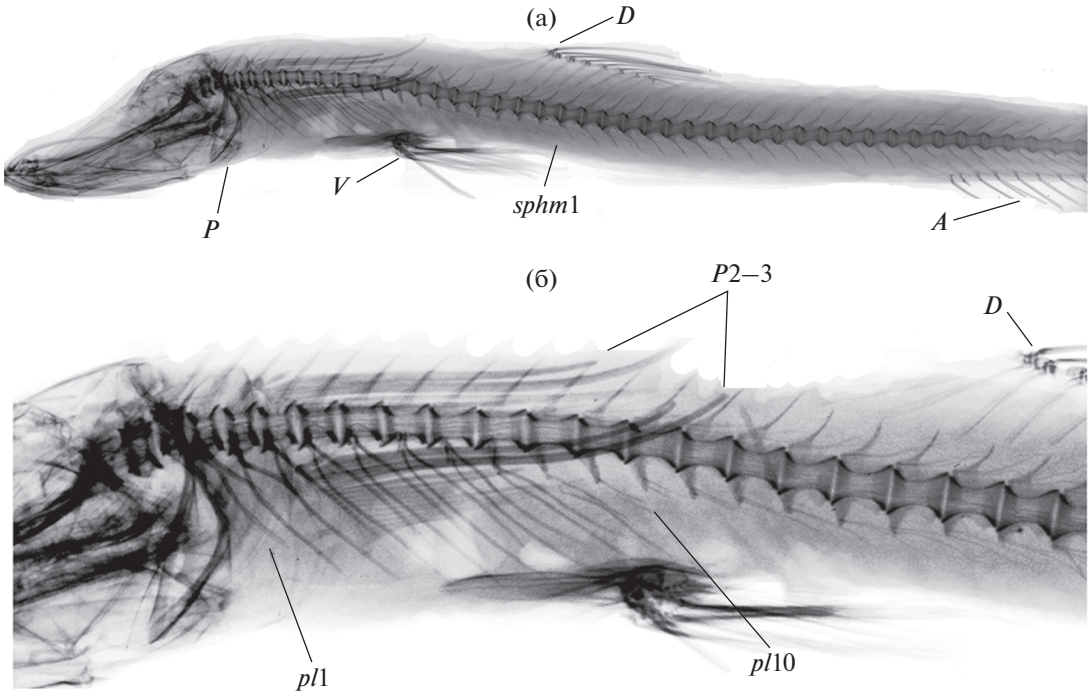

Рис. 2. Рентгенограмма передней части тела (а) *Ipnops agassizii* и расположение непарных плавников, плевральных ребер, грудного и брюшного плавников и 1–2-го лучей спинного плавника относительно друг друга (б). *D* – начало спинного плавника (лучи 1–2); *P* – грудной плавник; *A* – анальный плавник; *P*2–3 – удлиненные второй и третий лучи грудного плавника; *V* – брюшной плавник; *pl*1–10 – плевральные ребра; *sphm*1 – первый гемальный отросток.

ных тычинок 22–23, жаберные отверстия очень большие, снизу доходят до симфизиса нижних челюстей. У рыб стандартной длиной (*SL*) от 40 мм морфологически сформированные глаза отсутствуют, у пелагических личинок имеются.

В предкрышечно-нижнечелюстном канале 7 крупных пор (*pm*), открывающихся вниз; *pm*1 парные, так как каждый канал открывается самостоятельной порой, широко расставленные.

Грудных радиалий 4, слабо окостеневшие, радиальные вырезки имеются во второй и третьей радиалиях; верхний и нижний лучи *P* редуцированы, основные лучи грудного и брюшного плавников разветвляются только на самом конце. Первый луч *D* находится на вертикали 18–19-го позвонка; первый луч *A* расположен на вертикали 37–38-го позвонка. Основание *P* на уровне 3-го позвонка; основание *V* на уровне 12-го позвонка. Гипуральных пластинок в хвостовом отделе 5 (*H*1–*H*5); число краевых лучей *C* 1–2/2.

В процентах стандартной длины *SL* ширина головной "костной пластинки" составляет 9.3–13.6%; *aA* – 63.1–68.5%, *aD* – 34.1–40.3%, *aP* – 19.9–29.5%, *aV* – 26.9–31.5%, основание *D* – 6.4–11.0%, основание *A* – 16.4–19.6%, длина хвостового стебля – 14.1–18.2 (12.9)%, высота хвостового стебля – 2.8–4.6%.

Головная "костная пластинка" и осевой скелет

Расположенная на верхней части головы рыб "костная пластинка" – это сросшиеся левая и правая лобные кости. На ализариновых препаратах *I. agassizii* хорошо видны проходящие в ней два надглазничных канала, каждый из которых открывается шестью порами (*so*1–*so*6); задняя сторона лобных костей плотно срощена с теменными костями, шов между ними хорошо различим (рис. 1).

Общий вид осевого скелета *I. agassizii* до начала анального плавника представлен на рентгенограмме (рис. 2). Туловищный отдел позвоночника (рис. 2б) состоит из 21–23 туловищных позвонков; остистый отросток невральной дуги имеется уже на первом позвонке туловищного отдела; зигапофизы разной степени развитости имеются на всех позвонках. Первая interneurale (*inn*) спинного плавника внедряется между остистыми отростками 17-го и 18-го позвонков; перед первым лучом *D* может быть одна свободная *inn*; свободных interhaemalia (*inhm*) перед первым лучом анального плавника, как правило, нет; первая *inhm* анального плавника внедряется между гемальными отростками 37-го и 38-го позвонков (рис. 2а). Эпиневральные и эпиплевральные ребра у исследованных экземпляров имеются, начинаются с первого туловищного позвонка и присутствуют вплоть до 19–23-го позвонков. Истинных хорошо развитых плевраль-

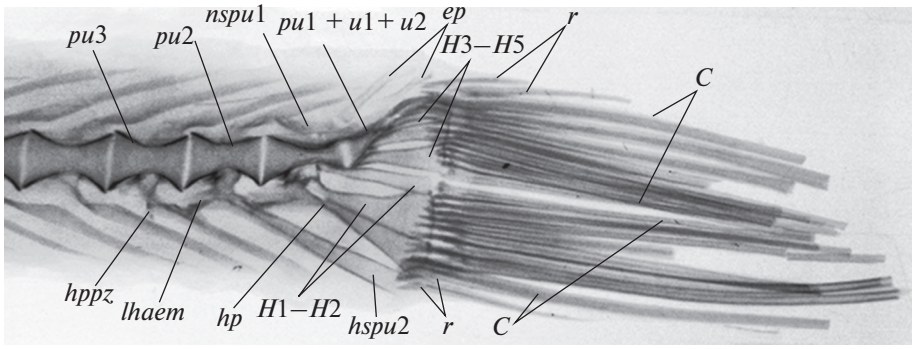

Рис. 3. Рентгенограмма хвостового комплекса *Ipnops agassizii*: *C* – основные лучи хвостового плавника; *H*3–*H*5 – эпаксиальная гипуральная пластинка; *H*1–*H*2 – гипаксиальная гипуральная пластинка; *ep* – epurale; *ph* – parhypuralia; *pu*1 и *pu*2 – преуральные центры 1 и 2; *pu*1 + *u*1 + *u*2 – уростилярный центр; *r* – верхние и нижние краевые лучи хвостового плавника; *hspu*2 – гемальный отросток центра *pu*2; *nspu*1 – редуцированный невральный отросток центра *pu*1; *lhaem* – каудальная гемальная пластинка; *hppz* – haemopostparapophysis.

ных ребер 10–11 пар; 3–8-я пары прикрепляются к телу позвонка над презигапофизом; 9–13-я расположены на парапофизах и постепенно смещаются к их вершине (рис. 2).

Хвостовой отдел позвоночника. Хвостовых позвонков 37 (рис. 2а, 3). Первый гемальный остистый отросток (*sphm*1) у данного вида отходит от гемальной дуги 22–24-го позвонков. Три последних (преуральных) позвонка (*pu*2–*pu*4) по сравнению с предыдущими хвостовыми позвонками несколько более удлиненные (рис. 3). Первый преуральный позвонок (*pu*2) имеет сложное строение: от него отходит длинный гемальный отросток, к которому причленяются два нижних краевых луча *C*. От проксимальной части гемального отростка этого позвонка, как у предшествующего и последующего (здесь от parhypurale) позвонков, отходит вниз вперед и назад костное образование, хорошо различимое на рентгенограммах; мы сочли возможным назвать его “каудальный гемальный отросток”. Невральная дуга последнего из этих позвонков у ипнопсов хорошо развита, и ее невральный отросток располагается над преуральным (*pu*2) и первым уральным (*u*1) центрами.

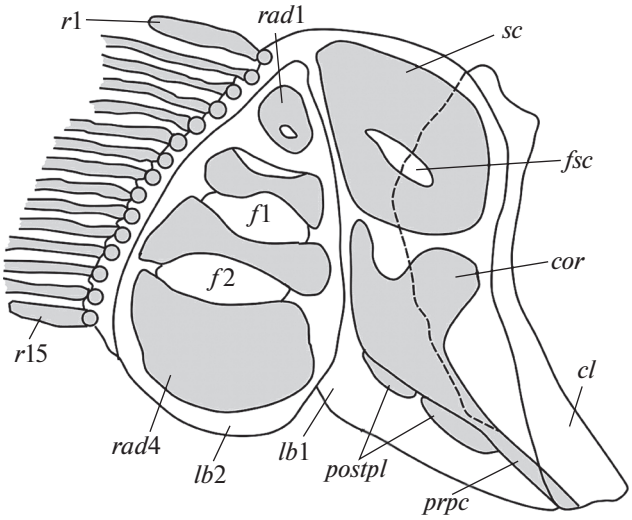

Рис. 4. Схема строения грудного пояса и грудного плавника *Ipnops agassizii*: *cl* – клейтрум; *lb*1 и *lb*2 – передняя и задняя базальные хрящевые пластинки; *sc* – лопатка; *fsc* – скапулярное отверстие; *cor* – коракоид; *prpc* – посткоракоидный отросток; *postpl* – ребра жесткости; *rad*1–*rad*4 – радиалии; *f*1 и *f*2 – межрадиальные отверстия; *r*1 и *r*15 – редуцированные лучи грудного плавника.

Уростилярный позвонок. Пять гипуральных пластинок (*H*1–*H*2 + *H*3–*H*5) служат опорой для 17–18 основных лучей хвостового плавника. Как видно на рентгенограмме (рис. 3), к уростилю причленяются верхние эпаксиальные гипуральные пластины *H*3–*H*5.

Особенностью уральных центра является наличие двух так называемых переходных зон, которые обозначают границу между *pu*1 и тонким изогнутым уростилем (первая зона), а также в уростилярном позвонке между *u*1 и *u*2 (вторая зона). К уральному центру *u*1 причленяются гипуралии *H*5, *H*4 и *H*3; наибольшая из них – *H*4. Над уростилем расположены 2 удлиненные и слабо обызвествленные epuralia; *ep*2 служит опорой для двух верхних краевых лучей. Гипаксиальные пластинки представлены *H*1 + *H*2 + parhypurale. Parhypurale плотно примыкает верхним краем к *H*1.

Непарные и парные плавники

Спинной плавник один, с 9 лучами, которые поддерживаются 9–10 interneuralia; его начало находится на вертикали между остистыми отростками 19-го и 20-го туловищных позвонков; перед первым очень коротким лучом плавника обычно

имеется свободная, слабо окостеневшая *inn*; первый и второй лучи *D* сближены (рис. 2а, 2б).

Анальный плавник. В анальном плавнике 14–16 лучей, которые поддерживаются 13–15 interhaemalia; анальный плавник значительно сдвинут назад, его первый луч находится на вертикали 37–38 позвонков (рис. 2а). Лучи анального плавника значительно расставлены друг от друга и поддерживаются срединной (хрящевой) частью *inhm*, которая имеет длинную заднюю часть, вплотную подходящую к следующей *inhm*, что и обусловливает раздвинутость лучей *A*. Последний луч *A* двойной, поддерживается единой *inhm*.

Хвостовой плавник. В хвостовом плавнике 21–22 луча (рис. 3), из которых 17–18 лучей основные, они поддерживаются гипуральными пластинками *H*1–*H*5, parhypurale и задней частью uroneurale; имеется только один или два верхних краевых луча, которые поддерживаются *ep*2, и 1–2 нижних краевых луча, их поддерживает гемальный отросток *pu*2. Между гипуральными пластинками *H*2 и *H*3 обычно расположен один луч, который, как правило, не связан ни с одной из пластинок. Формула хвостового плавника: 1–2 + + 8–9 + 1 + 8 + 2 = 21–22. На рентгенограмме (рис. 3) видно, что верхние 2–3 основных луча своими основаниями заходят далеко вперед над основными лучами *C*. Поддерживаемые *ep*2, своими основаниями они достигают почти половины уростиля, что отмечено у многих видов рыб с двулопастным хвостовым плавником (Gosline, 1995). Следует отметить, что первый верхний и последний нижний краевые лучи по величине и степени окостенения сходны с основными хвостовыми лучами. Лучи хвостового плавника слабо сегментированы; второй и третий основные лучи сверху и снизу слабо раздвоены.

Плечевой пояс и грудной плавник (рис. 4). В передней хрящевой базальной пластинке (*lb*1) хорошо различимы лопатка и коракоид, которые занимают практически всю ее площадь, оставляя свободными лишь узкие участки хряща по краю соприкосновения со второй пластинкой *lb*2. Коракоид полулунной формы, несет две небольшие разноразмерные рукоятки, каждая из которых независимо причленяется к клейтруму. В хрящевой базальной пластинке *lb*2 расположены четыре удлиненные радиалии (*rad*1–*rad*4). Две средние (*rad*2 и *rad*3) гантелеобразной формы, так как имеют глубокие верхние и нижние радиальные вырезки; размер радиалий увеличивается от верхней к нижней, самая маленькая верхняя (*rad*1) и самая крупная нижняя (*rad*4) имеют квадратно-округлую форму. *Rad*1 целиком примыкает к заднему краю лопатки; в ее центре имеется маленькое замкнутое отверстие, отсутствующее в трех других радиалиях. Все радиалии расположены близко друг к другу, так как мало раздвинуты хрящом базальной пластинки.

В грудном плавнике 13–15 лучей (рис. 2б). Второй и третий верхние лучи самые длинные, в дистальной части на внешней стороне несут 19–20 (22) бугорковидных мягких сосочков. Как правило, второй луч заканчивается бульбообразным расширением и его конец несколько загибается кверху; остальные лучи в прижатом состоянии направлены прямо назад вдоль тела. На рентгенограмме (рис. 2а) видно, что концы целых лучей плавника заходят за вертикаль 15–18-го туловищных позвонков и немного заходят за вертикаль основания первого луча спинного плавника, что хорошо видно и на теле рыбы.

Брюшные плавники. В брюшных плавниках 8, редко 7 лучей. Правый и левый плавники широко расставленные, расположены практически горизонтально по отношению к телу рыбы; основание их внешних лучей находится на вертикали между 11-м и 12-м туловищными позвонками; наиболее длинные срединные лучи плавника немного заходят за вертикаль третьего–четвертого луча спинного плавника (рис. 2а).

Распространение

Ipnops agassizii – батиально-абиссально-ультраабиссальный вид. Во время экспедиции НИС “Дмитрий Менделеев” (1975–1976 гг.) впервые пойман на ультраабиссальных глубинах 5400–5410 м в приантарктических водах. Ранее представители семейства Ipnopidae в данном регионе известны не были. Во время экспедиции рыбы этого вида были пойманы также на материковом склоне (батиаль) и практически на абиссальных глубинах в юго-западной части моря Фиджи и в Большом Австралийском заливе (плато Натуралистов) на глубине 3020–3880 м. Среди исследованных нами рыб три молодых экземпляра стандартной длиной (*SL)* 55, 62 и 74.6 мм выловлены донным тралом вместе со взрослыми рыбами на глубинах 3020–3880 м, причем экземпляр *SL* 55 мм находился в трале с самым крупным экземпляром среди пойманных представителей этого вида ипнопид (*SL* 132.3 мм).

ОБСУЖДЕНИЕ

Во взрослом состоянии рыбы рода *Ipnops* обладают уникальной и не встречающейся у других рыб анатомической особенностью – строением глазного отдела головы. Первая характеристика этого рода дана Гюнтером (Günther, 1880), который в диагнозе рода указал на наличие у рыб широкого уплощенного рыла, вся верхняя поверхность которого представляет собой продольно разделенный на две симметричные половины особенный орган зрения (или люминесценции);

он же заметил, что этот орган зрения, “по-видимому, потерял свою функцию и принял на себя функцию производства света” (Günther, 1880, с. 585), т.е. свечения. Давая характеристику ипнопид, Парин (1971) указал, что рыбы данного семейства вообще не имеют морфологически сформированных глаз; функция головных органов, расположенных под парными костными пластинками, осталась для автора неясной, хотя позднее он высказал мнение, что “так называемые глазные пластины исполняют роль светочувствительных органов” (Парин, 1988, с. 189).

По сути расположенная на верхней части головы “костная пластинка” – это сросшиеся левая и правая лобные кости, так как в каждой из них проходит надглазничный канал, хорошо и четко видимый на ализариновом препарате; при этом задняя сторона лобных костей плотно срощена с теменными костями. Эта слитая воедино лобно-теменная кость покрывает большие дорсально направленные “глаза” (Theisen, 1965), вернее, как показали гистологические исследования, особую аналогичную сетчатке глаза светочувствительную ткань или видоизмененную сетчатку (Theisen, 1965; Franco et al., 2009). Более подробно “костная пластинка” изучена по ализариновому препарату у *I. murrayi* (см.: Munk, 1959). Именно этот автор впервые выявил и показал наличие в ней суборбитальных (надглазничных) каналов, а также отметил наличие под боковым краем пластинки другого – инфраорбитального (подглазничного) канала, чем подтвердил предположение, высказанное ранее при характеристике рода *Ipnops* (Parr, 1928), что пластинка представляет собой не что иное, как лобные кости. Изучив строение “головной пластинки” по ализариновому препарату у *I. agassizii*, мы обнаружили проходящие в парных “пластинках” надглазничные каналы, каждый из которых открывается шестью порами (рис. 1). Как и у *I. murrayi* (см.: Theisen, 1965), оба канала начинаются и заканчиваются открытыми крупными порами *so*1 и *so*6 соответственно.

Изучение анатомических особенностей головы, осевого скелета, скелета парных и непарных плавников и хвостового комплекса *I. agassizii* позволило выявить морфологические преобразования этих структур в процессе специализации в связи с жизнью на глубине. Как и у всех видов рода, у *I. agassizii* имеются светочувствительные органы головы, покрытые прозрачными черепными костями. Особый интерес представляет то, что у личинки ипнопса *SL* 13.9 мм имеются большие латерально расположенные и еще морфологически не измененные настоящие глаза (Okiyama, 1981, с. 248, рис. 1). Изменение морфологии зрительного органа у донных глубоководных рыб во взрослом состоянии, скорее всего, обусловлено необходимостью лучшего восприятия слабого свечения организмов – объектов их питания, обитающих в придонно-пелагическом биоценозе. Эта уникальная особенность, а также большой рот с острыми тонкими мелкими зубами для удержания крупной добычи и хорошо развитые при ловле мелких объектов жаберные тычинки (рис. 2б) – признаки, присущие глубоководным аулопиформам, ведущим своеобразный образ жизни в полной темноте в условиях дефицита пищи на максимальных глубинах океана. К этому следует добавить и выявленный у данных рыб гермафродитизм (Marshall, Staiger, 1975; Helfmann et al., 1997; Davis, Fielitz, 2010).

Необходимо отметить редукционный характер скелета хвостового отдела плавника, который выражается в наличии лишь двух epuralia, сближенном положении parhypurale и hypurale1 и малом числе краевых лучей в верхней и нижней частях хвостового плавника – соответственно 1–2/2. На первом преуральном позвонке обнаружено отходящее вниз вперед и назад костное образование, хорошо различимое на рентгенограммах и названное нами каудальным гемальным отростком. Этот морфологический элемент пока не выявлен у других рыб (Monod, 1968; Kusaka, 1974). Однако сходный элемент на гемальной дуге последних туловищных позвонков описан у бычков-крючкорогов (Неелов, 1979: рис. 69, с. 105), а сильно уплощенные широкие гемальные отростки, как и невральные в виде пластин, имеются на последних хвостовых позвонках у скумбриевых рыб и тунцов (Hotta, 1961).

Для чрезвычайно специализированного рода *Ipnops*, к которому относится исследованный нами вид, характерно более сильное развитие костной составляющей, уменьшение хряща в грудном поясе и усиление окостенения поддерживающих элементов всех лучей непарных плавников при слабом окостенении структурных элементов позвонков (Sulak, 1977; наши данные). На примере рыб отряда Aulopiformes также показано, что лучи грудного плавника хорошо иннервируются в отличие от слабо иннервированных лучей брюшных и хвостового плавников, которые испытывают меньшую силовую нагрузку (Sulak, 1977).

Исследованный авторами материал по *Ipnops agassizii* добыт с батиальных и ультраабиссальных глубин (“хадаль” по: Андрияшев, 1979, 2003; “абиссо-хадобенталь” по: Парин, 1988). Анализ глубинного распределения *I. agassizii* выявил значительный диапазон его встречаемости по глубине (Щербачев, 1980). Известно, что в субтропической части западной Пацифики молодь *I. agassizii* (*SL* 42–55 мм) ловили в батипелагиали на глубине 1810–1990 м (Okiyama, 1986), а личинка *SL* 13.3 мм была поймана в эпипелагиали (Okiyama, 1981, 1984). Наиболее молодые экземпляры среди исследованных нами рыб были пойманы в самой нижней батиальной вертикальной зоне – в под-

ножии континентальной ступени (по: Андрияшев, 1979). Таким образом, молодые рыбы могут быть обнаружены как на абиссальных, так и на батиальных глубинах, а личинки разной стадии метаморфоза – в толще воды в эпи-, мезо- и бати-пелагиали. Поимка молоди ранней стадии развития этих глубоководных донных рыб позволяет говорить об онтогенетической вертикальной миграции рыб рода *Ipnops* и, возможно, других представителей семейства Ipnopidae (Okiyama, 1984).

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

Андрияшев А.П. О некоторых вопросах вертикальной зональности морской донной фауны // Биологические ресурсы Мирового океана. М.: Наука. 1979. С. 117–138.

Андрияшев А.П. Липаровые рыбы (Liparidae, Scorpaeniformes) Южного океана и сопредельных вод // Исслед. фауны морей. СПб.: Наука. 2003. Т. 53(61). 478 с.

Андрияшев А.П., Неелов А.В., Природина В.П. К методике изучения морфологии и систематики рыб сем. Liparidae // Зоол. журн. 1977. Т. 56. Вып. 1. С. 141–147.

Неелов А.В. Сейсмосенсорная система и классификация керчаковых рыб. Л.: Наука. 1979. 208 с.

Парин Н.В. Семейство Ипноповые (Ipnopidae) // Жизнь животных. Т. 4. Ч. 1: Рыбы. М.: Просвещение. 1971. С. 223.

Парин Н.В. Рыбы открытого океана. М.: Наука. 1988. 271 с.

Природина В.П., Цветков И.В. Остеологическая характеристика осевого скелета и пояса грудных плавников некоторых видов евразийских пресноводных рыб семейства Cottidae // Тр. Зоол. ин-та РАН. 2016. Т. 320. № 1. С. 71–83.

Сазонов Ю.И. Морфология и классификация рыб семейства Platytroctidae (Salmoniformes, Alepocephaloidei) // Тр. Ин-та океанол. 1986. Т. 121. С. 51–96.

Щербачев Ю.Н. Предварительный обзор индоокеанских видов семейства Chlorophthalmidae (Myctophiformes) // Рыбы открытого океана. М.: Ин-т океанол. АН СССР. 1980. С. 47–67.

Якубовский М. Методы выявления и окраски системы каналов боковой линии и костных образований у рыб in toto // Зоол. журн. 1970. Т. 49. Вып. 9. С. 1398–1402.

Davis M.P., Fielitz Ch. Estimating divergence of lizardfishes and their allies (Euteleostei: Aulopiformes) and the timing of deep-sea adaptations // Mol. Phylogenet. Evol. 2010. V. 57. P. 1194–1208.

Fowler H.W. Descriptions and figures of new fishes obtained in Philippine seas and adjacent waters by the United States Bureau of Fisheries Steamer "Albatross" // Contributions to the Biology of the Philippine Archipelago and Adjacent Regions. U. S. Natl. Mus. Bull. № 100. 1943. V. 14. Part 2. P. 51–91.

Franco M.A.L., Braga A.C., Nunan G.W.A., Costa P.A.S. Fishes of the family Ipnopidae (Teleostei: Aulopiformes) collected on the Brazilian continental slope between 11° and 23° S // J. Fish Biol. 2009. № 75. P. 797–815.

Garman S. Reports on an exploration off the West coasts of Mexico, Central and South America, and off the Galapagos Islands, in Charge of Alexander Agassiz, by the United States Fish Commission Steamer "Albatross," during 1891, Lieut. Commander Z.I. Tanner, U. S. N., Commanding. V. XXVI: The Fishes // Mem. Mus. Comp. Zool. Harvard College. 1899. V. XXIV. 431 p.

Gosline W.A. Function and structure in the paired fins of scorpaeniform fishes // Environ. Biol. Fishes. 1995. № 40. P. 219–226.

Gray M. The distribution of fishes found below a depth of 2000 meters // Fieldiana: Zool. 1956. V. 36. № 2. P. 75–337.

Günther A.C. An Introduction to the Study of Fishes. Edinburgh: Adam and Charles Black. 1880. P. 582–585.

Helfman G.S., Collette B.B., Facey D.E. The Diversity of Fishes. Maiden, Mass.: Blackwell Science Inc. 1997. P. 1–544.

Hotta H. Comparative Study of the Axial Skeleton of Japanese Teleostei // Tokyo: Nippon Gyogaku Shinkokai. 1961. 155 p.

Johnson G.D., Baldwin C.C., Okiyama M., Tominaga Y. Osteology and relationships of *Pseudotrichonotus altivelis* (Teleostei: Aulopiformes: Pseudotrichodontidae) // Ichthyol. Res. 1996. V. 43. P. 17–45.

Kusaka T. The Urohyal of Fishes // Tokyo: Univ. of Tokyo Press. 1974. XIV + 320 p.

Marshall N.B., Staiger J.C. Aspects of the structure, relationships, and biology of the deep-sea fish *Ipnops murrayi* (Family Bathypteroidae) // Bull. Mar. Sci. 1975. V. 25. № 1. P. 101–111.

McEachran J.D., Fechhelm J.D. Fishes of the Gulf of Mexico: Myxiniformes to Gasterosteiformes. Austin, Tex.: Univ. of Texas Press. 1998. V. 1. 1112 p.

Merrett N.R., Nielsen J.G. A new genus and species of the family Ipnopidae (Pisces, Teleostei) from the Eastern North Atlantic, with notes on its ecology // J. Fish Biol. 1987. V. 31. P. 451–464.

Monod T. Le complexe urophore des poissons téléostéens // Mem. Inst. Fondam. Afr. Noire. 1968. № 81. S. I-VI + I-705. 989 Figs. 3 Tabls.

Munk O. The eyes of *Ipnops murrayi* Günther, 1878 // Galathea Rep. 1959. V. 3. P. 79–87.

Nelson J.S. Fishes of the World. New York: John Wiley & Sons. 2006. 602 p.

Nielsen J.G. Synopsis of the Ipnopidae (Pisces, Iniomi) with description of two new abyssal species // Galathea Rep. 1966. V. 8. P. 49–75.

Okiyama M. A larval *Ipnops* and its possible metamorphosing process // Jpn. J. Ichthyol. 1981. V. 28. № 3. P. 247–253.

Okiyama M. Travel between surface and abyssal bottom during early life of the ipnopid fish: a risky migration? // Program and abstracts of 3rd international symposium on the early life history of fishes and 8th annual larval fish conference. University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, 6–10 May, 1984. P. 20.

Okiyama M. Bathypelagic capture of a metamorphosing juvenile of *Ipnops agassizi* (Ipnopidae, Myctophiformes) // Jpn. J. Icthyol. 1986. V. 32. № 4. P. 443–445.

Parr A.E. Deepsea fishes of the order Iniomi from the waters around the Bahama and Bermuda Islands: With annotated keys to the Sudididae, Myctophidae, Scopelarchidae, Evermannellidae, Omosudidae, Cetomimidae and Rondeletidae of the world // Bull. Bingham Oceanogr. Collect. 1928. V. 3. № 3. P. 1–193.

Sulak K.J. The systematics and biology of *Bathypterois* (Pisces, Chlorophthalmidae) with the revised classification of benthic myctophiform fishes // Galathea Rep. 1977. V. 14. P. 49–108.

Sulak K.J. Family No. 76: Chlorophthalmidae // Smith's Sea Fishes. M.M. Smith, Ph.C. Heemstra (eds.). Berlin: Springer-Verlag. 1986. P. 261–265.

Theisen B. On the cranial morphology of *Ipnops murrayi* Günther, 1878 with special reference to the relations between the eyes and the skull // Galathea Rep. 1965. V. 8. P. 7–20.

Osteological Features of *Ipnops agassizii* Garman, 1899 (Aulopiformes: Ipnopidae) from Bathyal and Abyssal Depths of the Australia–New Zealand Region, with Remarks on the Biogeographical Significance of These Findings

V. P. Prirodina[a] and A. V. Neyelov[a]

[a]*Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg 199034, Russia*

The osteological description of the ocular head region and the pectoral girdle (using alizarin-stained preparations) of *Ipnops agassizii* Garman, 1899 (family Ipnopidae) is made based on material collected from bathyal and ultra-abyssal depths (3020–5410 m). The detailed description of the axial skeleton is provided and features of the fin skeleton are analyzed (using X-ray films). The morphological transformations in the skeleton that occurred as a result of living at great depths are considered. A wide range of functional and morphological specializations, which have an adaptive pattern aimed at adaptation to deep-sea habitats in contact with the bottom, is shown. The fin rays of the unpaired fins and their supporting elements (respectively, interneuralia and interhaemalia) have reinforced bony heads. The pelvic fins are located at the vertical line through the tips of the pectoral fin rays, slightly anteriorly of the mid-body level. The dorsal fin is located far anteriorly of the anal fin. The caudal peduncle is equally flattened both laterally and dorsoventrally.

Keywords: Ipnopidae, *Ipnops agassizii*, osteology, functional and morphological specialization, distribution

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 32–36

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 576.316.7+597.584.4

КАРИОТИП СЕДЛОВИДНОГО БЫЧКА *MICROCOTTUS SELLARIS* (GILBERT, 1896) (COTTIDAE: MYOXOCEPHALINAE)

© 2020 г. И. Н. Морева*

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

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

Поступила в редакцию 11.12.2018 г.
После доработки 03.03.2019 г.
Принята к публикации 11.04.2019 г.

Впервые изучен кариотип седловидного бычка *Microcottus sellaris* (Gilbert, 1896) (семейство Cottidae) из Японского и Охотского морей. Кариотип стабилен, включает 42 хромосомы (2 метацентрические, 2 субметацентрические, 32 субтелоцентрические и 6 акроцентрических хромосом); число хромосомных плеч 46. Проведен сравнительный анализ основных признаков кариотипов *M. sellaris* и дальневосточных видов рода *Myoxocephalus* (япономорского и охотоморского *M. stelleri*, *M. brandtii*, *M. jaok*, *M. ochotensis* и *M. polyacanthocephalus*). Выявлены признаки, позволяющие дифференцировать *M. sellaris* от видов рода *Myoxocephalus*, и общие признаки, указывающие на их родство.

Ключевые слова: седловидный бычок, *Microcottus sellaris*, Японское море, Охотское море, кариотип

DOI: 10.31857/S0134347520010076

Род *Microcottus* относится к большой группе бычков-керчаков – к подсемейству Myoxocephalinae отряда скорпенообразных рыб (Scorpaeniformes). В состав рода входят матуанский бычок *M. matuaensis* Yabe, Pietsch, 2003, обитающий в прибрежных водах восточной части о-ва Матуа (центральные Курильские острова), и седловидный бычок *M. sellaris* (Gilbert, 1896), широко распространенный в северной части Тихого океана в Беринговом, Охотском и Японском (вдоль материка на юг до зал. Петра Великого) морях, а также у юго-восточной Камчатки, Курильских островов и в южной части Чукотского моря (Неелов, 1979; Yabe et al., 1983; Линдберг, Красюкова, 1987; Черешнев и др., 2001; Федоров и др., 2003; Соколовский и др., 2007; Парин и др., 2014; Mecklenburg et al., 2016; Fricke et al., 2018).

Сведения о биологии *M. sellaris* ограничены. Известно, что седловидный бычок ведет донный образ жизни, встречается в прибрежье на глубине от 0 до 60 м и переносит значительное опреснение (Неелов, 1979; Черешнев и др., 2001; Mecklenburg et al., 2002; Соколовский и др., 2011). Морфология *M. sellaris* достаточно хорошо изучена, однако данный вид обладает значительным морфологическим сходством с видами родов *Myoxocephalus* и *Porocottus* (Шмидт, 1950; Андрияшев, 1954; Неелов, 1979; Линдберг, Красюкова, 1987), вследствие этого единое мнение о его систематическом положении долгое время отсутствовало (Солдатов, Линдберг, 1930; Таранец, 1937; Matsubara, 1955).

После ревизии подсемейства Myoxocephalinae (Неелов, 1979) сравнительные морфологические исследования *M. sellaris* не проводились. Известна единственная работа, в которой описан *M. matuaensis* (см.: Yabe, Pietsch, 2003). Информация о поимке этого вида где-либо кроме о-ва Матуа в литературе отсутствует. Данных о молекулярно-генетических исследованиях представителей рода *Microcottus* нет. Кариотипы видов неизвестны.

Очевидно, для уточнения таксономической структуры рода *Microcottus* необходимы дальнейшие исследования, в том числе и кариологическими методами. Основные признаки кариотипов керчаковых рыб позволяют надежно дифференцировать близкородственные виды и устанавливать их родственные отношения. Признаки кариотипов могут быть использованы как дополнительные маркеры при решении таксономических задач в этой группе рыб, включающей много видов и форм с дискуссионным статусом и со сложной диагностикой. Эффективность их использования подтверждена результатами изучения видов родов *Myoxocephalus*, *Megalocottus* и *Enophrys* (Морева, Борисенко, 2015, 2017; Морева и др., 2017).

Цель настоящей работы – изучение кариотипа *M. sellaris* из Японского и Охотского морей и его сравнение с кариотипами дальневосточных видов рода *Myoxocephalus* для выяснения степени их ка-

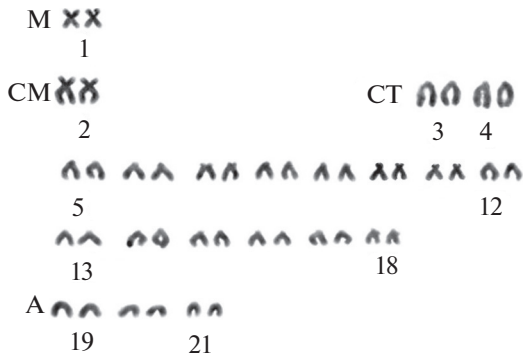

Рис 1. Кариограмма седловидного бычка *Microcottus sellaris* из Охотского и Японского морей: $2n = 42$, NF = 46. Условные обозначения: М – мета-, СМ – субмета-, СТ – субтело-, А – акроцентрические хромосомы. Увеличение: 10 × 100.

риологической дифференциации и уточнения родственных отношений видов этих родов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Изучены кариотипы восьми экземпляров вида *Microcottus sellaris* (3 самки, 3 самца и 2 неполовозрелые особи), пойманных в Японском море в зал. Восток с помощью сачка, в зал. Ольга мальковым неводом и в Охотском море в зал. Одян на удочку. Идентификацию особей проводили по внешним морфологическим признакам.

Материалом для работы послужили хромосомные препараты, приготовленные по методу воздушного высушивания (Kligerman, Bloom, 1977) с небольшими модификациями. Гипотонический раствор подогревали до температуры 37°С. Время гипотонирования суспензии было увеличено до 40 мин. Хромосомы окрашивали рутинно 4% раствором красителя Гимза (Giemsa), затем анализировали их качество под микроскопом и готовили серии препаратов для подробного анализа.

В метафазных пластинках выделяли хромосомы нескольких морфологических типов. Равноплечие метацентрические (М) и неравноплечие субметацентрические (СМ) хромосомы относили к двуплечим, субтелоцентрические (СТ) с очень коротким вторым плечом и акроцентрические (А) с невидимым вторым плечом – к одноплечим хромосомам. Для сравнительного анализа использовали описанные ранее кариотипы керчаков рода *Myoxocephalus*: снежного *M. brandtii*, охотского *M. ochotensis*, многоиглого *M. polyacanthocephalus*, дальневосточного *M. stelleri* и керчака-яока *M. jaok* (см.: Морева, Борисенко, 2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Описание кариотипа *Microcottus sellaris* составлено по результатам анализа 228 рутинно окрашенных метафазных пластинок. Кариотип содержит 42 хромосомы ($2n$), включает 2 М, 2 СМ, 32 СТ и 6 А хромосом; число хромосомных плеч (NF) – 46 (рис. 1).

Двуплечие хромосомы седловидного бычка представлены парой М хромосом (рис. 1, пара 1), которые хорошо идентифицируются во всех изученных метафазных пластинках. Пара 2 – крупные СМ хромосомы (рис. 1). Ряд одноплечих хромосом состоит из двух пар крупных СТ хромосом (рис. 1, пары 3 и 4). Эти хромосомы и СМ хромосомы пары 2 сходны по размеру, они значительно больше, чем М хромосомы пары 1. Остальные 14 пар СТ хромосом (пары 5–18) выделены в плавно уменьшающийся по размерам ряд. В порядке уменьшения размеров также расположены А хромосомы (рис. 1, пары 19–21).

Пары М, СМ хромосом и две пары крупных СТ хромосом хорошо идентифицируются во всех исследованных метафазных пластинках и рассматриваются нами как маркерные в кариотипе *M. sellaris*.

Изменчивости по числу и морфологии хромосом не обнаружено, различия между кариотипами самцов и самок не выявлены. Встречаемость отдельных клеток с меньшим или большим числом хромосом можно объяснить методическими погрешностями при изготовлении препаратов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологические признаки седловидного бычка характеризуются значительной изменчивостью. Вследствие этого экземпляры *Microcottus sellaris* из разных мест обитания описывали как отдельные виды. Среди них *Porocottus quadratus* Bean, 1898, который был выловлен в прибрежных водах о-ва Беринга (Командорские острова, Берингово море); *Myoxocephalus parvulus* Gilbert, Burke, 1912, пойманный в б. Преображения (северное Приморье) Японского моря и на литорали о-ва Медный (Командорские острова, Берингово море) (Линдберг, Красюкова, 1987; Парин и др., 2014; Fricke et al., 2018). Экземплярам, выловленным в прибрежье Шантарских островов, в Пенжинской губе и в северной части Охотского моря, был присвоен подвидовой статус: *Porocottus ochotensis sellaris* Schmidt, 1929 (Парин и др., 2014). Проведенное нами исследование *M. sellaris* из Охотского (Тауйская губа) и Японского (заливы Ольга и Восток) морей показало, что кариотипы особей идентичны: $2n = 42$, NF = 46 (рис. 1).

Несмотря на значительное морфологическое сходство *M. sellaris* и видов рода *Myoxocephalus*, седловидный бычок отличается от них отсутстви-

Таблица 1. Признаки кариотипов *Microcottus sellaris* и видов рода *Myoxocephalus*

Вид	Признаки кариотипа											
	2*n*	NF	Мкр.	Мср.	Мм.	СМкр.	СМм.	СМ–СТ	СТкр.	СТср., м.	Акр.	Аср., м.
Myoxocephalus brandtii	44	46 + 2	2	–	–	–	–	2	4	14	2	20
M. ochotensis	42	44 + 2	–	–	2	–	–	2	4	14	–	20
M. polyacanthocephalus	40	44 + 2	2	–	2	–	–	2	6	14	–	14
M. stelleri (Охотское море)	44	44 + 2	–	–	–	–	–	2	6	22	–	14
M. stelleri (Японское море)	40	44 + 2	2	–	–	2	–	2	6	14	–	14
M. jaok	24	44	6	8	2	4	–	–	–	–	–	4
Microcottus sellaris	42	46	2	–	–	–	2	–	4	28	–	6

Примечание. Сокращения кр., ср. и м. – соответственно крупные, средние и мелкие хромосомы.

ем щели или отверстия в виде поры за четвертой жаберной дугой, изогнутыми верхними предкрышечными шипами (у *Myoxocephalus* они всегда прямые) и наличием очень широкой кожистой перепонки, соединяющей брюшные плавники с брюхом (Шмидт, 1950; Андрияшев, 1954; Неелов, 1979; Линдберг, Красюкова, 1987; Mecklenburg et al., 2002, 2016).

На основании проведенного анализа выявлены сходства и различия кариотипов седловидного бычка и видов рода *Myoxocephalus* (табл. 1). *M. sellaris* (2*n* = 42) отличается от дальневосточных видов рода *Myoxocephalus*, за исключением *M. ochotensis* (2*n* = 42), по числу хромосом (охотоморский *M. stelleri* – 2*n* = 44, *M. brandtii* – 2*n* = 44, япономорский *M. stelleri* – 2*n* = 40, *M. polyacanthocephalus* – 2*n* = 40, *M. jaok* – 2*n* = 24). Как и у большинства керчаков, кариотип *M. sellaris* состоит преимущественно из одноплечих хромосом. Обнаруженное отличие седловидного бычка от видов рода *Myoxocephalus* по 2*n* может являться следствием разного числа робертсоновских транслокаций, произошедших в процессе эволюции их хромосомных наборов. Проведенные ранее исследования керчаковых рыб показали, что робертсоновские транслокации – это основной механизм эволюционного изменения кариотипов не только видов рода *Myoxocephalus*, но и представителей родов *Megalocottus* и *Enophrys* (Васильев, 1985; Морева, Борисенко, 2014, 2017; Морева и др., 2017).

В кариотипах керчаков можно выделить сходные по размерам и морфологии маркерные хромосомы. Размеры М хромосом у седловидного бычка соответствуют размерам М хромосом у *M. ochotensis*, а также мелких М хромосом у *M. jaok* и *M. polyacanthocephalus*. По сравнению с М хромосомами *M. sellaris*, у япономорского *M. stelleri* и *M. brandtii* М хромосомы более крупные. У охотоморского *M. stelleri*, в отличие от *M. sellaris* и изученных видов рода *Myoxocephalus*, двуплечие хромосомы отсутствуют. В хромосомном наборе седловидного бычка так же, как у япономорского *M. stelleri* и *M. jaok*, содержатся СМ хромосомы. Однако их размеры значительно меньше размеров СМ хромосом этих видов. Отличия седловидного бычка от япономорского *M. stelleri* и *M. brandtii* по размеру М хромосом, а от *M. jaok* и япономорского *M. stelleri* по размеру СМ хромосом, вероятно, обусловлены вовлечением в робертсоновские транслокации одноплечих хромосом разных размеров.

У седловидного бычка, как и у япономорского и охотоморского *M. stelleri*, *M. brandtii*, *M. ochotensis* и *M. polyacanthocephalus*, имеется две пары СТ хромосом, более крупных, чем остальные одноплечие хромосомы в его кариотипе. Однако у *M. sellaris* они значительно меньше крупных СТ хромосом видов рода *Myoxocephalus*. Остальные одноплечие хромосомы у седловидного бычка, как и у *M. ochotensis*, среднего и мелкого размера. В отличие от них, у *M. brandtii*, *M. polyacanthocephalus*, япономорского и охотоморского *M. stelleri* можно выделить еще одну пару крупных одноплечих хромосом, маркерную для этих видов. Число одноплечих хромосом у *M. sellaris* (38) и у видов рода *Myoxocephalus* различно: у охотоморского *M. stelleri* – 44, у *M. brandtii* – 42, у япономорского *M. stelleri* – 36, у *M. polyacanthocephalus* – 36 и у *M. jaok* – 4.

Седловидный бычок отличается от всех дальневосточных керчаков по числу хромосомных плеч (NF = 46). Виды рода *Myoxocephalus* по данному признаку можно разделить на три группы. К первой группе относится *M. brandtii* (NF = 46 + 2), вторую группу составляют *M. polyacanthocephalus*, япономорский и охотоморский *M. stelleri*, а также *M. ochotensis* (NF = 44 + 2). Общим признаком керчаков этих групп является наличие хромосом неопределенной морфологии (СМ–СТ), поэтому в NF указаны два дополнительных хромосомных плеча: +2. К третьей группе относится *M. jaok* (NF = 44), у которого пара СМ–СТ хромосом отсутствует.

В метафазных пластинках *M. sellaris* все хромосомы хорошо идентифицируются. Отличие седловидного бычка по NF от *M. ochotensis* обусловлено различиями их кариотипов по морфологии хромосом, а от остальных представителей рода *Myoxocephalus* – по числу и морфологии хромосом.

Сравнительный кариологический анализ выявил общие признаки *M. sellaris* и видов рода *Myoxocephalus*. Седловидный бычок и охотский керчак имеют одинаковое число хромосом. У *M. sellaris* есть маркерные хромосомы, сходные с таковыми у видов рода *Myoxocephalus*: пара M хромосом, соответствующих по размеру M хромосомам *M. ochotensis*, *M. jaok* и *M. polyacanthocephalus*; пара CM хромосом, как у япономорского *M. stelleri* и *M. jaok*; две пары CT хромосом, как у большинства видов (кроме *M. jaok*) рода *Myoxocephalus*. В кариотипе седловидного бычка, как и у керчаков рода *Myoxocephalus* (кроме *M. jaok*), большинство хромосом одноплечие – субтело- и акроцентрические.

Дифференцировать *M. sellaris* и виды рода *Myoxocephalus* позволяют не только морфологические признаки, но и существенные различия, обнаруженные в их хромосомных наборах. Маркерные M, CM и две пары CT хромосом седловидного бычка отличаются по размеру от маркерных M хромосом япономорского *M. stelleri* и *M. brandtii*; от CM хромосом *M. jaok* и япономорского *M. stelleri*; от двух пар CT хромосом *M. brandtii*, *M. ochotensis*, *M. polyacanthocephalus*, япономорского и охотоморского *M. stelleri*. Седловидный бычок отличается от *M. ochotensis* по морфологии хромосом и числу хромосомных плеч, а от *M. brandtii*, *M. jaok*, *M. polyacanthocephalus*, япономорского и охотоморского *M. stelleri* – по числу и морфологии хромосом, а также по числу хромосомных плеч в их кариотипах.

Таким образом, в результате настоящего исследования установлен комплекс кариологических признаков, позволяющих проводить надежную идентификацию вида *M. sellaris*. Показано, что хромосомные наборы *M. sellaris* и керчаков рода *Myoxocephalus* имеют общие признаки, указывающие на их родство. Обнаруженные существенные различия кариотипов седловидного бычка и видов рода *Myoxocephalus* подтверждают данные сравнительного анализа сейсмосенсорной системы и морфологических признаков, в соответствии с которыми род *Microcottus* был выведен из состава трибы *Myoxocephalini* и включен в отдельную трибу *Microcottini* (Неелов, 1979).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Программы “Дальний Восток” (проект № 18-4-002).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Андрияшев А.П. Рыбы северных морей СССР. М.; Л.: Изд. АН СССР. 1954. 556 с.

Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. М.: Наука. 1985. 299 с.

Линдберг Г.У., Красюкова З.В. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей. Л.: Наука. 1987. Ч. 5. 522 с.

Морева И.Н., Борисенко С.А. Кариотип северной дальневосточной широколобки *Megalocottus platycephalus platycephalus* (Pisces: Cottidae) из залива Одян Охотского моря // Биол. моря. 2014. Т. 40. № 2. С. 137–142.

Морева И.Н., Борисенко С.А. Кариотип южной дальневосточной широколобки *Megalocottus platycephalus taeniopterus* (Kner, 1868) (Pisces: Cottidae) из залива Восток Японского моря // Биол. моря. 2015. Т. 41. № 6. С. 425–429.

Морева И.Н., Борисенко С.А. Кариотип многоиглого керчака *Myoxocephalus polyacanthocephalus* (Pallas, 1814) (Pisces: Cottidae) из российской части ареала // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 1. С. 64–69.

Морева И.Н., Радченко О.А., Петровская А.В. и др. Молекулярно-генетический и кариологический анализ двурогих бычков группы *Enophrys diceraus* (Cottidae) // Генетика. 2017. Т. 53. № 9. С. 1086–1097.

Неелов А.В. Сейсмосенсорная система и классификация керчаковых рыб (Cottidae: Myoxocephalinae, Artediellinae). Л.: Наука. 1979. 208 с.

Парин Н.В., Евсеенко С.А., Васильева Е.Д. Рыбы морей России: аннотированный каталог. М.: Товарищество науч. изд. КМК. 2014. 733 с.

Соколовский А.С., Дударев В.А., Соколовская Т.Г. и др. Рыбы российских вод Японского моря (аннотированный и иллюстрированный каталог). Владивосток: Дальнаука. 2007. 199 с.

Соколовский А.С., Соколовская Т.Г., Яковлев Ю.М. Рыбы залива Петра Великого. Владивосток: Дальнаука. 2011. 431 с.

Солдатов В.К., Линдберг Г.У. Обзор рыб дальневосточных морей // Изв. ТИНРО. 1930. Т. 5. С. 576.

Таранец А.Я. Краткий определитель рыб советского Дальнего Востока и прилежащих вод // Изв. ТИНРО. 1937. Т. 11. С. 112–115.

Федоров В.В., Черешнев И.А., Назаркин М.В. и др. Каталог морских и пресноводных рыб северной части Охотского моря. Владивосток: Дальнаука. 2003. 206 с.

Черешнев И.А., Волобуев В.В., Хованский И.Е. и др. Прибрежные рыбы северной части Охотского моря. Владивосток: Дальнаука. 2001. 197 с.

Шмидт П.Ю. Рыбы Охотского моря. М.; Л.: Изд. АН СССР. 1950. 370 с.

Fricke R., Eschmeyer W.N., van der Laan R. (eds.) Eschmeyer's catalog of fishes: Genera, species, references. 2018. (http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp). Electronic version accessed March 01, 2019.

Kligerman A.D., Bloom S.E. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes // J. Fish. Res. Board Can. 1977. V. 34. P. 266–269.

Matsubara K. Fish Morphology and Hierarchy. Tokyo: Ishizaki-Shoten. 1955. Part II. 814 p.

Mecklenburg C.W., Mecklenburg T.A., Thorsteinson L.K. Fishes of Alaska. Bethesda, Md.: Am. Fish. Soc. 2002. 1037 p.

Mecklenburg C.W., Mecklenburg T.A., Sheiko B.A., Steinke D. Pacific Arctic Marine Fishes // CAFF Monitoring Series Report No. 23. Akureyri, Iceland: Conservation of Arctic Flora and Fauna. 2016. 406 p.

Yabe M., Maruyama S., Amaoka K. First records of five cottid fishes and psychrolutid fish from Japan // Jpn. J. Ichthyol. 1983. V. 29. № 4. P. 456–464.

Yabe M., Pietsch T.W. A new sculpin, *Microcottus matuaensis*, from the central Kuril Archipelago (Scorpaeniformes: Cottidae) // Ichthyol. Research. 2003. V. 50. № 3. P. 276–280.

The Karyotype of the Brightbelly Sculpin *Microcottus sellaris* (Gilbert, 1896) (Cottidae: Myoxocephalinae)

I. N. Moreva

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

The karyotype of the brightbelly sculpin *Microcottus sellaris* (Gilbert, 1896) (family Cottidae) from the Sea of Japan and Sea of Okhotsk has been studied for the first time. The karyotype is stable; it includes 42 chromosomes (2 metacentric, 2 submetacentric, 32 subtelocentric, and 6 acrocentric chromosomes); the number of chromosome arms is 46. A comparative analysis of the basic karyotype traits is carried out for *M. sellaris* and for the Far Eastern species of the genus *Myoxocephalus* (*M. stelleri* from the Sea of Japan and Sea of Okhotsk, *M. brandtii*, *M. jaok*, *M. ochotensis*, and *M. polyacanthocephalus*). The traits that allow differentiation of *M. sellaris* from species of the genus *Myoxocephalus*, as well as the common traits indicating their relationship, are identified.

Keywords: brightbelly sculpin, *Microcottus sellaris*, Sea of Japan, Sea of Okhotsk, karyotype

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 37–44

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 582.26–119:615.322

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОМЫСЛОВЫХ И ПОТЕНЦИАЛЬНО ПРОМЫСЛОВЫХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКА ПОЛИФЕНОЛОВ

© 2020 г. Н. М. Аминина[1, *], Т. И. Вишневская[1], Е. П. Караулова[1], Н. В. Епур[1], Е. В. Якуш[1]

[1]*Тихоокеанский филиал ФГБНУ "ВНИРО" ("ТИНРО"), Владивосток 690091, Россия*

**e-mail: natalya.aminina@tinro-center.ru*

Поступила в редакцию 17.12.2018 г.
После доработки 24.04.2019 г.
Принята к публикации 30.05.2019 г.

Исследованы свойства экстрактов полифенолов, полученных из морских бурых водорослей семейств Laminariaceae, Alariaceae, Arthrothamnaceae, Costariaceae, Cystoseiraceae и Fucaceae. Показано, что выход полифенолов из водорослей определялся их видовой принадлежностью и зависел от природы используемого экстрагента. По сумме полифенолов и антиоксидантной активности максимальный эффект проявляли этанольные экстракты водорослей из родов *Agarum*, *Thalassiophyllum*, *Fucus*, *Stephanocystis* и *Arthrothamnus*. Высокой эффективностью характеризовались водные экстракты водорослей из родов *Saccharina*, *Alaria* и *Costaria*. Наибольший выход суммы полифенолов с высокой антиоксидантной активностью, в том числе флоротаннинов, определен для экстрактов *Agarum turneri*. К перспективным источникам полифенолов с высокой антиоксидантной активностью можно отнести также *Fucus evanescens*, *Thalassiophyllum clathrus* и *Stephanocystis crassipes*. Среди водных экстрактов высокой антиоксидантной активностью обладал водный экстракт *Costaria costata*.

Ключевые слова: бурые водоросли, полифенолы, флоротаннины, антиоксидантная активность, экстракция

DOI: 10.31857/S0134347520010027

Водоросли – это ценный промысловый ресурс, интерес к которому можно объяснить его значительными запасами и применением в разных отраслях промышленности. Уникальный химический состав водорослей делает их перспективным источником биологически активных веществ. В последнее время особое внимание исследователей привлекают бурые водоросли, содержащие значительное количество полифенолов. Полифенольные вещества являются продуктами вторичного метаболизма водорослей. По соединению гидроксильной группы с ароматической группой углеводорода эти вещества делят на несколько групп (Waterman, Mole, 1994; Yuan, 2007). Известно, что в бурых водорослях наиболее широко представлены соединения, мономерной единицей которых является флороглюцин (1,3,5-тригидроксибензол). При соединении остатков флороглюцина через связи С-С и/или С-О-С образуются полимерные молекулы флоротаннинов с разнообразными структурами. По типу связи выделяют фугалолы и флоретолы (эфирная связь), фуколы (фенильная связь), фукофлоретолы (эфирная и фенильная связи), эколы и кармалолы (дибензодиоксиновая связь) (Singh, Bharate, 2006). Считается, что фуколы и фукофлоретолы (флоротаннины "Fucus type") характерны для водорослей семейства Fucaceae, флоретолы и эколы – для водорослей семейств Laminariaceae и Lessoniaceae (Имбс, Звягинцева, 2018). При увеличении степени полимеризации флоротаннинов увеличивается их структурное разнообразие и изменяются свойства.

Известно, что флоротаннины бурых водорослей обладают биологической активностью: антиоксидантной (Li et al., 2009), антимикробной, антипролиферативной, радиозащитной, противовирусной (ВИЧ) (Artan et al., 2008) и противовоспалительной, а также проявляют положительное действие против болезни Альцгеймера (Nguyen et al., 2011). Отмечено, что эти активные соединения могут быть фактором, предупреждающим появление диабета (Korczyński et al., 2015). У бурых водорослей дальневосточных морей выявлена антиоксидантная и гепатопротекторная активность экстрактов, содержащих полифенольные соединения (Спрыгин и др., 2012, 2013, 2017; Аминина и др., 2017). Данные исследования позволяют говорить о перспективности использования полифенолов водорослей в пищевой промышленности, фарма-

Таблица 1. Исследованные виды водорослей, районы и время сбора образцов

Порядок, семейство	Вид	Район и месяц сбора образцов
Laminariales, Laminariaceae	*Saccharina cichorioides* (Miyabe) Lane, Mayes, Druehl, Saunders, 2006	Охотское море, зал. Анива, август
Laminariales, Laminariaceae	*S. bongardiana* (Postels & Ruprecht) Selivanova, Zhigadlova, Hansen, 2007	Тихоокеанское побережье Камчатки, Авачинский залив, август
Laminariales, Laminariaceae	*S. sculpera* Lane, Mayes, Druehl, Saunders, 2006	Охотское море, зал. Терпения, июль
Laminariales, Alariaceae	*Alaria angusta* Kjellman, 1889	Тихоокеанское побережье Камчатки, б. Спасения, июнь
Laminariales, Arthrothamnaceae	*Arthrothamnus bifidus* (Gmelin) Ruprecht, 1851	Тихоокеанское побережье Камчатки, Авачинский залив, август
Laminariales, Costariaceae	*Costaria costata* (Agardh) Saunders, 1895	Японское море, Татарский пролив, июнь
Laminariales, Costariaceae	*Thalassiophyllum clathrus* (Gmelin) Postels, Ruprecht, 1840	Тихоокеанское побережье Камчатки, Авачинский залив, август
Laminariales, Costariaceae	*Agarum turneri* Postels, Ruprecht, 1840	Тихоокеанское побережье Камчатки, Авачинский залив, сентябрь
Fucales, Cystoseiraceae	*Stephanocystis crassipes* (Mertens, Turner) Draisma, Ballesteros, F. Rousseau & T. Thibaut 2010	Охотское море, зал. Анива, август
Fucales, Fucaceae	*Fucus evanescens* Agardh, 1820	Охотское море, зал. Анива, август

кологии, косметологии и сельском хозяйстве. Однако сведения о составе и свойствах полифенолов, содержащихся в водорослях, в настоящее время практически отсутствуют. В связи с этим изучение бурых водорослей из российских морей как источника биологически активных полифенолов представляет несомненный интерес. Цель данной работы – определение антиоксидантной активности экстрактов, полученных из бурых водорослей разных семейств, и содержания в них полифенольных соединений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Собранные в разных районах тихоокеанского побережья России (табл. 1) образцы 10 видов бурых водорослей высушивали на воздухе при комнатной температуре до влажности 15–20%, измельчали и упаковывали.

На электронных весах марки VIBRA HT взвешивали 10 г измельченного образца каждой водоросли, затем образцы помещали в термостойкие колбы, в которые добавляли 100 мл дистиллированной воды или 70% этилового спирта. Колбы встряхивали и выдерживали при комнатной температуре в течение 16 ч. Затем смесь в течение 10 мин центрифугировали при 8000 об./мин на центрифуге Hitachi RX II series. Надосадочную жидкость отфильтровывали через бумажный фильтр и использовали для анализа.

Общее содержание полифенолов (ПФ) в экстрактах определяли в соответствии с модифицированным методом Фолина–Чекольте (Koivikko et al., 2005), используя флороглюцинол (phloroglucinol, 99%, HPLC, Sigma-Aldrich) в качестве стандарта; оптическую плотность продуктов реакции регистрировали при 750 нм на планшетном спектрофотометре Polarstar Omega.

Количество флоротаннинов определяли по результатам реакции с 2.4-диметоксибензальдегидом (DMBA, 2.4-dimethoxybenzaldehyde, 98%, Sigma-Aldrich) (Stern et al., 1996). В качестве стандарта использовали флороглюцинол (99%, HPLC, Sigma-Aldrich). Оптическую плотность продуктов реакции регистрировали при 494 нм на микропланшетном сканере Polarstar Omega.

Суммарную антиоксидантную активность (АОА) растворов определяли с использованием 2.2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) (Molyneux, 2004). Оптическую плотность раствора определяли при 517 нм на планшетном спектрофотометре Polarstar Omega. Антиоксидантную активность выражали в миллиграммах аскорбиновой кислоты на 1 мл экстракта.

Измерения проводили трижды; данные анализировали с помощью программного обеспечения Statistica 7. Результаты выражали в виде среднего значения со стандартным отклонением. Значения с 95% доверительным интервалом ($P < 0.05$) считали статистически значимыми.

Таблица 2. Общее содержание полифенолов и флоротаннинов в водных и этанольных экстрактах бурых водорослей

Водоросль	Полифенолы (мг/мл)		Флоротаннины (мкг/мл)	
	водный экстракт	этанольный экстракт	водный экстракт	этанольный экстракт
Agarum turneri	5.713 ± 0.141	10.109 ± 1.350	15.55 ± 2.390	601.133 ± 79.367
Thalassiophyllum clathrus	0.260 ± 0.011	0.900 ± 0.143	4.100 ± 1.114	103.980 ± 18.332
Fucus evanescens	0.422 ± 0.022	0.734 ± 0.080	17.45 ± 1.061	49.050 ± 2.192
Stephanocystis crassipes	0.296 ± 0.016	0.423 ± 0.015	6.167 ± 1.358	50.850 ± 0.212
Arthrothamnus bifidus	0.209 ± 0.012	0.229 ± 0.015	2.000 ± 0.300	7.867 ± 0.208
Saccharina sculpera	0.185 ± 0.006	0.116 ± 0.028	3.533 ± 1.002	13.550 ± 3.465
Costaria costata	0.365 ± 0.020	0.074 ± 0.012	16.067 ± 0.603	2.367 ± 0.058
Alaria angusta	0.093 ± 0.004	0.062 ± 0.006	0.000 ± 0.000	2.200 ± 0.100
Saccharina bongardiana	0.082 ± 0.002	0.059 ± 0.021	0.967 ± 0.208	1.800 ± 0.100
S. cichorioides	0.058 ± 0.015	0.054 ± 0.011	0.000 ± 0.000	2.133 ± 0.058

РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящей работе суммарное содержание полифенолов и количество флоротаннинов определено у 10 видов бурых водорослей, принадлежащих к шести семействам. Изучено влияние растворителя (вода и 70% раствор этанола) на выход полифенолов, в том числе флоротаннинов.

При использовании 70% раствора этанола выход ПФ был наибольшим у пяти видов: *Agarum turneri*, *Thalassiophyllum clathrus*, *Fucus evanescens*, *Stephanocystis crassipes* и *Arthrothamnus bifidus* (табл. 2). В водных экстрактах этих водорослей содержание ПФ было в 1.4–3.5 раза меньше, чем в этанольных. Наибольшие значения концентраций полифенольных соединений в водных экстрактах водорослей распределялись следующим образом: *A. turneri* > > *F. evanescens* > *C. costata* > *S. crassipes* > *T. clathrus*.

Содержание флоротаннинов было наибольшим в этанольных экстрактах, полученных из *A. turneri*, *T. clathrus*, *S. crassipes* и *F. evanescens*, что коррелирует с данными по общему количеству ПФ (табл. 2). Следующим по количеству ПФ был этанольный экстракт *A. bifidus,* а по количеству флоротаннинов – экстракт *S. sculpera*.

В водных экстрактах *C. costata* концентрации флоротаннинов, как и полифенолов в целом, были более высокими, чем в этанольных. В водных экстрактах *S. cichorioides* и *A. angusta* флоротаннины отсутствовали, а в водных экстрактах остальных видов содержание флоротаннинов было ниже, чем в этанольных, в 2–40 раз (табл. 2). В водных экстрактах количество флоротаннинов в зависимости от вида водоросли снижалось в ряду: *F. evanescens* > *C. costata* > *A. turneri* > *S. crassipes* > > *T. clathrus* > *S. sculpera* > *A. bifidus* > *S. bongardiana*. Прямой зависимости между общим содержанием ПФ и количеством флоротаннинов в водных экстрактах не выявлено, однако для этанольных экстрактов исследованных видов водорослей такая тенденция наблюдалась.

Экстракты всех исследованных водорослей обладали антиоксидантной активностью, которая различалась в зависимости от вида водоросли и типа экстрагента (табл. 3). Максимальная АОА выявлена в обоих экстрактах *A. turneri*, причем она на порядок превышала таковую экстрактов других видов водорослей. Для остальных водорослей в спиртовых экстрактах АОА уменьшалась в следующем ряду: *F. evanescens* > *S. crassipes* > > *T. clathrus* > *A. bifidus* > *S. sculpera* > *C. costata* > > *S. cichorioides* > *A. angusta* = *S. bongardiana*. В водных экстрактах этот порядок был другим: *F. evanescens* > *T. clathrus* > *C. costata* > *S. crassipes* > *A. bifidus* > *S. sculpera* > *A. angusta* > *S. bongardiana* > > *S. cichorioides.*

ОБСУЖДЕНИЕ

В многочисленных исследованиях показано, что содержание полифенолов в разных видах водорослей значительно различалось. К настоящему времени установлены некоторые закономерности накопления полифенолов водорослями из разных систематических групп; определено повышенное количество флоротаннинов в фукусовых водорослях по сравнению с таковым в ламинариевых (Chkhikvishvili, Ramazanov, 2000; Клиндух, Облучинская, 2013). Вариации содержания полифенолов и их антиоксидантной активности связаны также с условиями экстракции, в частности, с видом экстрагента (Аминина и др., 2017).

Для выделения полифенолов из водорослей традиционно используются полярные растворители, среди которых наиболее популярны водные растворы ацетона, метанола и этанола (Боголицын и др., 2018). В некоторых исследованиях для экстракции полифенолов из водорослей исполь-

Таблица 3. Антиоксидантная активность водных и этанольных экстрактов бурых водорослей (миллиграмм аскорбиновой кислоты/мл)

Водоросль	Водный экстракт	Этанольный экстракт
Agarum turneri	2.527 ± 0.480	8.448 ± 2.191
Thalassiophyllum clathrus	0.175 ± 0.014	0.279 ± 0.066
Fucus evanescens	0.233 ± 0.049	0.537 ± 0.098
Stephanocystis crassipes	0.142 ± 0.007	0.293 ± 0.079
Arthrothamnus bifidus	0.105 ± 0.004	0.143 ± 0.030
Saccharina sculpera	0.078 ± 0.016	0.065 ± 0.012
Costaria costata	0.149 ± 0.016	0.037 ± 0.002
Alaria angusta	0.043 ± 0.003	0.024 ± 0.004
Saccharina bongardiana	0.036 ± 0.004	0.025 ± 0.004
S. cichorioides	0.020 ± 0.002	0.033 ± 0.004

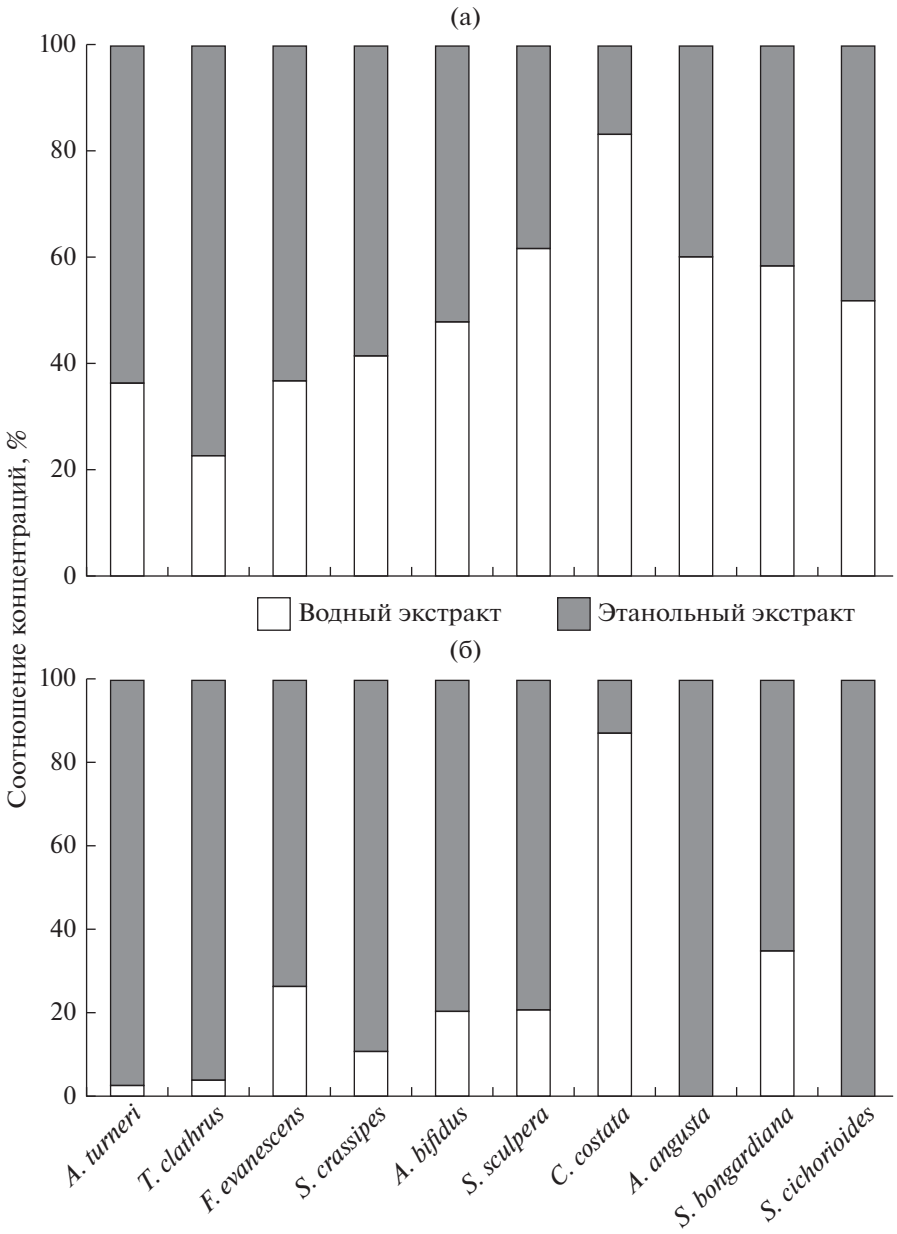

Рис. 1. Соотношение концентраций полифенолов (а) и флоротаннинов (б) в водных и этанольных экстрактах бурых водорослей.

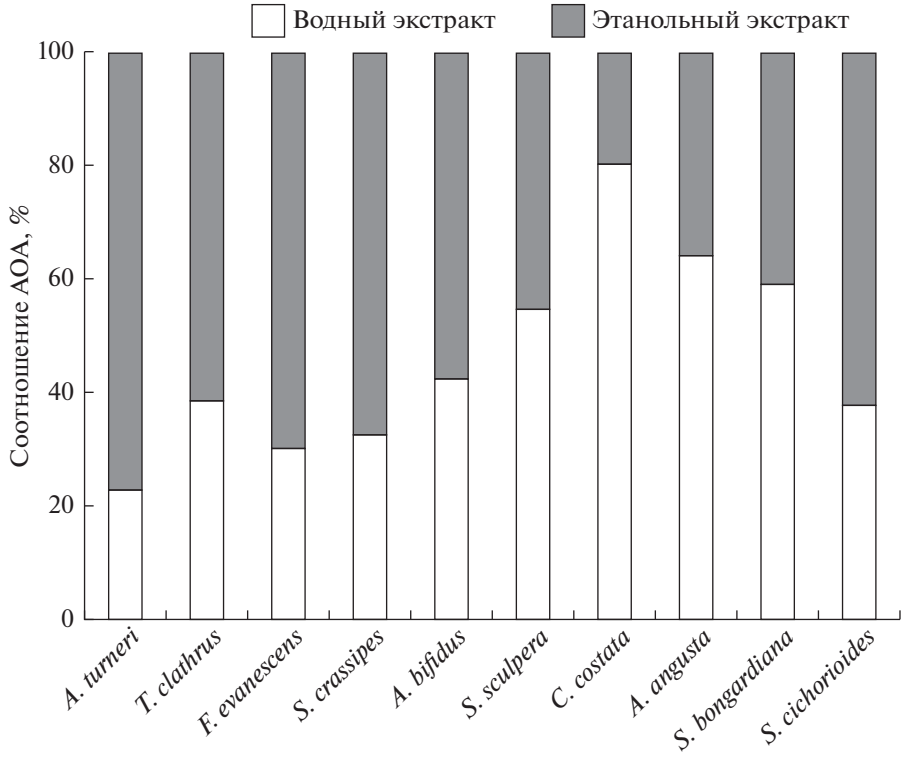

Рис. 2. Соотношение антиоксидантной активности (АОА) водных и этанольных экстрактов бурых водорослей.

зовали воду (Spurr, 2014; Machu et al., 2015; Аминина и др., 2017). Мы изучили влияние двух наиболее часто используемых в пищевой промышленности растворителей (воды и водного раствора этанола) на степень извлечения полифенолов из разных видов бурых водорослей и установили, что эффективность применения экстрагентов изменялась в зависимости от вида водоросли (рис. 1а).

Экстракция ПФ из *Costaria costata*, *Saccharina sculpera*, *Alaria angusta*, *Saccharina bongardiana* и *S. cichorioides* протекала лучше при использовании воды, чем 70% этанола, особенно в случае *C. costata*, когда количество полифенолов в водном экстракте было почти в 5 раз больше, чем в этанольном. Высокая эффективность применения воды для экстракции ПФ из водорослей родов *Costaria*, *Saccharina* и *Alaria*, по-видимому, обусловлена различиями в природе межмолекулярных связей полифенолов с другими органическими соединениями, например, с полисахаридами. Предполагается также, что при добавлении воды в органические растворители происходит ослабление водородных связей между молекулами полифенолов и белков (Wissam et al., 2012).

Максимальная эффективность экстракции флоротаннинов у всех видов водорослей, кроме *C. costata*, отмечена при использовании 70% раствора этанола (рис. 1б). Количество флоротаннинов в водном экстракте *C. costata* было практически в 7 раз выше, чем в этанольном, что косвенным образом указывало на различия в составе и структуре полифенолов этой водоросли. Сравнение АОА экстрактов показало, что для основной группы исследованных водорослей эффективность экстрактов была выше при использовании этанола, однако у *C. costata*, *A. angusta*, *S. sculpera* и *S. bongardiana* АОА была значительно выше при использовании воды в качестве экстрагента (рис. 2). Следовательно, соотношение содержания полифенольных соединений и АОА экстрактов различалось у разных видов водорослей и изменялось при использовании разных экстрагентов. Например, в этанольных экстрактах *Thalassiophyllum clathrus* содержание ПФ, в том числе флоротаннинов, было почти в 2 раза выше, чем в экстрактах *Stephanocystis crassipes*, а АОА экстрактов практически не различалась (рис. 3). В экстракте *Fucus evanescens* концентрация флоротаннинов была меньше, чем у указанных выше видов, а АОА была почти в 2 раза интенсивнее (рис. 3б). Соотношение общего количества ПФ и АОА этанольных экстрактов в среднем изменялось в пределах 1 : 1–1 : 3, причем самой низкой активностью при пересчете на количество полифенолов обладали экстракты *T. clathrus* (рис. 3а). Предстоит выяснить, с чем это связано: с особенностью структуры полифенолов водорослей или с присутствием в экстрактах антиоксидантов другой природы.

Для водных экстрактов изученных видов водорослей наблюдалась почти прямая зависимость

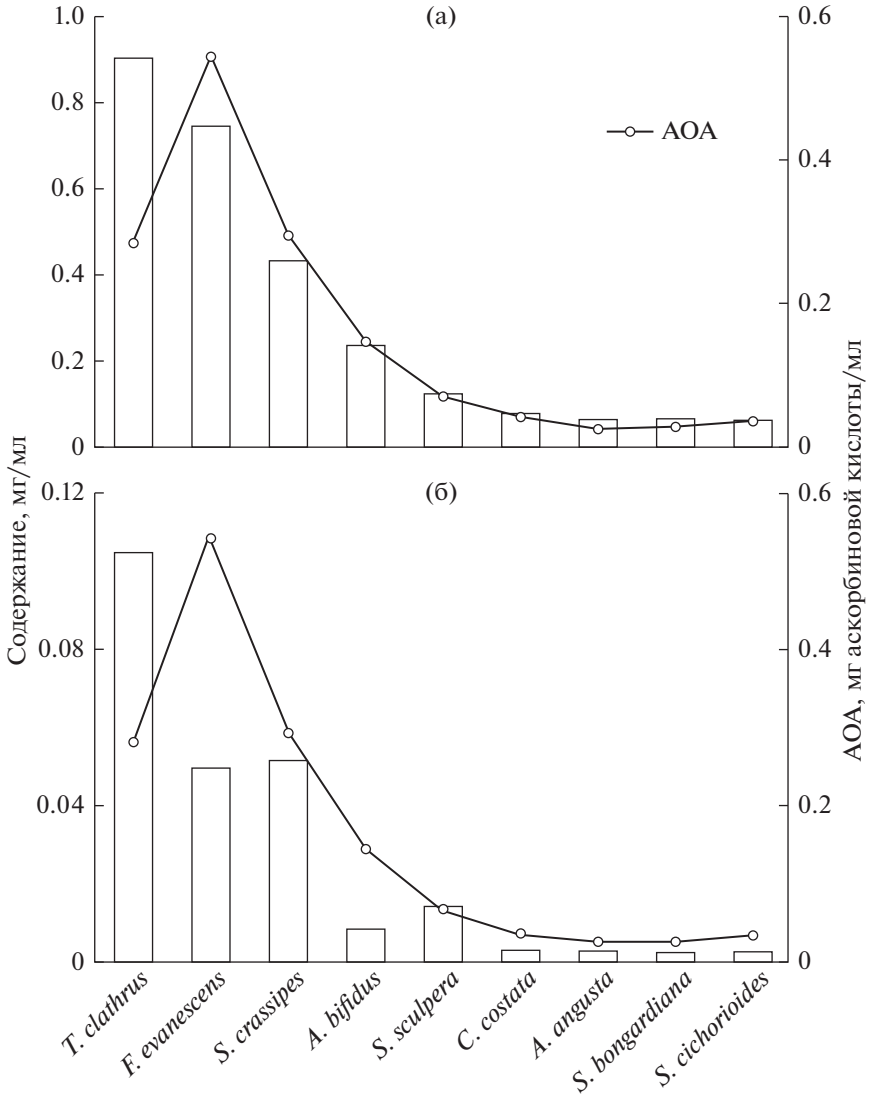

Рис. 3. Содержание в этанольных экстрактах полифенолов (а) и флоротаннинов (б) и их антиоксидантная активность (АОА).

АОА от содержания общего количества ПФ, но не от концентрации флоротаннинов (рис. 4). По отношению к концентрации флоротаннинов АОА водных экстрактов значительно варьировала – от 1 : 9 до 1 : 162 (рис. 4б). Возможно, в водных экстрактах флоротаннины некоторых видов ламинариевых водорослей проявляли более сильную антиоксидантную активность, так как известно, что АОА коррелирует с количеством гидроксильных групп в молекуле полифенола (Имбс, Звягинцева, 2018). Кроме этого, в водных экстрактах могли присутствовать вещества другой природы с высокой АОА.

Таким образом, выход полифенолов из бурых водорослей зависел от видовой принадлежности и применяемого экстрагента – воды или 70% этанола. В любом случае из *Agarum turneri* можно получить максимальное количество ПФ, присутствие которых, скорее всего, связано с высокой антиоксидантной активностью экстрактов. Достаточно высокие значения содержания ПФ и АОА обнаружены у обоих экстрактов из *F. evanescens*, а также у этанольных экстрактов *T. clathrus* и *S. crassipes*. Для водорослей из родов *Costaria*, *Saccharina* и *Alaria* в качестве экстрагента можно использовать воду, которая позволяет извлечь из сырья бóльшее количество полифенолов, чем раствор этанола. При этом максимальный выход ПФ и значимую АОА экстракта показала *C. costata*. Известно, что состав и структура полифенольных соединений в водорослях варьируют в зависимости от видовой принадлежности. Например, бурые водоросли разных семейств содержат флоротаннины, структура которых различается (Shibata et al., 2004; Cérantola et al., 2006). Скорее всего, они проявляют разные свойства и обладают разным физиологическим действием. Дальнейшие исследования биологической активности поли-

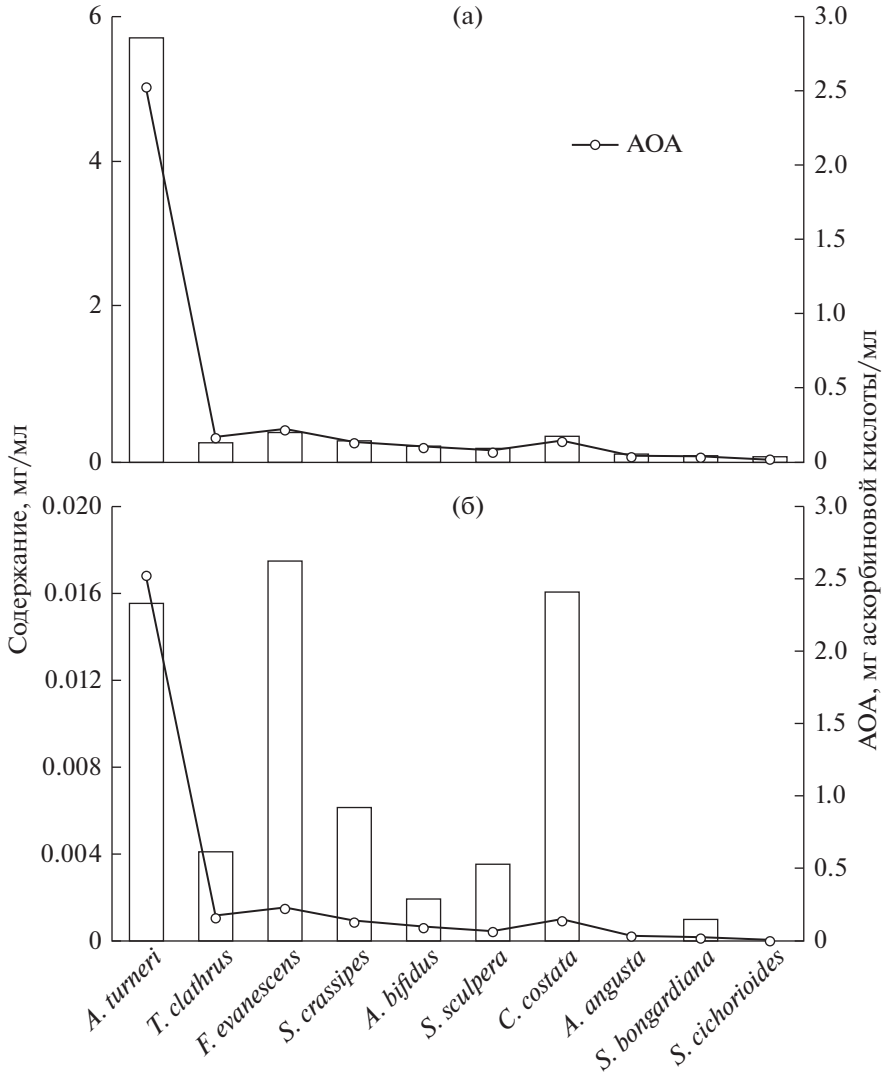

Рис. 4. Содержание в водных экстрактах полифенолов (а), флоротаннинов (б) и их антиоксидантная активность (АОА).

фенолов бурых водорослей могут показать новые возможности для применения морского растительного сырья дальневосточных морей в пищевой промышленности и медицине.

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 тематического календарного плана ФГБНУ “ТИНРО-Центр” “Осуществление государственного мониторинга водных биологических ресурсов во внутренних водах, в территориальном море Российской Федерации, на континентальном шельфе Российской Федерации и в исключительной экономической зоне Российской Федерации, в Азовском и Каспийском морях” на 2018 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аминина Н.М., Вишневская Т.И., Караулова Е.П., Якуш Е.В. Содержание полифенолов и антиоксидантная активность экстрактов из некоторых видов морских водорослей // Изв. ТИНРО. 2017. Т. 189. С. 184–191.

Боголицын К.Г., Дружинина А.С., Овчинников Д.В. и др. Полифенолы бурых водорослей // Химия раст. сырья. 2018. № 3. С. 5–21.

Имбс Т.И., Звягинцева Т.Н. Флоротаннины – полифенольные метаболиты бурых водорослей // Биол. моря. 2018. Т. 44. № 4. С. 217–227.

Клиндух М.П., Облучинская Е.Д. Сравнительное исследование химического состава бурых водорослей *Fucus vesiculosus* и *Ascophyllum nodosum* // Вестн. МГТУ. 2013. Т. 16. № 3. С. 466–471.

Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. и др. Морские водоросли – перспективный источник полифенольных антиоксидантов и комплексов эссенциальных фосфолипидов // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2012. Т. 14. № 1(9). С. 2299–2302.

Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. и др. Гепатопротекторные свойства экстракта из бурой водоросли *Saccharina japonica* // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 1. С. 50–54.

Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. и др. Влияние экстракта из морской бурой водоросли *Sargassum pallidum* (Turner) C. Agardh, 1820 на метаболические реакции печени при экспериментальном токсическом гепатите // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 6. С. 444–449.

Artan M., Li Y., Karadeniz F. et al. Anti-HIV-1 activity of phloroglucinol derivative, 6,6-bieckol, from *Ecklonia cava* // Bioorg. Med. Chem. 2008. V. 16. P. 7921–7926.

Cérantola S., Breton F., Gall E.A., Deslandes E. Co-occurrence and antioxidant activities of fucol and fucophlorethol classes of polymeric phenols in *Fucus spiralis* // Bot. Mar. 2006. V. 49. P. 347–351.

Chkhikvishvili I.D., Ramazanov Z.M. Phenolic substances of brown algae and their antioxidant activity // Appl. Biochem. Microbiol. 2000. V. 36. № 3. P. 289–291.

Koivikko R., Loponen J., Honkanen T., Jomalainen V. Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions // J. Chem. Ecol. 2005. V. 31. № 1. P. 195–212.

Korczyński M., Witkowska Z., Opaliński S. et al. Algae extract as a potential feed additive // Marine algae extracts: Processes, products, and applications. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag. 2015. P. 614–615.

Li Y., Qian Z.J., Ryu B. et al. Chemical components and its antioxidant properties in vitro: an edible marine brown alga, *Ecklonia cava* // Bioorg. Med. Chem. 2009. V. 17. P. 1963–1973.

Machu L., Misurcova L., Ambrozova J.V. et al. Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products // Molecules. 2015. V. 20. № 1. P. 1118–1133.

Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity // Songklanakarin J. Sci. Technol. 2004. V. 26. № 2. P. 211–219.

Nguyen P.H., Choi I.-W., Kim S.-K., Jung W.-K. Immune regulatory effects of phlorotannins derived from marine brown algae (*Phaeophyta*) // Handbook of marine macroalgae: Biotechnology and applied phycology. Chichester, U.K.: John Wiley & Sons. 2011. P. 340–343.

Shibata T., Kawaguchi S., Hama Y. et al. Local and chemical distribution of phlorotannins in brown algae // J. Appl. Phycol. 2004. V. 16. P. 291–296.

Singh I.P., Bharate S.B. Phloroglucinol compounds of natural origin // Nat. Prod. Rep. 2006. V. 23. P. 558–591.

Spurr H.I. Extraction, separation and purification of polyphenols, polysaccharides and pigments from British seaweed for high-value applications: PhD thesis. Univ. of Leeds. 2014. 224 p.

Stern J.L., Hagerman A.E., Steinberg P.D., Mason P.K. Phlorotannin-protein interactions // J. Chem. Ecol. 1996. V. 22. P. 1877–1899.

Waterman P.G., Mole S. Analysis of polyphenolic plant metabolites. Methods in Enzymology. London: Blackwell Scientific Publications. 1994. 238 p.

Wissam Z., Ghada B., Wassim A., Warid K. Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from Pomegranate's peel // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2012. V. 4. Suppl. 3. P. 675–682.

Yuan Y.V. Antioxidants from edible seaweeds // ACS Symp. Ser. 2007. V. 956. P. 268–301.

Prospects for the Use of Commercial and Potentially Commercial Brown Algae of the Far Eastern Seas as a Source of Polyphenols

N. M. Aminina[a], T. I. Vishnevskaya[a], E. P. Karaulova[a], N. V. Epur[a], and E. V. Yakush[a]

[a] *Pacific Branch, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (TINRO), Vladivostok 690091, Russia*

The properties of polyphenol extracts from marine brown algae of the families Laminariaceae, Alariaceae, Arthrothamnaceae, Costariaceae, Cystoseiraceae, and Fucaceae were studied. The release of polyphenols from algae was determined by the species affiliation and depended on the nature of the extractant used. According to the content of total polyphenols and antioxidant activity, the maximum effect was observed in the ethanol extracts from algae of the genera *Agarum*, *Thalassiophyllum*, *Fucus*, *Stephanocystis*, and *Arthrothamnus*. For algae of the genera *Saccharina*, *Alaria*, and *Costaria*, aqueous extraction showed high effectiveness. The greatest yield of total polyphenols with high antioxidant activity (including that of phlorotannins) was found in *Agarum turneri* extracts. *Fucus evanescens*, *Thalassiophyllum clathrus*, and *Stephanocystis crassipes* can also be considered as promising sources of polyphenols with high antioxidant activity. Among water extracts, high antioxidant activity was also found in the *Costaria costata* extract.

Keywords: brown algae, polyphenols, phlorotannins, antioxidant activity, extraction

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 45–52

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 581.524

ПЕРВАЯ НАХОДКА БУРОЙ ЭНДОФИТНОЙ ВОДОРОСЛИ *LAMINARIOCOLAX AECIDIOIDES* (ROSENVINGE) A.F. PETERS, 1998 В ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЯХ РОССИИ

© 2020 г. А. В. Скрипцова[1, *], Т. Л. Калита[1]

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

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

Поступила в редакцию 29.11.2018 г.
После доработки 14.01.2019 г.
Принята к публикации 07.02.2019 г.

Бурая эндофитная водоросль *Laminariocolax aecidioides* (Ectocarpales: Chordariaceae), произрастающая на *Undaria pinnatifida*, впервые обнаружена в Уссурийском заливе (зал. Петра Великого Японского моря). Эта находка – первое свидетельство обитания данного вида в дальневосточных морях России. Описана морфология *L. aecidioides* в природе и культуре; приведены некоторые сведения о биологии этого вида.

Ключевые слова: Laminariocolax aecidioides, эндофит, морфология, рост, патогенность, развитие в культуре

DOI: 10.31857/S013434752001009X

Несмотря на многолетнюю историю изучения флоры дальневосточных морей России, современные сведения о видовом составе морских макрофитов данных акваторий не могут считаться окончательными. В текущем столетии уже описан ряд новых для науки видов водорослей из этого региона (Селиванова, Жигадлова, 2003, 2014, 2016; Селиванова, 2008; Писарева, Клочкова, 2013). Изучение новых сборов и ревизия гербарного материала позволяют дополнить видовые списки как локальных флор, так и флоры российского сектора Тихого океана в целом (Левенец, 1996; Перестенко, Штрик, 2005; Левенец и др., 2006; Жигадлова, 2011, 2014; Селиванова, Жигадлова, 2014; Евсеева, 2016; Скрипцова, Титлянова, 2017).

При изучении популяции бурой водоросли *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar, 1873 в зал. Петра Великого (Японское море) у значительной части растений, собранных в прибрежных водах г. Владивостока, были обнаружены морфологические аномалии. На пластине и спорофиллах ундарии в большом количестве развивались темно-коричневые пятна разной формы диаметром от 2–3 до 30 мм (рис. 1а, 1б), а поверхность пластины часто была волнистой. При исследовании пятен под микроскопом в тканях ундарии была найдена бурая эндофитная водоросль, идентифицированная как *Laminariocolax aecidioides* (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 (Ectocarpales, Phaeophyceae). Данный вид известен под несколькими синонимами: *Streblonema aecidioides* (Rosenvinge) Foslie ex Jaasund, 1963; *Gononema aecidioides* (Rosenvinge) P.M. Pedersen, 1981; *Entonema aecidioides* (Rosenvinge) Kylin, 1947; *Myrionema aecidioides* (Rosenvinge) Sauvageau, 1897; *Ectocarpus aecidioides* Rosenvinge, 1893 и *Phycocelis aecidioide*s (Rosenvinge) Kuckuck, 1894. Он распространен в основном в северной Атлантике (в том числе в Балтийском море), вдоль северо-западного побережья Северной Америки, у побережья Аргентины и в Арктике (Белое море, о-в Шпицберген) (Guiry, Guiry, 2018). В азиатском секторе Тихого океана *L. aecidioides* встречался только у берегов Японии (Yoshida, Akiyama, 1979; Yoshida et al., 2015). Типичными базифитами этого вида являются ламинариевые водоросли родов *Agarum*, *Undaria*, *Alaria*, *Laminaria* и *Hedophyllum* (см.: Edelstein, McLachlan, 1968; Abbott, Hollenberg, 1976; Yoshida, Akiyama, 1979; Peters, Schaffelke, 1996; Burkhardt, Peters, 1998; Gauna et al., 2009). Находка *L. aecidioides* в зал. Петра Великого Японского моря – первое свидетельство обитания данного вида в российских водах Тихого океана.

Как и большинство бурых эндофитных водорослей, *L. aecidioides* считается высокопатогенным видом, вызывающим морфологические аномалии базифита, которые часто приводят к снижению прочности его слоевищ и к отрыву пластин во время штормов, что наблюдалось в январе 1990 г. у юго-западного побережья Норве-

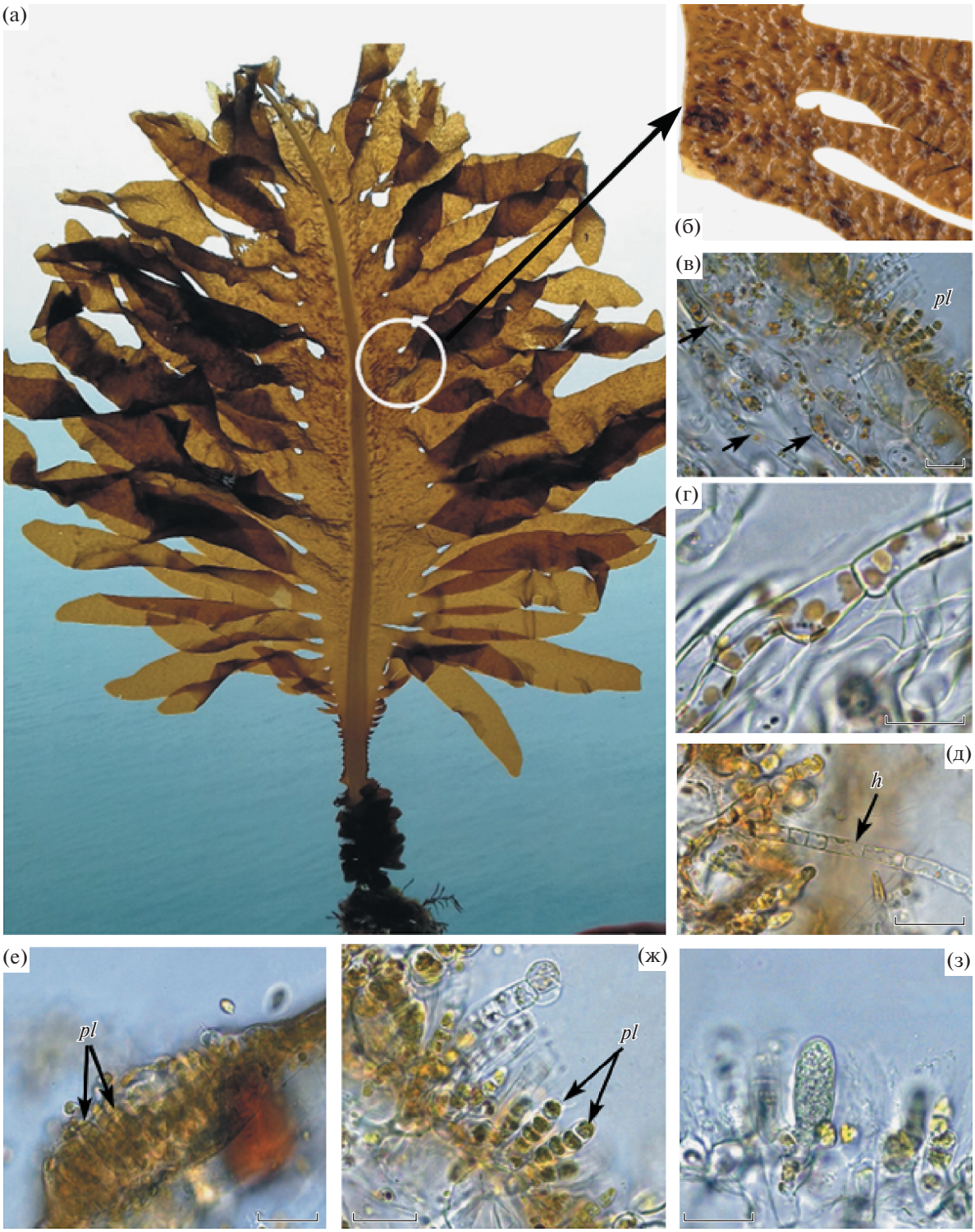

Рис. 1. Эндофит *Laminariocolax aecidioides* на талломах *Undaria pinnatifida*: а – внешний вид *U. pinnatifida*, зараженной *L. aecidioides*, более темная пятнистая окраска вдоль ребра ундарии обусловлена присутствием эндофита в ее слоевище; б – фрагмент пластины *U. pinnatifida* с пятнами *L. aecidioides*; в – нити *L. aecidioides* (показаны стрелками) в сердцевине *U. pinnatifida* и многогнездные зооидангии (*pl*) эндофита на ее поверхности; г – дисковидные хлоропласты *L. aecidioides*; д – настоящий волосок (*h*); е – эцидий, образованный многогнездными зооидангиями (*pl*) *L. aecidioides* на поверхности таллома ундарии; ж – многогнездные зооидангии (*pl*); з – одногнездный зооидангий. Масштаб: в, г, ж, з – 20 мкм; д, е – 30 мкм.

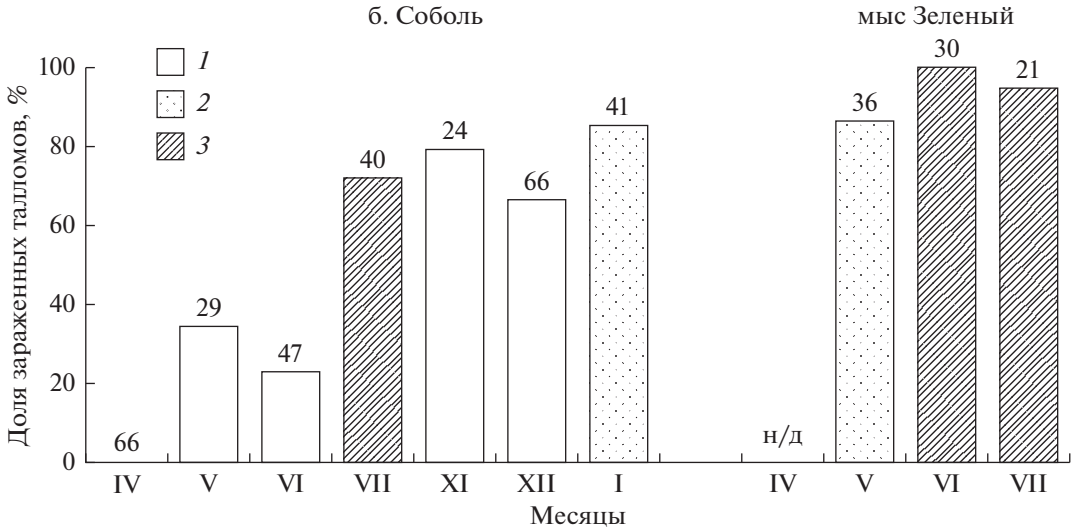

Рис. 2. Доля зараженных талломов *Undaria pinnatifida* и степень инфицирования ундарии бурой эндофитной водорослью *Laminariocolax aecidioides* в двух акваториях зал. Петра Великого (Японское море) в 2018 г. *1* – единичные (до 5 экз. на пластине) пятна диаметром до 3 мм; *2* – многочисленные (более 10 экз. на пластине) несливающиеся пятна диаметром до 5 мм; *3* – многочисленные (более 50 экз. на пластине) часто сливающиеся пятна диаметром более 5 мм, покрывающие более 10% поверхности пластины. Н/д – нет данных; цифры над столбцами – количество проанализированных талломов.

гии (Lein et al., 1991). Поражение ламинарий эндофитом *L. aecidioides* является серьезной проблемой при их культивировании, так как снижает товарное качество продукции (Yoshida, Akiyama, 1979). Распространение *L. aecidioides* в российских водах также может представлять угрозу для популяций ламинариевых водорослей, которые в зал. Петра Великого относятся к ценозообразующим видам. В связи с этим изучение биологии и патогенности *L. aecidioides* в зал. Петра Великого представляет несомненный интерес.

В настоящей работе дано описание *L. aecidioides* в естественных условиях обитания и в культуре; приведены некоторые сведения о биологии этого вида в зал. Петра Великого.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Слоевища *Undaria pinnatifida* собирали в б. Соболь и южнее мыса Зеленый (Уссурийский залив, зал. Петра Великого, Японское море) в июле 2015 г. (31 таллом) и 2017 г. (48 талломов), а также в марте–августе и в ноябре 2018 г. Объем проанализированного в 2018 г. материала представлен на рис. 2. Для обнаружения других возможных носителей *Laminariocolax aecidioides* собирали талломы *Costaria costata* и *Sargassum pallidum* (по несколько талломов каждого вида), росших среди слоевищ *U. pinnatifida*. В б. Соболь дополнительно ежемесячно с августа по октябрь 2018 г. собирали по несколько талломов *S. pallidum*. Этот вид вегетирует круглогодично и поселяется среди зарослей *U. pinnatifida*, поэтому может быть местом депонирования эндофита во время отсутствия спорофитов ундарии в природе. Кроме этого были проанализированы слоевища *U. pinnatifida*, собранные в мае–июне 2001 г. и хранящиеся в гербарии лаборатории автотрофных организмов ННЦМБ ДВО РАН (10 талломов).

Макроводоросли просматривали в проходящем свете для обнаружения более темных пятен и других аномалий. Срезы с пятен, а также из верхней, средней и нижней частей пластины *U. pinnatifida* изготавливали с помощью бритвенного лезвия. Срезы просматривали под световым микроскопом CarlZeiss AxioVert 200M, микрофотографии выполняли с помощью цифровой фотокамеры AxioCam HRc.

В июне 2018 г. образцы *L. aecidioides* выделили в свободноживущую культуру. Для этого фрагменты пластины *U. pinnatifida*, содержавшие эндофит с развитыми многогнездными зооидангиями, помещали в чашки Петри со стерильной морской водой (ультрафиолет, фильтрация 0.2 мкм, кипячение), обогащенной средой ES (Provasoli, 1968), и выдерживали при температуре 15 ± 1°C, освещенности 10 мкЕ/(м^2 с) и фотопериоде 12 ч свет : 12 ч темнота для выхода спор *L. aecidioides*. Через 3 сут после прорастания спор *L. aecidioides* фрагменты ундарии удалили, а микроскопические проростки *L. aecidioides* содержали в прежних условиях до формирования видимых невооруженным глазом талломов. Сформировавшиеся нитчатые слоевища *L. aecidioides* с помощью блендера разбили на мелкие (3–5-клеточные) фрагменты, которые выделили в чистую культу-

ру. До настоящего времени культура содержится в условиях, аналогичных указанным выше. Изолированные культуры депонировали с номером LamAec1 в раздел коллекции гаметофитов морских бурых водорослей в составе Биоресурсной коллекции “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН (РК “Морской биобанк”, реестровый № 506171).

Для определения влияния температуры на рост и развитие *L. aecidioides* образцы выращивали в чашках Петри в течение 2 нед. из спор при температуре 5 и 15°С. Прочие условия соответствовали описанным выше. В каждом температурном варианте под микроскопом анализировали не менее 10 талломов водоросли.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфология Laminariocolax aecidioides внутри слоевищ Undaria pinnatifida в естественных условиях

Слоевище *L. aecidioides* эндофитное, образует характерные темные пятна на пластине, реже на спорофиллах и ребре *U. pinnatifida*. Вегетативные нити однорядные, неправильно поочередно разветвленные, глубоко проникают в ткани хозяина и развиваются среди ситовидных трубок и гиф, не проникая в них (рис. 1в). Клетки нитей прямые и извилистые, шириной 6.2–16.5 мкм и длиной 17–68 мкм, с одним или с несколькими дисковидными или лентовидными хлоропластами (рис. 1г). Под коровыми клетками хозяина нити формируют округлую псевдопаренхимную структуру, которая по мере роста боковых вертикальных коротких нитей (направленных к поверхности слоевища хозяина) разрывает коровый слой базифита, образуя эцидий (aecidium) – подушковидное или линзовидное образование в коровом слое базифита (рис. 1е), состоящее из многогнездных зооидангиев и волосков, среди которых иногда встречаются одногнездные зооидангии и короткие вегетативные нити. Настоящие волоски состоят из прозрачных клеток шириной 4.1–8.2 мкм и длиной до 79 мкм (рис. 1д). Многогнездные зооидангии однорядные, цилиндрические; их ширина 7.8–12 мкм, длина – 23–44 мкм (рис. 1ж). Одногнездные зооидангии овальные (ширина – 9–14 мкм, длина – 17–37 мкм), сидячие или на одноклеточной ножке (рис. 1з).

Морфология L. aecidioides в культуре

Слоевище микроскопическое; состоит из однорядных неправильно поочередно ветвящихся нитей; боковые ветви отходят практически под прямым углом; толщина нитей к вершине уменьшается (рис. 3а). Молодые клетки цилиндрические, бочонковидные, расширенные в середине или извилистые, шириной до 15 мкм, а в быстрорастущей культуре до 7 мкм; отношение ширины к длине составляет 1 : 2–10. Форма клеток более старых нитей варьирует от бочонковидной до четковидной; их ширина 7–15 мкм, отношение ширины к длине составляет 1 : 0.5–1. Хлоропласты пластинчатые, лентовидные, с пиреноидом, по 1–2 в клетке. В некоторых частях талломов отмечено массовое образование боковых червеобразных нитей, формирующих округлые структуры (рис. 3б). Волоски длинные, развиваются латерально; они обильны в молодой культуре и единичны в старой (рис. 3в). Многогнездные зооидангии однорядные, цилиндрические, сидячие или на одноклеточной ножке (размер 7–11 × 40–90 мкм); развиваются латерально (рис. 3г). Одногнездные зооидангии овальные, сидячие или на ножке (размер 11 × 20 мкм).

При выращивании *L. aecidioides* из спор при температуре 5°С через 2 нед. слоевища состояли из 4–10 клеток; размеры талломов не превышали 100 мкм (рис. 3д). При температуре 15°С через 2 нед. сформировались хорошо развитые разветвленные талломы длиной более 2 мм с обильными волосками, многогнездными и одногнездными зооидангиями (рис. 3е).

Инфицированность слоевищ U. pinnatifida эндофитом L. aecidioides в природе

В 2018 г. признаки заражения талломов *U. pinnatifida* эндофитной нитчатой бурой водорослью *L. aecidioides* появлялись в мае и постепенно усиливались к июлю (рис. 2). В апреле нити *L. aecidioides* отсутствовали даже на срезах пластины ундарии. У мыса Зеленый доля зараженных растений летом 2018 г. достигала 100%, а в б. Соболь – 80%. Зараженность талломов *U. pinnatifida* в б. Соболь в июне–июле 2015 и 2017 гг. была сходной: доля талломов с видимыми пятнами эндофита, иногда покрывавшими бóльшую часть пластины, достигала 90%. В 2018 г. в б. Соболь в ноябре до 79%, а в декабре 66% талломов *U. pinnatifida* имели признаки заражения эндофитом: небольшие (до 2 мм) темно-коричневые пятна и перфорации на дистальном конце пластины на расстоянии не более 3 см от ее вершины. К январю 2019 г. степень заражения ундарии достигала 86%; почти у 35% растений эндофит занимал до 5% поверхности таллома, образуя пятна диаметром до 5 мм в его дистальной части. На срезе, сделанном через пятно, в сердцевине базифита были видны многочисленные нити *L. aecidioides*, а на поверхности таллома – обширные сорусы многогнездных зооидангиев. Вне пятна нити эндофита в базифите не найдены.

Анализ гербарного материала, собранного в 2001 г., не выявил слоевищ *U. pinnatifida*, зараженных *L. aecidioides*.

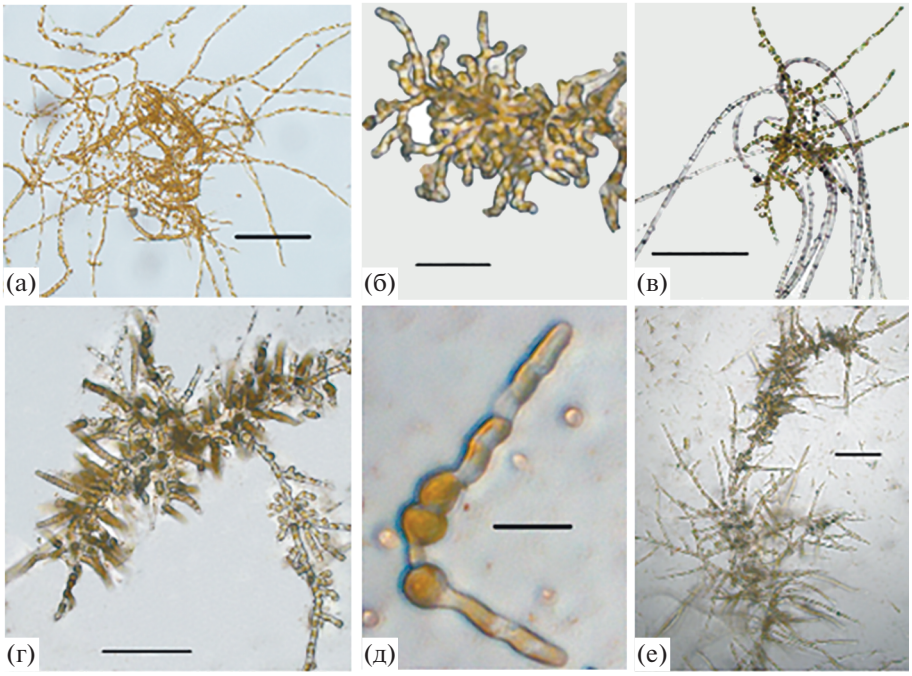

Рис. 3. Морфология бурой эндофитной водоросли *Laminariocolax aecidioides* в культуре: а – внешний вид водоросли; б – округлые структуры, образованные разрастанием червеобразных нитей; в – многочисленные волоски; г – многогнездные зооидангии; д – образцы, выращенные из спор, на 14-е сут культивирования при температуре 5°С; е – образцы, выращенные из спор, на 14-е сут культивирования при температуре 15°С. Масштаб: а, г, е – 100 мкм; б – 50 мкм; д – 20 мкм.

На талломах ундарии пятна эндофита наиболее часто располагались в средней и дистальной частях пластины, преимущественно вдоль ребра и менее обильно в латеральной части (рис. 1а). Эндофит практически не развивался в зоне роста (основание пластины) и очень редко встречался на ребре. Присутствие *L. aecidioides*, по-видимому, не влияло на репродуктивный потенциал базифита, поскольку взрослые растения ундарии имели хорошо развитые спорофиллы со зрелой спороносной тканью. Споры, полученные от таких растений, были жизнеспособными и формировали гаметофиты. Кроме этого, внешние признаки заражения спорофилл наблюдались лишь у 5% исследованных талломов *U. pinnatifida*. На талломах *Costaria costata* и *Sargassum pallidum*, растущих среди зараженных талломов *U. pinnatifida*, эндофит *L. aecidioides* не обнаружен.

ОБСУЖДЕНИЕ

Морфология *Laminariocolax aecidioides* из зал. Петра Великого соответствует оригинальному описанию вида (Rosenvinge, 1893), а также его описаниям из природных популяций других регионов (Abbott, Hollenberg, 1976; Gauna et al., 2009) и культуры (Pedersen, 1981; Gauna et al., 2009). Развивающиеся зооидангии, прорастая на поверхность плотной группой, приподнимают и разрывают коровый слой базифита, формируя на поверхности водоросли-хозяина подушковидные скопления, так называемые эцидии, которые являются характерной особенностью вида. Наличие этого признака позволило с уверенностью определить видовую принадлежность эндофита в талломах *Undaria pinnatifida*. Одним из диагностических признаков рода является поверхностное расположение нитей, которые стелются по поверхности и образуют дерновинки или неглубоко проникают в ткани базифита (Abbott, Hollenberg, 1976; Перестенко, 1980). Однако в ряде исследований показано, что нити могут достигать сердцевины, образуя густую распростертую сеть (Peters, Schaffelke, 1996; Gauna et al., 2009). В изученных талломах *U. pinnatifida* нити *L. aecidioides* располагались преимущественно в сердцевине. Глубокое проникновение эндофита в *U. pinnatifida*, вероятно, связано с особенностями анатомии ундарии. По сравнению с другими ламинариевыми водорослями, *U. pinnatifida* имеет довольно рыхлый и тонкий коровый слой, а также рыхлую сердцевину с большим количеством полостей, где свободно могут развиваться нити *L. aecidioides*.

До недавнего времени считали, что в дальневосточных морях России род *Laminariocolax* представлен двумя видами: у берегов Камчатки – *L. tomentosoides* (см.: Клочкова и др., 2009) и у берегов Приморья – *L. draparnaldioides* (см.: Перестенко,

1980). Находка *L. aecidioides* в зал. Петра Великого Японского моря – первое свидетельство обитания этого вида в российских водах Тихого океана. Ранее в сопредельных водах данный вид указывался только для Японии (Yoshida, Akiyama, 1979; Yoshida et al., 2015). Возможно, он мог быть занесен в зал. Петра Великого из Японии с судовыми балластными водами. Отсутствие *L. aecidioides* на талломах *U. pinnatifida*, собранных в 2001 г. и хранящихся в гербарии, позволяет говорить о возможной инвазии вида в российские воды из сопредельных акваторий в начале XXI века.

Все виды эндофитных бурых водорослей считаются высокопатогенными. Инфицированность ими представителей порядка Laminariales – довольно обычное и широко распространенное явление (Yoshida, Akiyama, 1979; Apt, 1988; Kawai, Tokuyama, 1995; Peters, Schaffelke, 1996; Gauna et al., 2009). Морфологически присутствие эндофита в талломах *U. pinnatifida* проявлялось в образовании темных пятен, которые различались по форме и размеру, а также в появлении перфораций в средней и дистальной частях пластины, преимущественно вдоль ребра, реже на спорофиллах и ребре. Других морфологических аномалий (деформация пластины, ее гиперплазия, образование галлов и опухолевидных разрастаний), отмеченных ранее для зараженных *L. aecidioides* ламинариевых водорослей (Apt, 1988; Gauna et al., 2009; Murúa et al., 2017), мы не обнаружили.

Количество зараженных *L. aecidioides* талломов *U. pinnatifida* было наибольшим осенью, зимой и летом, когда их доля в популяции достигала 72–100%. Эндофит обычно располагался в дистальной наиболее старой части таллома, здесь же отмечена его наибольшая концентрация в течение периода вегетации ундарии. Лишь в июне–июле пятна *L. aecidioides* встречались в средней части таллома вдоль ребра и на спорофиллах. Полученные данные согласуются с мнением исследователей, считающих, что в природе инфицирование базифита эндофитными водорослями происходит на ранних стадиях его развития (Peters, Schaffelke, 1996; Bernard et al., 2018). Ранее для *Saccharina japonica* было показано, что только проростки могут быть инфицированы эндофитной бурой водорослью *Streblonema* sp., так как нити эндофита не проникают в ткань зрелых растений с неповрежденной поверхностью (Apt, 1988). По мере роста талломов ламинариевых водорослей, который обеспечивается делением и растяжением клеток в расположенной на границе между стволиком и пластиной интеркалярной зоне роста, инфицированные части пластины отодвигаются к верхушке пластины, где и наблюдается максимальная концентрация эндофита. В зал. Петра Великого первые проростки *U. pinnatifida* появлялись в конце октября – в начале ноября. Длина талломов, собранных в середине ноября, не превышала 10 см. Пятна *L. aecidioides* находили даже у растений длиной 3–4 см. Однако в этот период концентрация эндофита на пластине *U. pinnatifida* была минимальной (не более пяти пятен диаметром менее 2 мм). В январе 2019 г. степень заражения ундарии *L. aecidioides* составляла 86%; более чем у 1/3 растений эндофит занимал до 5% поверхности таллома в дистальной части, образуя пятна диаметром до 5 мм. Максимальное развитие эндофита в талломах *U. pinnatifida* отмечено в июне–июле. В это время на пластине насчитывали до 100 пятен диаметром от 3 до 30 мм. Следует заметить, что июнь–июль – период спороношения *U. pinnatifida* и естественного разрушения ее пластины в результате разрыхления тканей. Наряду с высокой температурой воды (>15°C) это способствует массовому развитию *L. aecidioides* в слоевищах ундарии. Активный рост эндофита при температуре 15°C мы наблюдали при исследовании развития *L. aecidioides* в свободной культуре. Низкая доля инфицированных талломов ундарии в апреле–мае может быть обусловлена прижизненным разрушением дистальной части таллома, что характерно для всех ламинариевых водорослей и в результате чего происходит потеря инфицированных участков талломов.

В литературе обсуждается предположение, что поселение эндофитных водорослей в талломах других водорослей является стрессовым для базифитов и может влиять на устойчивость их популяции к флуктуациям условий обитания (Schaffelke et al., 1996; Eggert et al., 2010; Schoenrock et al., 2013). Показано, что массовое развитие эндофита *Streblonema* sp. ингибирует формирование сорусов у *Laminaria hyperborea*, снижая способность популяции к возобновлению (Lein et al., 1991). Эти же авторы предполагают, что уменьшение прочности талломов *L. hyperborea* в результате развития эндофита снижает их устойчивость к волновому воздействию (Lein et al., 1991). Показано, что при заражении красной водоросли *Chondrus crispus* зелеными эндофитными водорослями *Acrochaete operculata* и *A. heteroclada* снижались темпы роста базифита, прочность его талломов и их способность к регенерации. Кроме этого, инфицированные эндофитами талломы макроводорослей легко подвергаются заражению вторичной бактериальной инфекцией (del Campo et al., 1998), к тому же их более активно поедают травоядные беспозвоночные (Correa, McLachlan, 1992; Buschmann et al., 1997). Высокая степень инфицирования *U. pinnatifida* в зал. Петра Великого бурой эндофитной водорослью *L. aecidioides*, вероятно, может представлять серьезную угрозу для популяции ценозообразующего вида и способствовать ее сокращению. Поэтому необходимы дальнейшие исследования биологии и патогенности *L. aecidioides* в условиях зал. Петра Великого.

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 поддержке гранта РФФИ 16-04-00257 “Трудноразличимые видовые комплексы макроводорослей побережья северо-западной Пацифики”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Евсеева Н.В. Дополнения к флоре морских водорослей-макрофитов южного Сахалина и южных Курильских островов (Россия) // Альгология. 2016. Т. 26. № 4. С. 387–402.

Жигадлова Г.Г. Эпифиты и эндофиты водорослей рода *Palmaria* Stackhous у берегов восточной Камчатки // Изв. ТИНРО. 2011. Т. 164. С. 300–311.

Жигадлова Г.Г. Первая находка красной эпифитной водоросли *Pseudorhododiscus nipponicus* Masuda, 1976 (Rhodophyta: Palmariales) в Авачинском заливе (восточная Камчатка) // Биол. моря. 2014. Т. 40. № 3. С. 238–239.

Клочкова Н.Г., Королева Т.Н., Кусиди А.Э. Атлас водорослей-макрофитов прикамчатских вод. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. 2009. Т. 1. 218 с.

Левенец И.Р. Дополнение к флоре морских водорослей района острова Кунашир (Курильские острова) // Ботан. журн. 1996. Т. 81. № 3. С. 133–137.

Левенец И.Р., Скрипцова А.В., Попова Л.И. Флористические находки в заливе Петра Великого Японского моря // Ботан. журн. 2006. Т. 91. № 7. С. 1107–1109.

Перестенко Л.П. Водоросли залива Петра Великого. Л.: Наука. 1980. 232 с.

Перестенко Л.П., Штрик В.А. Новые и интересные виды бурых водорослей острова Сахалин // Новости системат. низш. раст. 2005. Т. 39. С. 75–88.

Писарева Н.А., Клочкова Н.Г. Два новых вида водорослей рода *Neoabbottiella* (Rhodophyta: Halymeniales) из морей российского Дальнего Востока // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 6. С. 411–421.

Селиванова О.Н. Fauchea guiryi sp. n.: первая находка представителя семейства Faucheaceae (Rhodophyta: Rhodymeniales) в дальневосточных морях России // Биол. моря. 2008. Т. 34. № 6. С. 396–403.

Селиванова О.Н., Жигадлова Г.Г. Phycodrys valentinae sp. nov. (Delesseriaceae, Rhodophyta) с обсуждением других видов рода *Phycodrys* из северной Пацифики // Биол. моря. 2003. Т. 29. № 4. С. 240–248.

Селиванова О.Н., Жигадлова Г.Г. Эпифитон морских бентосных водорослей шельфа восточной Камчатки // Международ. журн. прикл. и фундамент. исслед. 2014. Т. 11. Ч. 1. С. 54–58.

Селиванова О.Н., Жигадлова Г.Г. Flabellina avachensis gen. et sp. n. – новые род и вид семейства Delesseriaceae (Rhodophyta) из прикамчатских вод Тихого океана // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 3. С. 179–188.

Скрипцова А.В., Титлянова Т.В. Дополнения к флоре морских макроводорослей острова Кунашир // Ботан. журн. 2017. № 7. С. 936–943.

Abbott I.A., Hollenberg G.J. Marine algae of California. Stanford, California: Stanford Univ. Press. 1976. 827 p.

Apt K.E. Etiology and development of hyperplasia induced by *Streblonema* sp. (Phaeophyta) on members of the Laminariales (Phaeophyta) // J. Phycol. 1988. V. 24. P. 28–34.

Bernard M., Rousvoal S., Jacquemin B. et al. qPCR-based relative quantification of the brown algal endophyte *Laminarionema elsbetiae* in *Saccharina latissima*: variation and dynamics of host–endophyte interactions // J. Appl. Phycol. 2018. V. 30. № 5. P. 2901–2911.

Burkhardt E., Peters A.F. Molecular evidence from nrDNA ITS sequences that *Laminariocolax* (Phaeophyceae, Ectocarpales *sensu lato*) is a worldwide clade of closely related kelp endophytes // J. Phycol. 1998. V. 34. P. 682–691.

Buschmann A.H., Correa J.A., Beltrán J., Retamales C. Determinants of disease expression and survival of infected individual fronds in wild populations of *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta) in central and southern Chile // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1997. V. 154. P. 269–280.

Correa J.A., McLachlan J.L. Endophytic algae of *Chondrus crispus* (Rhodophyta). IV. Effects on the host following infections by *Acrochaete operculata* and *A. heteroclada* (Chlorophyta) // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1992. V. 81. P. 73–87.

del Campo E., García-Reina G., Correa J.A. Degradative disease in *Ulva rigida* (Chlorophyceae) associated with *Acrochaete geniculata* (Chlorophyceae) // J. Phycol. 1998. V. 34. P. 160–166.

Edelstein T., McLachlan J. Investigations of the marine algae of Nova Scotia. V. Additional species new or rare to Nova Scotia // Can. J. Bot. 1968. V. 46. P. 993–1003.

Eggert A., Peters A.F., Küpper F.C. Potential impact of climate change on endophyte infections in kelp sporophytes // Seaweeds and their role in globally changing environment / Eds J. Seckbach, R. Einav, A. Israel. Dordrecht: Springer. 2010. P. 139–154.

Gauna M.C., Parodi E.R., Cáceres E.J. Epi-endophytic symbiosis between *Laminariocolax aecidioides* (Ectocarpales, Phaeophyceae) and *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyceae) growing on Argentinian coasts // J. Appl. Phycol. 2009. V. 21. P. 11–18.

Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication. Galway: Natl. Univ. Ireland. 2018. http://www.algaebase.org. Cited November 20, 2018.

Kawai H., Tokuyama M. Laminarionema elsbetiae gen. et sp. nov. (Ectocarpales, Phaeophyceae), a new endophyte in *Laminaria* sporophytes // Phycol. Res. 1995. V. 43. P. 185–190.

Lein T.E., Sjøtun K., Wakili S. Mass-occurrence of brown filamentous endophyte in the lamina of the kelp *Laminaria hyperborea* (Gunnerus) Foslie along the southwestern coast of Norway // Sarsia. 1991. V. 76. P. 187–193.

Murúa P., Westermeier R., Muñoz L.A. et al. Laminariocolax aecidioides as the causative agent of malformations in *Lessonia berteroana* from Atacama: DNA barcoding, ultrastructure and field prevalence // Phycologia. 2017. V. 56. № 4. P. 133.

Pedersen P.M. The life histories in culture of the brown algae *Gononema alariae* sp. nov. and *G. aecidioides* comb. nov. from Greenland // Nord. J. Bot. 1981. V. 1. P. 263–270.

Peters A.F., Schaffelke B. Streblonema (Ectocarpales, Phaeophyceae) infection in the kelp *Laminaria saccharina* (Laminariales, Phaeophyceae) in the western Baltic // Hydrobiologia. 1996. V. 326–327. P. 111–116.

Provasoli L. Media and prospects for the cultivation of marine algae // Cultures and collections of algae / Eds A. Watanabe, A. Hattori. Proc. U.S.-Japan Conf. Hakone, Japan, September 1966. Japanese Society of Plant Physiology. 1968. P. 63–75.

Rosenvinge L.K. Grønlands Havalger // Meddelelser om Grønland. 1893. V. 3. P. 763–981.

Schaffelke B., Peters A.F., Reusch T. Factors influencing depth distribution of soft bottom *Laminaria saccharina* (L.) Lamour in Kiel Fjord, Baltic Sea // Hydrobiologia. 1996. V. 326–327. P. 117–123.

Schoenrock K., Amsler C.D., McClintock J.B., Baker B.J. Endophyte presence as a potential stressor on growth and survival in Antarctic macroalgal hosts // Phycologia. 2013. V. 52. № 6. P. 595–599.

Yoshida T., Akiyama K. Streblonema (Phaeophyta) infection in the frond of cultivated *Undaria* (Phaeophyceae) // Proc. Ninth Int. Seaweed Symp. 1979. V. 9. P. 219–223.

Yoshida T., Suzuki M., Yoshinaga K. Checklist of marine algae of Japan (revised in 2015) // Jpn. J. Phycol. 2015. V. 63. P. 129–189.

The First Record of the Brown Endophytic Alga *Laminariocolax aecidioides* (Rosenvinge) A.F. Peters, 1998 (Ectocarpales: Phaeophyceae) in the Russian Far-Eastern Seas

A. V. Skriptsova[a] and T. L. Kalita[a]

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

The brown endophytic alga *Laminariocolax aecidioides* (Ectocarpales: Chordariaceae) growing in *Undaria pinnatifida* was found in Ussuriisky Bay (Peter the Great Bay, the Sea of Japan) for the first time. This finding is the first record of the species in the Russian Far-Eastern seas. The paper presents the morphological features of *L. aecidioides* in the nature and in the free-living culture, as well as some data on its biology in Peter the Great Bay.

Keywords: Laminariocolax aecidioides, endophyte, morphology, growth, pathogenicity, development in the culture

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 53–59

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 574.64

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ЦИНКА И НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЦИНКА НА РАННЕЕ РАЗВИТИЕ МОРСКОГО ЕЖА *SCAPHECHINUS MIRABILIS* (AGASSIZ, 1864) (ECHINODERMATA: ECHINOIDEA)

© 2020 г. А. А. Мазур[1, *], Е. В. Журавель[2], В. В. Слободскова[1], М. А. Мазур[2]

[1]*Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия*

[2]*Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690950, Россия*

**e-mail: mazur.aa@poi.dvo.ru*

Поступила в редакцию 02.09.2019 г.
После доработки 03.10.2019 г.
Принята к публикации 03.10.2019 г.

Показано, что нано- и ионная формы цинка в концентрациях 50–100 мкг/л оказывали токсическое воздействие на эмбрионы плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis* (Agassiz, 1864) и полностью подавляли развитие личинок при содержании 200–400 мкг/л. Эффективные концентрации EC_{50}, нарушавшие оплодотворяющую способность сперматозоидов и развитие личинок *S. mirabilis*, для наноформы цинка составили 490 ± 16 и 29 ± 4 мкг/л, а для ионной формы – 6526 ± 99 и 67 ± 12 мкг/л соответственно. Установлено, что на раннее развитие *S. mirabilis* наноформа оксида цинка оказывала влияние в более низких концентрациях, чем ионная форма этого металла.

Ключевые слова: плоский морской еж, *Scaphechinus mirabilis*, наночастицы ZnO, ионы Zn^{2+}, токсичность, сперматозоиды, личинки

DOI: 10.31857/S0134347520010064

Развитие нанотехнологий как приоритетного направления мировой промышленности способствовало значительному увеличению объемов производства и использования наноматериалов, в том числе на основе оксида цинка, что привело к росту поступления этих соединений в окружающую среду. Благодаря своим размерам, наночастицы обладают уникальными физико-химическими свойствами, увеличивающими их биодоступность и токсичность для живых организмов (Mukherjee, Acharya, 2018).

Загрязнение окружающей среды соединениями цинка происходит в результате естественных процессов, например, при разрушении и растворении горных пород и цинксодержащих минералов, а также при добыче и переработке цинксодержащих руд, сжигании минерального топлива, в металлургическом и химическом производстве. Нанодисперсный ZnO активно используется при изготовлении пластмасс, керамики, стекла, цемента, резины и красителей (Fairbarn et al., 2011; Ma et al., 2013). Кроме этого, благодаря способности поглощать и отражать ультрафиолет, наночастицы ZnO входят в состав косметических средств, в том числе солнцезащитных кремов. Вследствие активного применения наночастицы ZnO попадают непосредственно в водную среду (Gottschalk et al., 2009; Ma et al., 2013).

Воздействие наночастиц металлов, в том числе оксида цинка, на гидробионтов недостаточно изучено. Имеются немногочисленные данные о том, что токсичность наноформы ZnO может проявляться при прямом воздействии на генетический материал или при индуцировании активных форм кислорода и образовании токсичных ионов, высвобождающихся из находящихся в воде наночастиц (Magdolenova et al., 2014). Некоторые авторы отмечают, что ионная форма цинка менее токсична, чем наноформа ZnO (Navarro et al., 2008; Farré et al., 2009; Manzo et al., 2013). Исследования, проведенные на рыбе *Danio rerio*, показали, что на ранних стадиях развития животных наночастицы оксида цинка более токсичны, чем таковые алюминия и титана (Zhu et al., 2008).

Из-за недостатка информации невозможно прогнозировать последствия проникновения соединений цинка в морские биоценозы и разработать рекомендации по безопасному применению данных соединений. Всестороннее изучение влияния нано- и ионной форм цинка на гидробион-

тов остается актуальной проблемой современной экотоксикологии, так как независимо от способа попадания этих соединений в окружающую среду со временем они проникают в морские экосистемы (Кукла и др., 2017).

Известно, что ранние стадии развития морских беспозвоночных наименее устойчивы к воздействию металлов. Благодаря высокой чувствительности и относительной доступности гамет, эмбрионов и личинок морских ежей, их часто используют для определения токсичности отдельных химических веществ и природных сред. Опубликованы данные о влиянии ионов цинка на эмбриональное и личиночное развитие морских ежей, обитающих в разных районах Мирового океана (Phillips et al., 1998; Larrain et al., 1999; Kobayashi, Okamura, 2004; Nadella et al., 2013; Tellis et al., 2014). Сведения о токсическом воздействии наноформ оксида цинка на морских ежей пока немногочисленны (Fairbairn et al., 2011; Manzo et al., 2013).

Цель настоящего исследования – изучение токсичности ионов цинка и наноразмерных частиц оксида цинка при воздействии на сперматозоиды и ранние стадии развития плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Особей морского ежа *Scaphechinus mirabilis* собирали в зал. Восток (зал. Петра Великого Японского моря) на глубине 4.0–4.5 м и выдерживали в аквариумах с морской водой, взятой в месте их сбора, в течение 2 сут для акклиматизации.

Половые продукты *S. mirabilis* получали, стимулируя нерест 0.5 М раствором хлорида калия. Яйцеклетки подготавливали по стандартной методике (Бузников, Подмарев, 1975). Сперму собирали непосредственно перед экспериментом и разбавляли чистой морской водой. Для проверки качества половых клеток проводили контрольное оплодотворение; яйцеклетки с уровнем оплодотворения ниже 95% в тестах не использовали.

Раствор, содержавший наночастицы, готовили из оксида цинка в ультрадисперсной форме (Sigma-Aldrich, размер частиц <50 нм). К навеске добавляли необходимый объем дистиллированной воды, после этого раствор помещали в ультразвуковую ванну “Сапфир” на 30 мин. Для приготовления раствора, содержавшего ионы цинка, использовали хлорид цинка. Концентрации тестируемых растворов составляли 20, 50, 100, 200 и 400 мкг/л ионов цинка и наночастиц оксида цинка с учетом их содержания в воде из системы аквариальной (10 мкг/л цинка), которую использовали для приготовления растворов.

Проведено два варианта эксперимента. В опыте 1 (спермиотест – влияние тестируемых растворов на оплодотворяющую способность сперматозоидов) сперматозоиды выдерживали в течение 1 ч в тестируемых растворах и затем использовали для оплодотворения яйцеклеток; оплодотворение проводили в чистой стерильной морской воде. Через 10 мин после внесения суспензии сперматозоидов подсчитывали количество оплодотворенных яйцеклеток. В опыте 2 (эмбриотест – влияние тестируемых растворов на развитие эмбрионов и личинок), согласно описанной ранее методике (Manzo et al., 2013), оплодотворение проводили в чистой морской воде, затем зиготы помещали в тестируемые растворы, в которых в течение 48 ч проходило дальнейшее развитие эмбрионов и личинок. Подсчитывали нормально и аномально развивающиеся эмбрионы и личинки на стадии бластулы (10 ч), гаструлы (18 ч) и среднего плутеуса I стадии (48 ч). Влияние цинка оценивали по количеству аномалий на всех стадиях развития. Для промеров и изготовления фотографий часть личинок фиксировали 0.02% раствором глутаральдегида. Через 48 ч после начала эксперимента измеряли длину первой пары рук у 100 личинок из каждой пробы с помощью микроскопа Axio Imager A1 (Carl Zeiss), оснащенного фотокамерой.

Показатель токсичности EC_{50} соединений цинка для сперматозоидов и среднего плутеуса I стадии рассчитывали с помощью метода пробит-анализа с использованием таблиц (Прозоровский и др., 1978). Результаты всех экспериментов обрабатывали, используя пакеты программ Excel и Statistica: определяли среднее арифметическое и стандартное отклонение. Достоверность различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа по критерию Даннетта (Dunnett).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенный нами спермиотест показал, что нано- и ионная формы цинка снижали оплодотворяющую способность сперматозоидов морского ежа *Scaphechinus mirabilis*. Доля оплодотворенных яйцеклеток достоверно уменьшилась после экспозиции сперматозоидов в растворах, содержавших 50 мкг/л наноразмерного оксида цинка и 100 мкг/л ионной формы этого элемента. При воздействии на сперматозоиды раствора ZnO в концентрации 400 мкг/л число оплодотворенных яйцеклеток снизилось почти до 50%. При воздействии ионной формы цинка в этой же концентрации оплодотворяющая способность спермиев снизилась менее чем на 20% (рис. 1).

В ходе эмбриотеста отставание от контроля и нарушения в развитии наблюдали уже на стадии бластулы, аномалии развития отмечены у 10–20% эмбрионов. Это были деформированные или несформированные бластулы, прекратившие развитие на стадии морулы. На стадии гаструлы при концентрации токсикантов 100 мкг/л количество аномальных личинок достигало 70% (рис. 2); заметим, что уровень 50% является критическим для нормального воспроизводства популяции или лабораторной культуры и свидетельствует о сильном ингибирующем воздействии. При низ-

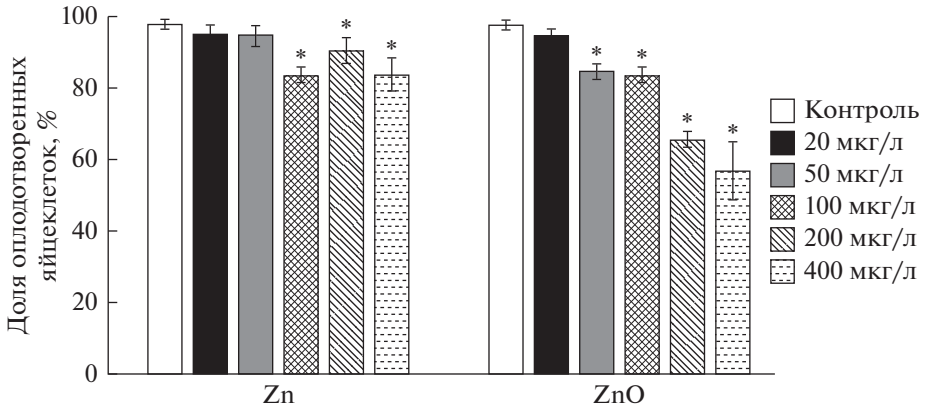

Рис. 1. Влияние ионов цинка и наночастиц оксида цинка на оплодотворяющую способность сперматозоидов морского ежа *Scaphechinus mirabilis* (среднее ± стандартное отклонение, $n = 8$). *Отличие от контроля достоверно ($p < 0.05$).

ких концентрациях токсикантов гаструлы отставали в развитии от контроля, а при концентрациях выше 100 мкг/л имели неправильную цилиндрическую форму. В небольшом количестве встречались мезенхимные бластулы и экзогаструлы.

На стадии среднего плутеуса под действием тестируемых растворов цинка в концентрациях 200 и 400 мкг/л аномалии развития (преимущественно отсутствие сформированного скелета) были отмечены у 100% личинок (рис. 3). Нарушение развития на этой стадии проявилось и как изменение размеров плутеусов; достоверное различие размеров экспериментальных и контрольных личинок *S. mirabilis* выявлено при воздействии обоих токсикантов в концентрации 100 мкг/л (табл. 1).

На основе полученных данных рассчитаны эффективные концентрации EC_{50} соединений цинка. Нарушающая оплодотворяющую способность у 50% сперматозоидов EC_{50} для цинка в ионной форме составила 6526 ± 99 мкг/л, а для наночастиц оксида цинка – 490 ± 16 мкг/л. Приводящая к нарушениям развития на стадии среднего плутеуса EC_{50} для ионной формы цинка составила 67 ± 12 мкг/л, а для наноразмерного оксида цинка – 29 ± 4 мкг/л.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что на развитие плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis* наночастицы оксида цинка оказывали более токсичное воздействие, чем ионы этого металла. Таким образом, подтверждены данные, полученные ранее для других видов морских ежей. Для средиземноморского *Paracentrotus lividus* было показано, что при инкубации оплодотворенных яйцеклеток в растворе, содержавшем 100 мкг/л $ZnCl_2$, после 48 ч у 75% личинок наблюдались нарушения в формировании личиночного скелета, а при концентрации $ZnCl_2$ 200 мкг/л аномалии развития имели все личинки. При инкубации личинок в воде с добавлением наночастиц оксида цинка уже при концентрации 60 мкг/л на стадии среднего плутеуса все личинки имели аномалии развития (Manzo et al., 2013).

Нарушение формирования скелета плутеуса при воздействии растворов цинка, вероятно, связано с тем, что данный элемент препятствует нормальному накоплению кальция на начальных этапах развития личинки морского ежа. Считают, что цинк способен ингибировать действие белка Ca^{2+}-АТФазы, в свою очередь, это приводит к снижению накопления ионов Ca^{2+}. Как правило, эффект ингибирования наблюдался на стадии образования бластулы и во время гаструляции, что впоследствии влияло на формирование скелета плутеуса (Tellis et al., 2014). В нашем эксперименте при высоких концентрациях токсикантов на стадии среднего плутеуса все личинки имели аномии развития, у них отсутствовал сформированный скелет (рис. 3). Подобные аномалии личинок, формировавшихся в присутствии ионов цинка в концентрации выше 50 мкг/л, описаны и у морского ежа *Anthocidaris crassispina* (см.: Kobayashi, Okamura, 2004).

Одной из причин нарушения раннего развития морских ежей может быть токсическое воздействие соединений цинка на генном уровне. По-

Таблица 1. Размеры личинок морского ежа *Scaphechinus mirabilis* на стадии среднего плутеуса (48 ч) в опыте и контроле ($n = 100$)

Концентрация, мкг/л	Длина первой пары рук (среднее ± станд. откл.), мкм	
	Zn^{2+}	ZnO (нано)
Контроль	247.2 ± 17.9	247.2 ± 17.9
20	213.2 ± 13.3	226.4 ± 22.9
50	206.5 ± 25.2	194.3 ± 16.2
100	186.1 ± 10.3*	182.4 ± 9.2*

*Достоверное отличие ($p < 0.05$).

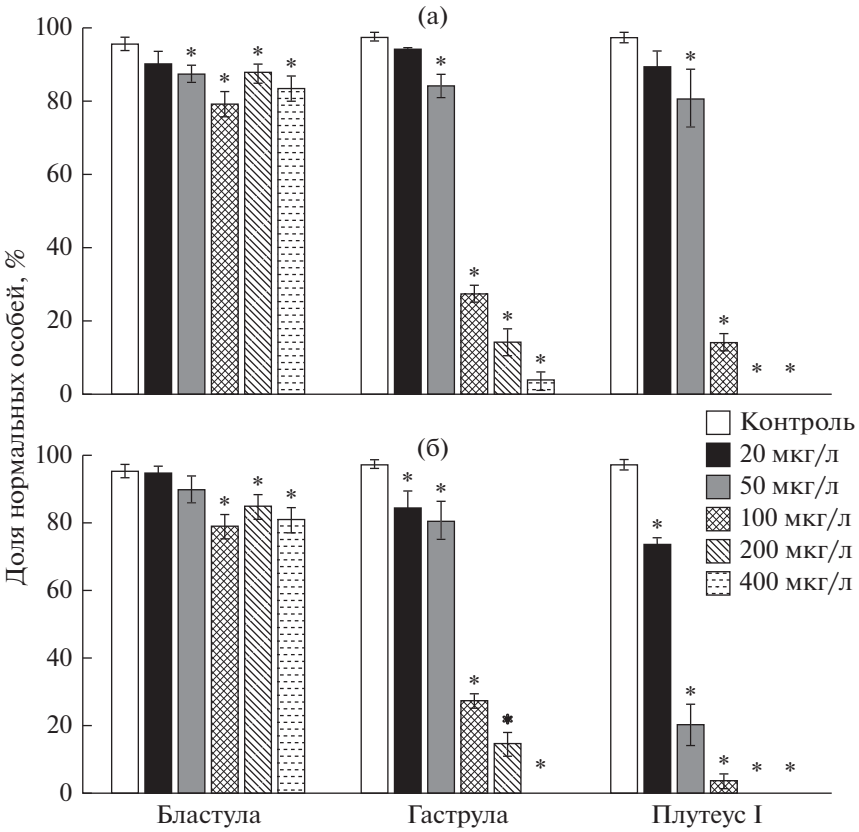

Рис. 2. Результаты эмбриотеста на разных стадиях развития морского ежа *Scaphechinus mirabilis* при воздействии ионов цинка (а) и наночастиц оксида цинка (б) (среднее ± стандартное отклонение, $n = 8$). *Отличие от контроля достоверно ($p < 0.05$).

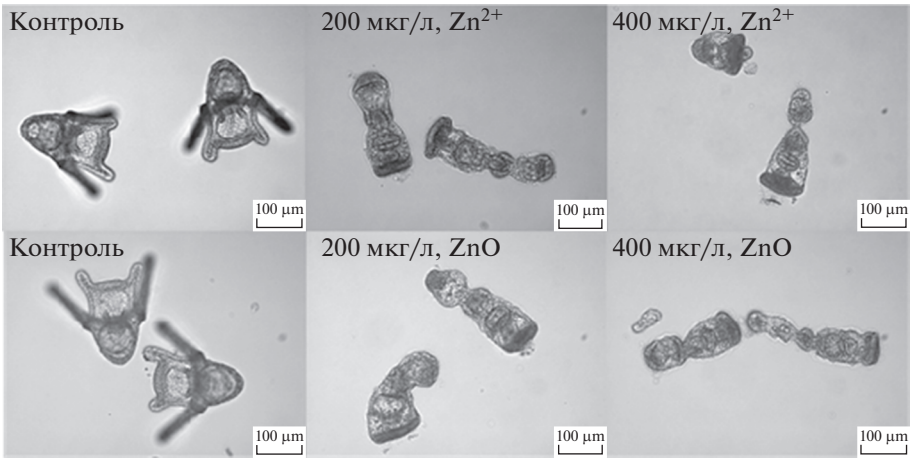

Рис. 3. Личинки морского ежа *Scaphechinus mirabilis* через 48 ч после начала эксперимента. Масштабная линейка 100 мкм.

казано, что ионы цинка в концентрации 0.62 мкМ/л (40 мкг/л) и наночастицы оксида цинка размером 100 нм в концентрации 0.92 мкМ/л (60 мкг/л) после 30-минутной экспозиции вызывали повреждение ДНК в сперматозоидах морского ежа *P. lividus*, но практически не влияли на их оплодотворяющую способность (Oliviero et al., 2019).

Токсичность наночастиц оксида цинка изучали на представителях разных групп гидробионтов: на микроводорослях, ракообразных и рыбах. Установлено, что нано-ZnO токсичен для эмбрионов и личинок рыбы *Danio rerio*: он снижал скорость их развития и приводил к появлению аномалий (Zhao et al., 2013). Для *D. rerio*, как и для морского ежа в нашем исследовании, на ранних стадиях развития острая токсичность наночастиц оксида цинка была выше, чем токсичность ионов цинка.

Таблица 2. Сравнение чувствительности традиционных тест-организмов к цинку в нано- и ионной формах

Тест-организм	Тест-реакция	Эффективная концентрация, мг/л		Источник
		Zn^{2+}	ZnO (нано)	
	Бактерии			
Vibrio fischeri	Ингибирование люминесценции, EC_{50}	1.9	0.18	Heinlaan et al., 2008
	Микроводоросли			
Isochrysis galbana	Рост численности культуры	1.41	0.97	Miller et al., 2010
Dunaliella tertiolecta	Рост численности культуры, EC_{50} 4 сут	2.42	0.65	Manzo et al., 2014
	Ракообразные			
Daphnia magna	Подвижность, LC_{50} (48)	0.58	0.07	Franklin et al., 2007
	Подвижность, LC_{50} (48)	6.1	3.2	Heinlaan et al., 2008
	Подвижность, LC_{50} (48)	0.76	0.89–1.10	Lopes et al., 2014
	Выживаемость, плодовитость, EC_{50} 21 сут	0.25–0.40	0.26–0.36	
Thamnocephalus platyurus	Гибель, LC_{50} (24)	0.98	0.18	Heinlaan et al., 2008
	Рыбы			
Mugilogobius chulae	Личиночное развитие, LC_{50} 5 сут	–	45.50	Li et al., 2018
	Иглокожие (морские ежи)			
Strongylocentrotus purpuratus	Оплодотворение, EC_{50}	0.004–0.100	–	Phillips et al., 1998
	Личиночное развитие, EC_{50} (96)	0.097–0.107		
Arbacia spatuligera	Оплодотворение, EC_{50}	0.116	–	Larrain et al., 1999
Lytechinus pictus	Личиночное развитие, EC_{50} (96)	–	0.099	Fairbairn et al., 2011
Paracentrotus lividus	Оплодотворение, LOEC*	0.060*	0.300*	Manzo et al., 2013
	Личиночное развитие, EC_{50} (48)	0.121	0.060*	
Scaphechinus mirabilis	Оплодотворение, EC_{50}	6.53	0.49	Собственные данные
	Личиночное развитие, EC_{50} (48)	0.067	0.029	

*LOEC – наименьшая эффективная концентрация.

В экспериментах с ветвистоусым рачком *Ceriodaphnia affinis* все животные погибали после 48-часовой экспозиции в растворе $ZnSO_4$, концентрация которого составляла 20 и 10 мг/л. Через 7 сут пребывания в воде, содержавшей 1 мг/л сульфата цинка, продолжительность жизни и суммарная плодовитость рачков достоверно снижались (Томилина и др., 2014). Суспензия нано-ZnO с концентрацией 100 мкг/л за 96 ч экспозиции вызывала слабую иммобилизацию особей дафнии *Daphnia magna*. Увеличение концентрации до 1 мг/л приводило к гибели 100% животных; рассчитанная для них средняя летальная концентрация нано-ZnO составила 0.62 мг/л (Томилина и др., 2011).

Сравнение эффективных концентраций, полученных в результате нашего эксперимента, с литературными данными показало, что влияние исследованных соединений цинка на оплодотворяющую способность сперматозоидов *S. mirabilis* значительно ниже, чем у других морских ежей; в то же время обнаружена высокая степень чувствительности на стадии среднего плутеуса (48 ч) (табл. 2). Результаты многих экспериментов, в которых были использованы разные тест-организмы, подтвердили более высокую токсичность наночастиц оксида цинка по сравнению с таковой ионов цинка.

Чаще всего токсический эффект наночастиц оксидов металлов объясняют тем, что при попадании суспензии наночастиц в воду внесенное вещество растворяется и высвобождаются ионы исходных металлов, которые являются токсичными (Miller et al., 2010; Fairbairn et al., 2011). Однако показано, что наночастицы многих металлов более токсичны, чем их ионные формы (Navarro et al., 2008; Farré et al., 2009), и неблагоприятное воздействие наноразмерных частиц не может быть объяснено лишь высвобождением ионов металлов. Собственный механизм токсичности наночастиц металлов до настоящего времени не выяснен (Miao et al., 2010). Возможно, высвобождающиеся из наноформы ZnO ионы Zn^{2+} усиливают токсич-

ность наночастиц. В связи с этим водные экосистемы будут испытывать сочетанное воздействие наночастиц оксида цинка и высвобожденных из него ионов Zn^{2+} (Chen et al., 2014; Zhao et al., 2016). Другая возможная причина токсичности наночастиц – генерация активных форм кислорода (АФК), ведущая к окислительному стрессу. Кроме этого, считают, что фотохимические характеристики наночастиц ZnO также способствуют их токсичности. Предполагается, что фотон света активирует наноформу оксида цинка и стимулирует генерацию АФК (Ma et al., 2010, 2013). На токсичность наноформы оксида цинка существенно влияют физико-химические свойства самих частиц, параметры окружающей среды, а также чувствительность гидробионтов (Zhao et al., 2016).

В экспериментах мы использовали нано- и ионную формы цинка в концентрациях, многократно превышающих содержание цинка в природных водах. В Японском море в зал. Восток концентрация растворенной формы цинка составляла 0.2 мкг/л, а в б. Рудная, известной высоким уровнем загрязнения тяжелыми металлами, – 5.6 мкг/л (Шулькин, 2004). По данным ежегодника "Качество морских вод по гидрохимическим показателям" (2018) в 2013–2017 гг. в наиболее загрязненных акваториях зал. Петра Великого (бухты Золотой Рог и Улисс в прол. Босфор-Восточный) среднегодовые концентрации цинка составляли 22–30 мкг/л, а максимальные разовые достигали 100–300 мкг/л. Это соответствует наибольшим протестированным в нашем эксперименте концентрациям, при которых появлялись аномальные личинки *S. mirabilis*.

Данные о содержании наночастиц оксида цинка в природных водах практически отсутствуют. Однако известно, что в 2003 г. мировое производство наночастиц ZnO и TiO_2 только для косметических целей составляло около 1000 т, а содержание наночастиц ZnO в европейских странах достигало 10 нг/л в природных водах и 430 нг/л в очищенных сточных водах (Gottschalk et al., 2009; Ma et al., 2013). Рост производства и применения наночастиц, несомненно, приведет к увеличению их содержания в окружающей среде. Ежегодный рост производства и использования наноматериалов, а также увеличение поступления наночастиц в окружающую среду определяют необходимость изучения их воздействия на разные компоненты природных экосистем, в том числе на планктонных личинок донных организмов. В результате нашего исследования установлено, что наночастицы оксида цинка оказывали более токсичное воздействие на морского ежа *S. mirabilis*, чем ионы цинка. Кроме этого, показано, что сперматозоиды *S. mirabilis* менее чувствительны к действию цинка, чем эмбрионы и личинки. Установлено, что соединения цинка в концентрациях 50–100 мкг/л оказывали токсическое воздействие на развитие *S. mirabilis* и полностью подавляли его при концентрации 200–400 мкг/л.

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 финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-31-27001 и при частичной поддержке госбюджетной темы НИР ТОИ ДВО РАН (№ АААА-А17-117030110038-5).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бузников Г.Н., Подмарев В.К. Морские ежи *Strongylocentrotus droebachiensis, S. nudus, S. intermedius* // Объекты биологии развития. М.: Наука. 1975. С. 179–216.

Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник. М.: Наука. 2018. 220 с.

Кукла С.П., Слободскова В.В., Челомин В.П. Генотоксические свойства оксидов меди в наноформе для морских организмов на примере тихоокеанской мидии *Mytilus trossulus* Gould, 1850 (Bivalvia: Mytilidae) // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 2. С. 139–143.

Прозоровский В.Б., Прозоровская М.П., Демченко В.М. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки // Фармакол. и токсикол. 1978. Т. 41. № 4. С. 497–502.

Томилина И.И., Гремячих В.А., Мыльников А.П., Комов В.Т. Влияние металлооксидных наночастиц (CeO_2, TiO_2, ZnO) на биологические параметры пресноводных нанофлагеллят и ракообразных // Докл. Акад. наук. 2011. Т. 436. № 5. С. 715–717.

Томилина И.И., Гремячих В.А., Гребенюк Л.П., Клевлеева Т.Р. Влияние нано-, микрочастиц и ионов цинка на пресноводных гидробионтов разных трофических уровней // Биол. внутр. вод. 2014. № 1. С. 93–102.

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

Chen T.H., Lin C.C., Meng P.J. Zinc oxide nanoparticles alter hatching and larval locomotor activity in zebrafish (*Danio rerio*) // J. Hazard. Mater. 2014. V. 277. P. 134–140.

Fairbairn E.A., Keller A.A., Mädler L. et al. Metal oxide nanomaterials in seawater: linking physicochemical characteristics with biological response in sea urchin development // J. Hazard. Mater. 2011. V. 192. P. 1565–1571.

Farré M., Gajda-Schrantz K., Kantiani L., Barceló D. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment // Anal. Bioanal. Chem. 2009. V. 393. P. 81–95.

Franklin N.M., Rogers N.J., Apte S.C. et al. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and $ZnCl_2$ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility // Environ. Sci. Technol. 2007. V. 41. № 24. P. 8484–8490.

Gottschalk F., Sonderer T., Scholz R.W., Nowack B. Modeled environmental concentrations of engineered nanoma-

terials (TiO_2, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions // Environ. Sci. Technol. 2009. V. 43. № 24. P. 9216–9222.

Heinlaan H., Ivask A., Blinova I. et al. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO_2 to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus paltyurus* // Chemosphere. 2008. V. 71. P. 1308–1316.

Kobayashi N., Okamura H. Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. 1. Tracing the cause by the effects // Chemosphere. 2004. V. 55. P. 1403–1412.

Larrain A., Riveros A., Silva J., Bay-Schmith E. Toxicity of metals and pesticides using the sperm cell bioassay with the sea urchin *Arbacia spatuligera* // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1999. V. 62. № 6. P. 749–757.

Li J., Chen Z., Huang R. et al. Toxicity assessment and histopathological analysis of nano-ZnO against marine fish (*Mugilogobius chulae*) embryos // J. Environ. Sci. (China). 2018. V. 73. P. 78–88.

Lopes S., Ribeiro F., Wojnarowicz J. et al. Zinc oxide nanoparticles toxicity to *Daphnia magna*: size-dependent effects and dissolution // Environ. Toxicol. Chem. 2014. V. 33. P. 190–198.

Ma H., Williams P.L., Diamond S.A. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles – a review // Environ. Pollut. 2013. V. 172. P. 76–85.

Ma L., Liu J., Li N. et al. Oxidative stress in the brain of mice caused by translocated nanoparticulate TiO_2 delivered to the abdominal cavity // Biomaterials. 2010. V. 31. P. 99–105.

Magdolenova Z., Collins A.R., Kumar A. et al. Mechanisms of genotoxicity. A review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles // Nanotoxicology. 2014. V. 8. № 3. P. 233–278.

Manzo S., Miglietta M., Rametta G. et al. Embryotoxicity and spermiotoxicity of nanosized ZnO for Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus* // J. Hazard. Mater. 2013. V. 254–255. P. 1–9.

Manzo S., Miglietta M., Rametta G. et al. Toxic effects of ZnO nanoparticles towards marine algae *Dunaliella tertiolecta* // Sci. Total. Environ. 2014. V. 445–446. P. 371–376.

Miao A.J., Zhang X.Y., Luo Z. et al. Zinc oxide- engineered nanoparticles: dissolution and toxicity to marine phytoplankton // Environ. Toxicol. Chem. 2010. V. 29. P. 2814–2822.

Miller R.J., Lenihan H.S., Muller E.B. et al. Impacts of metal oxide nanoparticles on marine phytoplankton // Environ. Sci. Technol. 2010. V. 44. P. 7329–7334.

Mukherjee K., Acharya K. Toxicological effect of metal oxide nanoparticles on soil and aquatic habitats // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2018. V. 75. P. 175–186.

Nadella S.R., Tellis M., Diamond R. et al. Toxicity of lead and zinc to developing mussel and sea urchin embryos: critical tissue residues and effects of dissolved organic matter and salinity // Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol. 2013. V. 158. P. 72–83.

Navarro E., Piccapietra F., Wagner B. et al. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii* // Environ. Sci. Technol. 2008. V. 42. P. 8959–8964.

Oliviero M., Schiavo S., Dumontet S., Manzo S. DNA damages and offspring quality in sea urchin *Paracentrotus lividus* sperms exposed to ZnO nanoparticles // Sci. Total. Environ. 2019. V. 651. P. 756–765.

Phillips B.M., Anderson B.S., Hunt J.W. Spatial and temporal variation in results of purple urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) toxicity tests with zinc // Environ. Toxicol. Chem. 1998. V. 17. P. 453–459.

Tellis M.S., Lauer M.M., Nadella S. et al. Sublethal mechanisms of Pb and Zn toxicity to the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) during early development // Aquat. Toxicol. 2014. V. 146. P. 220–229.

Zhao J., Dong X., Hu X. et al. Zinc levels in seminal plasma and their correlation with male infertility: A systematic review and meta-analysis // Sci. Rep. 2016. V. 6. P. 22386.

Zhao X., Wang S., Wu Y. et al. Acute ZnO nanoparticles exposure induces developmental toxicity, oxidative stress and DNA damage in embryo-larval zebrafish // Aquat. Toxicol. 2013. V. 136–137. P. 49–59.

Zhu X., Zhu L., Duan Z. Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticle aqueous suspensions to Zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage // J. Environ. Sci. Health. Part A. 2008. V. 43. № 3. P. 278–284.

Assessment of the Toxic Effect of Zinc Ions and Nano-Sized Zinc Oxide on the Early Development of the Sand Dollar *Scaphechinus mirabilis* (Agassiz, 1864) (Echinodermata: Echinoidea)

A. A. Mazur[a], E. V. Zhuravel[b], V. V. Slobodskova[a], and M. A. Mazur[b]

[a] *Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

[b] *Far Eastern Federal University, Vladivostok 690950, Russia*

Zinc ions and nano-sized zinc oxide had an embryotoxic effect on the sand dollar *Scaphechinus mirabilis* (Agassiz, 1864) at concentrations of 50–100 μg/L and completely inhibited larval development at concentrations of 200–400 μg/L. Effective concentrations (EC_{50}) that caused disturbances of the sperm fertilization capacity and larval development of *S. mirabilis* were 490 ± 16 and 29 ± 4 μg/L for nano-sized ZnO and 6526 ± 99 and 67 ± 12 μg/L for zinc ions, respectively. Nano-sized ZnO affected the early development of *S. mirabilis* at lower concentrations than Zn^{2+} ions.

Keywords: sand dollar, *Scaphechinus mirabilis*, ZnO nanoparticles, Zn^{2+} ions, embryotoxicity, spermiotoxicity, larvae

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 60–64

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 597.355

NOTORAJA YURII SP. N. (ARHYNCHOBATIDAE: RAJOIDEI) – НОВЫЙ ВИД СКАТА ИЗ ТАЛАССОБАТИАЛИ ИНДИЙСКОГО ОКЕАНА

© 2020 г. В. Н. Долганов*

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

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

Поступила в редакцию 07.12.2018 г.
После доработки 07.02.2019 г.
Принята к публикации 15.02.2019 г.

Описан новый вид глубоководного ската *Notoraja yurii* sp. n. с Восточно-Индийского и Западно-Австралийского подводных хребтов. Вид отличается от других представителей рода пропорциями тела, окраской, ошипленией и строением скелета. Приведены данные о строении неврокраниума, скапулокоракоида и птеригоподиев, а также о количестве туловищных и хвостовых позвонков, рядов зубов, оборотов спирального клапана кишечника и о биологии вида.

Ключевые слова: скат *Notoraja yurii* sp. n., талассобатиаль, Индийский океан, морфометрические данные, окраска, ошипление, неврокраниум, скапулокоракоид, птеригоподии, позвонки, зубы, спиральный клапан, биология

DOI: 10.31857/S0134347520010039

Род *Notoraja* к настоящему времени насчитывает 13 видов скатов, которые населяют глубокие воды Индийского и Тихого океанов от Австралии до Японии на западе и от Эквадора до Коста-Рики на востоке. Они отличаются от всех представителей подотряда Rajoidei комбинацией следующих признаков: округлым диском, относительно слабо кальцинированным цельным ростральным хрящом с округлой дистальной частью боковых ростральных отростков и наличием перемычки (*anterior bridge*), разделяющей переднюю фонтанель скапулокоракоида на две части – верхнюю и нижнюю фонтанели.

Новый вид ската, строение которого указывает на его принадлежность к роду *Notoraja*, обнаружен в 1978–1979 гг. на Восточно-Индийском и Западно-Австралийском подводных хребтах в экспедициях на НИС “Профессор Месяцев”, “Фиолент” и “Ихтиандр” (Щербачев и др., 1982).

Номенклатура строения неврокраниума, скапулокоракоида, птеригоподиев и их скелета, используемая в описании нового вида, соответствует общепринятой (Ishiyama, 1958; Stehmann, 1970; McEachran, Compagno, 1982).

Notoraja yurii sp. n. Dolganov (рис. 1)

Материал. Голотип, взрослый самец *TL* 657 мм, ширина диска 365 мм, ЗМ МГУ № 15720, 29°38′ ю.ш., 88°04′ в.д., глубина 1300–1500 м, 28 марта 1979 г., Восточно-Индийский подводный хребет, НИС “Профессор Месяцев”, донный трал. Коллектор А.Н. Котляр. Дополнительный материал: 9 экз. *TL* 175–640 мм, ширина диска 89–365 мм, Институт океанологии РАН им. П.П. Ширшова, 25°35'–31°08′ ю.ш., 88°04′–100°20′ в.д., март–апрель 1979 г., Восточно-Индийский подводный хребет, Западно-Австралийский подводный хребет и отдельное поднятие в южной части Западно-Австралийской котловины, НИС “Профессор Месяцев”, донный трал, глубина 1064–1624 м. Коллектор А.Н. Котляр.

Диагноз. Диск округлый. Хвост очень длинный, 108.5–150.0% прекаудальной длины. Брюшные плавники с глубокой выемкой, разделяющей их на две лопасти. Передняя лопасть узкая и заостренная. Два спинных плавника. Нижняя поверхность диска голая, без шипиков. Ростральный хрящ слабый, несегментированный, задние края боковых ростральных отростков округлые в сечении. Имеется перемычка, разделяющая переднюю фонтанель скапулокоракоида на две части. Первый дорзальный щиток птеригоподиев присутствует. В верхней челюсти 31–45 рядов зубов, в нижней – 27–35. Лучей в грудном плавнике 63–67. Общее количество позвонков 129–140, из них туловищных 26–28 и предорзальных 65–73. Оборотов спирального клапана кишечника 6–7. Взрослые особи сверху черновато-серые, без пятен. Нижняя поверхность черновато-коричневая,

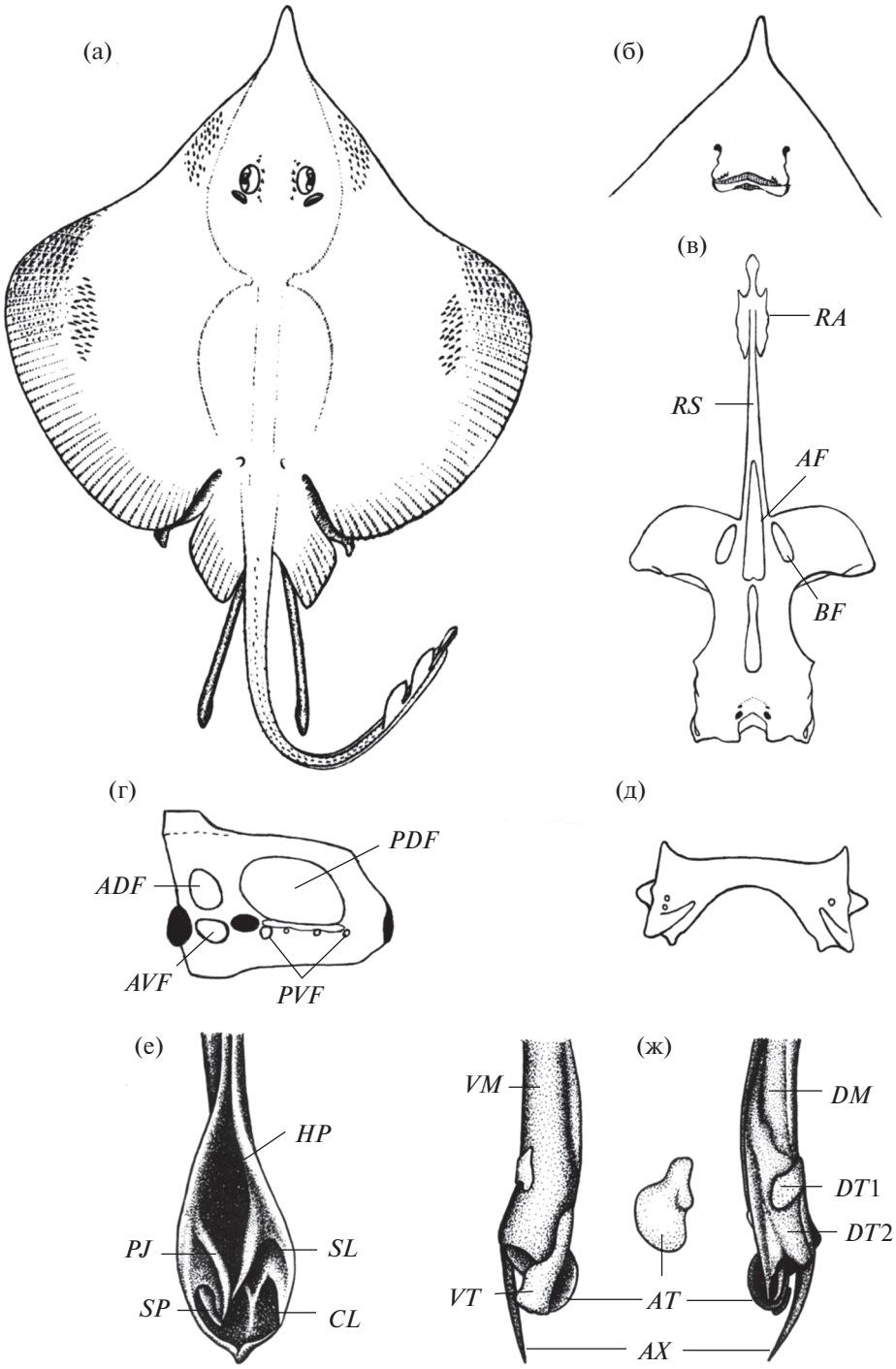

Рис. 1. *Notoraja yurii* sp. n., голотип. Взрослый самец, *TL* 657 мм: а – вид сверху; б – вид головы снизу. Взрослый самец *TL* 640 мм: в – неврокраниум (*RA* – боковые ростральные отростки, *RS* – рострум, *AF* – передняя фонтанель, *BF* – базальные отверстия); г – скапулокоракоид (*ADF* – переднее дорзальное отверстие, *AVF* – переднее вентральное отверстие, *PDF* – заднее дорзальное отверстие, *PVF* – задние вентральные отверстия); д – тазовая пластина; е – внешний вид развернутого птеригоподия (*HP* – гипопиле, *SL* – выемка, *CL* – расщелина, *PJ* – отросток, *SP* – острие); ж – вентральный и дорзальный вид скелета птеригоподиев (*AX* – осевой хрящ, *DM* – дорзальный осевой хрящ, *VM* – вентральный осевой хрящ, *DT*1 и *DT*2 – первый и второй дорзальные щитки, *AT* – добавочный хрящ, *VT* – вентральный щиток).

с хорошо выраженными белыми порами сейсмосенсорной системы. Окраска молодых экземпляров более светлая, фиолетово-коричневая.

Diagnosis. Disc subcircular, pectoral fin apex broadly rounded. Tail very long, 108.5–150.0% precaudal length, relatively longer in juveniles. Pelvic fins deeply incised, anterior lobe narrow and generally pointed. Dorsal fins present. Ventral surface of disc uniformly smooth, without denticles. Rostral shaft slender, unsegmented. Rostral appendices well developed, flattened anteriorly but conical posteriorly. The scapulocoracoid is moderately elongated, there is an anterior bridge dividing the anterior fenestra. The claspers possesses dorsal terminal 1 cartilages. Tooth rows number 31–45 in upper jaw and 27–35 in lower jaw; pectoral-fin radials number 63–67; trunk centra 26–28; precaudal centra 65–73; total centra 129–140; intestine valves 6–7. Dorsal surface blackish grey, darker blackish brown with white ampular pores ventrally in adults, but paler violet brown in young.

Описание. Рыло взрослых самцов узкое, образует угол менее 90°, а у самок и молодых экземпляров – 90–100°. Длина рыла до глаз 65.7–72.9% длины головы. Горизонтальный диаметр глаза немного больше межорбитального расстояния и составляет 13.5–17.1% длины головы. Брызгальце небольшое, 58.3–78.9% глаза. Носовой клапан с глубокой выемкой. Диск неширокий, его длина 85.4–94.1% ширины. Внешние и задние углы грудных плавников широко закруглены. Длина хвоста от середины ануса 108.5–150.0% предхвостового расстояния. Первый спинной плавник несколько крупнее второго, хвостовой плавник сильно редуцирован. Боковая складка хвоста узкая, начинается в задней половине хвоста.

Зубы мелкие, с острыми верхушками. Глотка и жаберные дуги без шипиков. Перед орбитами у молодых особей всегда имеется один шип, у взрослых по внутреннему краю орбит серия из четырех шипов. Лопаточные шипы и шипы срединного ряда на диске отсутствуют. Хвостовая серия срединного ряда, состоящая из 17 шипов у молоди и до 68 шипов у взрослых скатов, начинается далеко за тазовыми буграми и заканчивается у 1-го спинного плавника. Количество боковых серий шипов хвоста с возрастом также увеличивается от двух до шести. У молодых скатов рыло и передние части грудных плавников покрыты редкими мелкими шипиками (*spinulae*). У взрослых самцов наряду с эректильными колючками имеются малярные и латеральные участки колючек. В задней части латеральных участков размер колючек плавно уменьшается. Нижняя поверхность диска без шипиков.

Измерения хранящихся в спирту голотипа и дополнительного материала (в скобках) в процентах от ширины диска: *TL* 180.0 (169.9–196.6); длина диска 93.2 (85.4–94.1), хвоста 95.9 (88.6–118.0), головы 40.5 (34.2–39.7), рыла до глаз 28.8 (24.7–28.7); горизонтальный диаметр орбиты 5.5 (5.2–6.7), брызгальцев 4.1 (3.6–4.1); межорбитальное расстояние 5.8 (5.5–7.0); расстояние между внутренними краями брызгальцев 11.0 (10.8–12.4); длина рыла до ноздрей 24.1(20.5–24.5), до ротовой щели 30.7 (26.8–31.5); ширина рта 11.8 (10.3–12.9); расстояние между ноздрями 12.6 (11.5–12.9); длина основания 1-го и 2-го спинных плавников соответственно 5.5 (5.5–6.8) и 4.7 (5.1–6.4); высота 1-го и 2-го спинных плавников соответственно 3.8 (2.7–3.5) и 3.8 (2.7–3.6).

Туловищных позвонков 26 (26–28), предорзальных 73 (65–73), постдорзальных 41 (33–43), общее количество 140 (129–139). В грудном плавнике 67 (63–67) лучей, в брюшном 20 (17–20). В верхней челюсти 40 (31–45) серий зубов, в нижней – 34 (27–35). Складка спирального клапана образует 6 (6–7) полных оборотов.

Неврокраниум сравнительно широкий. Ростральный хрящ цельный, немного более половины всей длины черепа, кальцинированный на 2/3–3/4 от основания. Боковые ростральные хрящи менее 50% назобазальной длины, их задние края округлые в сечении. Передняя фонтанель узкая, открывается значительно впереди обонятельных капсул и простирается до уровня начала орбит. Базальные отверстия носовых капсул крупные (рис. 1в). Скапулокоракоид умеренно высокий. Имеется перемычка (*anterior bridge*), разделяющая переднюю фонтанель на дорзальную и вентральную части. Постдорзальное отверстие одно, крупное; мелких поствентральных отверстий 4 (рис. 1г). Передний край тазовой пластины почти прямой, задний край сильно вогнут (рис. 1д).

Птеригоподии некрупные, менее половины длины хвоста. Псевдосифон (*pseudosiphon*) отсутствует. Внутренняя поверхность дорзальной доли птеригоподия с неглубокими выемкой (*slit*) и расщелиной (*cleft*), разделенными неширокой перемычкой. Дорзальную и вентральную доли разделяет срединная впадина – гипопиле (*hypopyle*). С вентральной стороны к срединной впадине примыкают вытянутый к дистальному краю птеригоподия изогнутый отросток (*projection*) и примыкающий к дорзальной доле небольшой выступ – острие (*spike*), покрытый складчатой кожей (рис. 1е).

Скелет птеригоподия *N. yurii* состоит из осевого (*axial*) хряща, к которому продольно прикреплены дорзальный осевой (*dorsal marginal*) и вентральный осевой (*ventral marginal*) хрящи. Дорзальный осевой хрящ в дистальной части дифференцирован на два дорзальных щитка (*dorsal terminal* 1, 2), а вентральный осевой хрящ – на овальный добавочный хрящ (*accessory terminal*) и крупный вентральный щиток (*ventral terminal*) (рис. 1ж).

Хранящиеся в спирту взрослые особи сверху черновато-серые, без пятен. Нижняя поверхность

темнее, черновато-коричневая с хорошо выраженными белыми порами сейсмосенсорной системы. Спинные плавники и хвостовой плавник темные. Окраска молодых экземпляров более светлая, фиолетово-коричневая.

Этимология. Вид назван в честь российского ихтиолога Юрия Николаевича Щербачева.

Распространение. Пока известен только в южной части Восточно-Индийского хребта, на Западно-Австралийском хребте и на отдельном подводном поднятии в южной части Западно-Австралийской котловины на глубине 1064–1624 м (Щербачев и др., 1982).

Сравнительные замечания. От всех известных представителей рода *Notoraja* (кроме *N. martinezi* и *N. longiventralis*) новый вид отличается более темной окраской: сверху черновато-серой у взрослых особей и фиолетово-коричневой у молоди. Верхняя поверхность у *N. azurea* и *N. sapphira* голубая, у *N. lira* бледно-голубоватая со светлыми участками, у *N. hirticauda* и *N. tobitukai* разных оттенков серого цвета, у *N. ochroderma* бледно-желтая, у *N. sereti*, *N. alisae* и *N. inusitata* бледная, серо-коричневая, у *N. fijiensis* желто-коричневая, а у *N. sticta* белая с серо-коричневыми пятнами. Кроме этого от *N. azurea* новый вид отличается меньшим количеством предхвостовых позвонков (65–73 против 76–80); от *N. sapphira* – более крупными размерами и ошиплением; от *N. ochroderma* – строением птеригоподиев, меньшим количеством лучей в грудных плавниках (63–67 против 75–84) и туловищных позвонков (26–28 против 30–32); от *N. lira* – большим количеством туловищных позвонков (26–28 против 24) и более острым и длинным рылом, длина которого больше диаметра орбиты в 4.4–5.2 раза (у *N. lira* в 4.2 раза); от *N. hirticauda* – значительно меньшей длиной боковых ростральных отростков (примерно в 2 раза), строением птеригоподиев и более крупными размерами; от *N. sereti* – большим количеством лучей в грудных плавниках (63–67 против 58–60); от *N. alisae* – большим количеством туловищных позвонков (26–28 против 24–25); от *N. inusitata* – меньшим количеством лучей в грудных плавниках (63–67 против 74) и меньшим общим количеством позвонков (129–140 против 143); от *N. fijiensis* – большим количеством туловищных позвонков (26–28 против 25), но меньшим общим количеством позвонков (129–140 против 144–152) (McEachran, Last, 1994, 2008; Last, McEachran, 2006; Last, Stevens, 2009; Séret, Last, 2009, 2012; Concha et al., 2016; White et al., 2017). От *N. tobitukai* из японских вод *N. yurii* значительно отличается формой и размерами хрящей птеригоподиев: 1-го и 2-го дорзальных щитков, вентрального и добавочного хрящей (Ishiyama, 1958, 1967). От *N. tobitukai*, *N. ochroderma* и *N. hirticauda*, верхняя поверхность диска которых полностью ошиплена, новый вид отличается намного более слабым ошиплением (имеются редкие шипики на рыле и передней части грудных плавников; у взрослых самцов они отсутствуют). Еще значительнее отличие *N. yurii* от группы скатов (*N. sereti*, *N. alisae*, *N. fijiensis*, *N. longiventralis*), у которых ошиплена и нижняя поверхность диска (Séret, Last, 2012). Из темноокрашенных представителей рода (*N. martinezi*, *N. longiventralis*) *N. martinezi* из восточной части Тихого океана хорошо отличается от нового вида небольшими размерами, более длинными передними лопастями брюшных плавников, меньшим общим количеством позвонков (118–128 против 129–140) и очень крупными шипами хвоста. Вид *N. longiventralis*, кроме значительных различий в ошиплении, отличается от нового вида коротким рылом, длинным хвостом и значительно более длинными передними лопастями брюшных плавников. *N. yurii*, по-видимому, наиболее близок к глубоководному *Raja* (*subgenus unnamed*) sp., обитающему у о-ва Мадагаскар (Séret, 1986; Séret, личное сообщение), но отличается от него строением птеригоподиев (наличием первого дорзального щитка, формой добавочного и вентрального хрящей и др.), более крупными размерами базальных отверстий неврокраниума и ошиплением. У самцов *N. yurii* на диске кроме аларных колючек имеются участки хорошо развитых шипов в малярной области и у внешних углов грудных плавников, которые у скатов, обитающих у о-ва Мадагаскар, отсутствуют.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор глубоко признателен сотруднику Института океанологии им. П.П. Ширшова Ю.Н. Щербачеву за предоставленный материал и художнику В.П. Чеблукову за изготовление оригинальных рисунков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Щербачев Ю.Н., Долганов В.Н., Тимохин И.Г. Глубоководные хрящевые рыбы (Chondrichthyes) из вод Южного полушария // Малоизученные рыбы открытого океана. М.: ИО АН СССР. 1982. С. 6–31.

Concha F.J., Ebert D.A., Long D.J. Notoraja martinezi sp. nov., a new species of deepwater skate and the first record from the genus *Notoraja* Ishiyama, 1958 (Rajiformes: Arhynchobatidae) from the eastern Pacific Ocean // Zootaxa. 2016. V. 4098. № 1. P. 179–190.

Ishiyama R. Studies on the rajid fishes (Rajidae) found in the waters around Japan // J. Shimonoseki Coll. Fish. 1958. V. 7. № 2. 3. P. 193–394.

Ishiyama R. Fauna Japonica, Rajidae (Pisces). Tokyo: Biogeogr. Soc. Jpn. 1967. 84 p. 32 pls.

Last P.R., McEachran J.D. Notoraja hirticauda, a new species of skate (Chondrichthyes: Rajoidei) from the south-eastern Indian Ocean // Mem. Mus. Victoria. 2006. V. 63. № 1. P. 65–75.

Last P.R., Stevens J.D. Sharks and Rays of Australia. Melbourne. C. S. I. R. O. 2009. 656 p.

McEachran J.D., Compagno L.J.V. Interrelationships of and within *Breviraja* based on anatomical structures (Pisces, Rajoidei) // Bull. Mar. Sci. 1982. V. 32. № 2. P. 399–425.

McEachran J.D., Last P.R. New species of skate, *Notoraja ochroderma*, from off Queensland, Australia, with comments on the taxonomic limits of *Notoraja* (Chondrichthyes, Rajoidei) // Copeia. 1994. № 2. P. 413–421.

McEachran J.D., Last P.R. New deepwater skates of the genus *Notoraja* (Rajoidei: Arhynchobatidae) from southern Australia and the eastern Indian Ocean // Description of new Australian skates (Batoidea: Rajoidei). Hobart, Tas.: CSIRO Mar. Atmosph. Res. 2008. № 21. P. 155–172.

Séret B. Deep water skates from Madagascar (Chondrichthyes, Rajoidei) // Indo-Pacific fish biology. Tokyo: Ichth. Soc. Jpn. 1986. P. 256–260.

Séret B., Last P.R. Notoraja sapphira sp. nov. (Rajoidei: Arhynchobatidae), a new deepwater skate from the slopes of the Norfolk Ridge (South-West Pacific) // Zootaxa. 2009. № 2153. P. 24–34.

Séret B., Last P.R. New deep water skates of the genus *Notoraja* Ishiyama, 1958 (Rajoidei: Arhynchobatidae) from the southwest Pacific // Zoosystema. 2012. V. 34. № 2. P. 319–341.

Stehmann M. Vergleichend morphologische und anatomische Untersuchungen zur Neuordnung der Systematik der nordostatlantischen Rajidae (Chondrichthyes, Batoidei) // Arch. FischereiWiss. 1970. V. 21. № 2. P. 73–163.

White W.T., Last P.R., Mana R.R. A new species of velvet skate, *Notoraja sereti* n. sp. (Rajiformes: Arhynchobatidae) from Papua New Guinea // Zootaxa. 2017. V. 4244. № 2. P. 219–230.

Notoraja yurii sp. n. (Arhynchobatidae: Rajoidei), a New Skate Species from the Thalassobathyal Zone of the Indian Ocean

V. N. Dolganov

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

A new deep-sea skate species, *Notoraja yurii* sp. n., is described from the Ninety East Ridge and the Broken Ridge, Indian Ocean. The species is distinguished from its congeners in body proportions, color, denticle pattern, and some skeletal structures. Data on the structure of neurocranium, scapulocoracoid, and pterygopodia, the counts of abdominal and caudal vertebrae, teeth rows, coils of intestinal valves, as well as the species biology, are provided.

Keywords: skate *Notoraja yurii* sp. n., thalassobathyal zone, Indian Ocean, morphometric description, color, denticles, neurocranium, scapulocoracoid, pterygopodia, vertebral counts, teeth, intestine valve, species biology

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 65–69

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 594.713

PARELLISINA GRUZOVI SP. N. (BRYOZOA: CALLOPORIDAE) – НОВЫЙ ВИД МШАНОК ИЗ РАЙОНА КУРИЛЬСКИХ ОСТРОВОВ

© 2020 г. В. И. Гонтарь*

Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, 199034, Россия

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

Поступила в редакцию 18.10.2018 г.
После доработки 10.04.2019 г.
Принята к публикации 30.05.2019 г.

Описан новый вид мшанки *Parellisina gruzovi* sp. n. из семейства Calloporidae, относящегося к подотряду Flustrina. В настоящее время известны 13 современных и ископаемых видов из рода *Parellisina*. От других видов рода новый вид отличается более узкими авикуляриями, закругленными в проксимальной части, слегка изогнутыми дистально с остроконечным рострумом; отсутствием сопутствующего авикулярию кенозооида, за исключением *Parellisina luciae* (Jullien, 1881); присутствием дистальных шипов в онтогении (за исключением *Parellisina mboliensis* Tilbrook, 2006) и структурой фронтальной поверхности овицеллы с центральной тонко исчерченной областью эндооеция. Обнаружен у о-ва Онекотан (северные Курильские острова) на глубине 205 м. Новый вид – первая находка представителя рода *Parellisina* в Бореальной подобласти дальневосточных морей.

Ключевые слова: Parellisina gruzovi sp. n., хейлостоматида, мшанки, Курильские острова

DOI: 10.31857/S0134347520010040

Опубликовано несколько работ, посвященных фауне Курильских островов (Андросова, 1958; Клюге и др., 1959; Клюге, 1962; Андросова и др., 1974; Гонтарь, 1980, 1982, 1992; Gontar, 1981, 1996), однако информация о фауне мшанок, населяющих батиальную зону Курильской гряды, очень ограничена. Имеется лишь список батиальных видов, который составлен по материалам 33-го рейса НПС "Одиссей" для районов южных, средних и северных Курильских островов и представлен 93 видами (из них у средних Курил найдено 80 видов) из трех отрядов: Cheilostomatida, Ctenostomatida и Cyclostomatida (Гонтарь, 1993; Сиренко, 1993). Позднее Гонтарь (Gontar, 1993) описала девять новых хейлостомных видов из этой коллекции. Описан также вид *Gontarella gigantea* Grischenko, Taylor and Mawatari, 2002, собранный у о-ва Зеленый (Малая Курильская гряда) на глубине 535 м (Grischenko et al., 2002). В статье Грищенко и Чернышева (Grischenko, Chernyshev, 2018) приведена циклостомная мшанка *Bicrisia abyssicola* Kluge, найденная в прол. Буссоль на глубине 2267 м.

В настоящее время известны 13 современных и ископаемых видов мшанок из рода *Parellisina* (Hincks, 1862, 1880a, 1880b; MacGillivray, 1869; Ridley, 1881; Busk, 1884; Waters, 1898; Robertson, 1921; Canu, Bassler, 1925, 1927, 1928, 1929; Harmer, 1926; Hastings, 1930; Silén, 1941; Tilbrook, 2006; Ben Ismail et al., 2009; Di Martino, Taylor, 2014; Winston et al., 2014; Gordon, 2016; Rosso, Di Martino, 2016).

В данной работе приведено описание нового вида хейлостомной мшанки, обнаруженной у северных Курильских островов и принадлежащей к роду *Parellisina*. Фрагменты колонии собраны в 1988 г. южнее о-ва Онекотан (северные Курильские острова) известным гидробиологом и зоологом Евгением Николаевичем Грузовым в 7-й экспедиции Тихоокеанского института биоорганической химии АН СССР на научно-исследовательском судне "Академик Опарин" на глубине 205 м.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для исследования морфологии колонии и аутозооидов образец обрабатывали жавелевой водой – раствором солей калия хлорноватистой и соляной кислот (KOCl + KCl). Затем колонию отмывали водой и сушили на воздухе. После напыления платиной (слой толщиной 30 нм) фрагмент колонии изучали с помощью электронного микроскопа FEI Quanta 250 (Балашов, Леонович, 1984). Количество измерений каждого параметра колониальных структур равно пяти. Типовой материал хранится в Зоологическом институте (ЗИН) РАН (Санкт-Петербург).

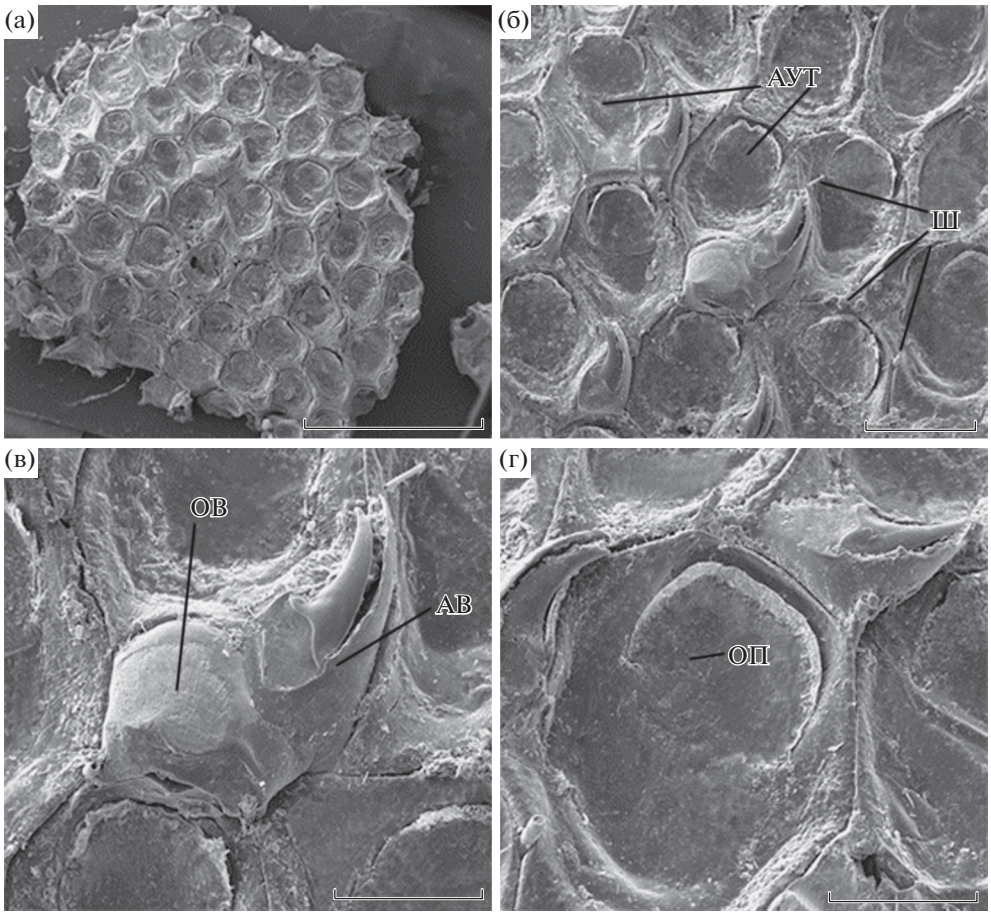

Рис. 1. *Parellisina gruzovi* sp. n. (паратип). а – фрагмент колонии; б – аутозооиды, шипы; в – овицелла и авикулярий; г – аутозооид, оперкулюм, шипы и авикулярий. Условные обозначения: АУТ – аутозооиды, Ш – шипы, АВ – авикулярий, ОВ – овицелла, ОП – оперкулюм. Масштаб: а – 2 мм; б – 500 мкм; в и г – 300 мкм.

СИСТЕМАТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Отряд Cheilostomatida Busk, 1852

Подотряд Flustrina Smitt, 1868

Надсемейство Calloporoidea Vigneaux, 1949

Семейство Calloporidae Canu, 1904

Род Parellisina Osburn, 1940

Parellisina Osburn, 1940: 360, 361; 1949: 1–9, pl.1, figs. 1–11; Prenant, Bobin, 1966: 260, 261; Ryland, Hayward, 1977: 102.

Диагноз. Колония обрастающая. Аутозооиды со слабо развитой гимноцистой и с редуцированной криптоцистой. Шипы редуцированы или отсутствуют (исчезающие). Овицеллы гиперстомиальные, выпуклые. Викариирущие авикулярии всегда имеются, связаны с редуцированными кенозоециями. Мембранная площадка на фронтальной поверхности кенозоециев разного размера и формы, без оперкулюма.

Род установлен Раймондом Осборном (Osburn, 1940: 360) с целью объединения видов, ранее описанных как *Membranipora* и *Callopora*, у которых авикулярий, как правило, связан с гетерозоецием или кенозоецием. Авикулярийная камера располагается проксимально по отношению к кенозооиду и отделена от него вертикальной стенкой.

Parellisina gruzovi Gontar sp. n. (рис. 1, 2)

Типовой материал. Голотип (№ 1/33–2018), часть колонии (размер 14 × 9 мм), НИС “Академик Опарин”, южнее о-ва Онекотан, 49°22′ N, 154°09′ E, глубина 205 м. Субстрат отсутствовал; грунт галька; трал Сигсби; 29.06.1988 г. Сборщик Е.Н. Грузов.

Паратипы: часть колонии № 2/34–2018, размер 6 × 3.5 мм; место сбора – эта же станция. Типовой материал хранится в ЗИН РАН.

Diagnosis. Zoarium encrusting, forming a unilaminar patch. Autozooids middle-sized, separated by groves. Gymnocyst small, narrow. Mural rim thin and little raised. Narrow cryptocyst descending to aperture. A pair of spines near operculum. Operculum

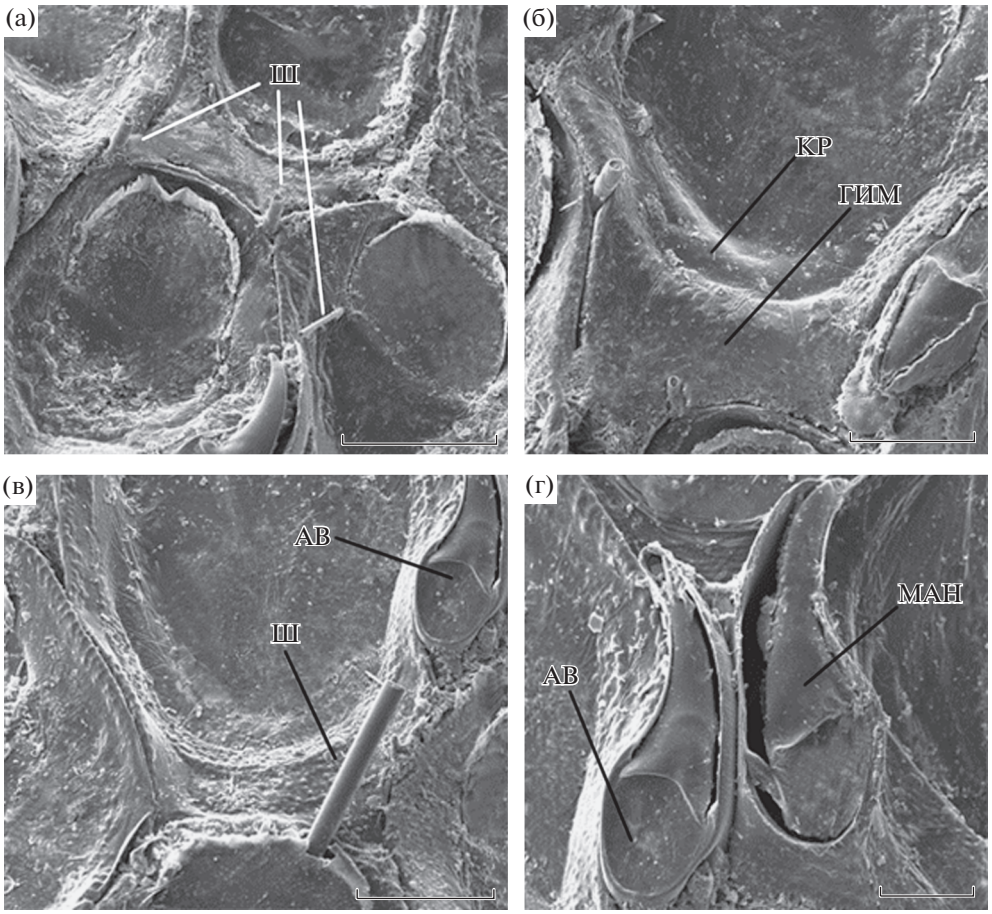

Рис. 2. *Parellisina gruzovi* sp. n. (паратип). а – дистальные шипы; б – проксимальная часть аутозооида, авикулярий; в – шип и авикулярий; г – два авикулярия. Условные обозначения: Ш – шипы, АВ – авикулярий, МАН – мандибула авикулярия, ГИМ – гимноциста, КР – криптоциста. Масштаб: а – 300 мкм; б и в – 200 мкм; г – 100 мкм.

semicircular. Avicularium interzooecial, vicarious, large, with a curved acute mandible. Kenozooid associated with avicularium absent. Ovicell hyperstomial, prominent, with a central finely striated area of endooecium.

Описание. Колония обрастающая, мультисериальная, образующая однослойный нарост белого цвета. Анцеструла не сохранилась. Поровые камеры не исследовали. Аутозооиды средней величины, разделены очень узкими бороздками, имеют гексагональную форму и расположены в шахматном порядке. Их размеры: длина L = 667–778 мкм и ширина W = 389–556 мкм (среднее значение L/W = 1.52). Обширная фронтальная мембрана окружена узкой гранулированной криптоцистой, расширенной у проксимального края. Гимноциста узкая, окружает аутозооид и слегка расширена у проксимального края. Граница между гимноцистой и криптоцистой хорошо заметна. Большая овальная и удлиненная опезия (L = 500–556 мкм, W = 333–389 мкм) занимает почти всю фронтальную поверхность. Оперкулюм полукруглый (высота H = 245–330 мкм, ширина W = 330 мкм). У дистального края аутозооида имеется 1 или 2 коротких гимноцистных шипа (L = 215– 254 мкм), которые сохраняются у зрелых аутозооидов. Дополнительный тонкий шип (L = 100 мкм) расположен у проксимального угла оперкулюма (рис. 2в). Интерзооидальные викариирующие авикулярии встречаются часто, расположены дистолатерально по отношению к соседнему аутозооиду. Авикулярии узкие, закругленные в проксимальной части (диаметр D = 220 мкм), заостренные и слегка изогнутые дистально; с узким остроконечным рострумом (L = 244–278 мкм), который острием направлен к дистальной части соседнего аутозооида. Мандибула авикулярия длинная, изогнутая в виде клюва (рис. 1, 2). Размер авикулярия составляет более половины длины аутозооида (L = 444 мкм). Сопутствующий авикулярию дистальный кенозооид, вероятно, исчез или рудиментарный, как у *Parellisina luciae* (см.: Jullien, 1881). Овицеллы большие, выдающиеся, округлые, с полуовальным отверстием; расположены на гимноцисте соседнего дистального аутозооида (рис. 1). Ширина овицелл больше, чем высота (H = 278–300 мкм,

W = 333–375 мкм). Их эктооеций необызвествлен, эндооеций с центральной тонко исчерченной областью. Овицелла не закрыта оперкулюмом материнского аутозооида. Полипид просвечивает сквозь фронтальную мембрану.

Дифференциальный диагноз. К настоящему времени в роде *Parellisina* известны 13 видов мшанок. Род объединяет виды, у которых авикулярий, как правило, связан с гетерозоецием или кенозоецием. От ископаемого *Parellisina luciae* (см.: Jullien, 1881), у которого также не обнаружены кенозооиды, новый вид отличается присутствием дистальных шипов в онтогении, более узкой криптоцистой и формой интерзооидального викариирущего авикулярия. У *P. luciae* криптоциста широкая у проксимального края аутозооида, шипы отсутствуют, интерзооидальный викариирующий авикулярий с удлиненной и расширенной на конце округленной мандибулой, овицеллы капюшоновидной формы. Новый вид отличается от другого современного вида *Parellisina mboliensis*, у которого имеется исчезающий (редуцированный) кенозооид (Tilbrook, 2006), формой викариирующего авикулярия, отсутствием кенозооида и негранулированным исчерченным эндооецием у овицеллы. У *P. mboliensis* (о-в Флорида, юго-восточная оконечность п-ва Флорида) у проксимального края криптоциста очень узкая; имеется дистальная пара шипов, которая не исчезает в онтогении; авикулярий с полукруглым рострумом и гораздо большего размера, чем почти исчезающий сопутствующий ему кенозооид. Овицеллы большие, выпуклые, с грубо гранулированным эндооецием. Все упомянутые выше признаки у трех сравниваемых видов (отсутствие кенозооида или исчезающий кенозооид и шипы, сохранившиеся в онтогении) уникальны в роде *Parellisina*, так как у других видов этого рода шипы, как правило, редуцированы и исчезают в процессе онтогенетического развития, а также всегда имеется связанный с авикулярием кенозооид. Рострумы авикуляриев у видов этого рода треугольной формы, за исключением видов *P. latirostris* Osburn, 1940 и *P. luciae*, у которых рострумы авикуляриев расширенные и шпателевидные, а размер кенозооидов обычно сопоставим с таковым авикуляриев. У *P. mboliensis*, как исключение, рострум авикулярия полукруглый и кенозооид сильно редуцирован.

Этимология. Вид назван в честь известного зоолога и гидробиолога Евгения Николаевича Грузова.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Андросова Е.И. Мшанки отряда Cheilostomata северной части Японского моря // Исслед. дальневост. морей СССР. 1958. Т. 5. С. 90–205.

Андросова Е.И., Гостиловская М.Г., Изюмова Е.А. Тип Podaxonia, Класс Bryozoa. Список животных литорали Курильских островов // Растительный и животный мир литорали Курильских островов. Новосибирск: Наука. 1974. С. 368–369.

Балашов Ю.С., Леонович С.А. Методы применения растровой электронной микроскопии в зоологии. Л.: Наука. 1984. 70 с.

Гонтарь В.И. Фауна мшанок отряда Cheilostomata прибрежных вод Курильских островов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л. 1980. С. 1–24.

Гонтарь В.И. Новые виды мшанок отряда Cheilostomata из района Курильских островов // Зоол. журн. 1982. Т. 61. Вып. 4. С. 543–553.

Гонтарь В.И. Фауна мшанок отряда Cheilostomata прибрежных вод Курильских островов. ОНП НПЭЦ “Верас-Эко” и ИЗ АН Белоруссии. 1992. 194 с.

Гонтарь В.И. Тип Bryozoa. Список видов фауны беспозвоночных материкового склона Курильской островной гряды. Фауна материкового склона Курильской островной гряды // Исслед. фауны морей. 1993. Т. 46 (54). С. 200–203.

Клюге Г.А. Мшанки северных морей СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 1962. 584 с.

Клюге Г.А., Андросова Е.И., Гостиловская М.Г. Тип Podaxonia, Класс Bryozoa. Список фауны морских вод Южного Сахалина и южных Курильских островов // Исслед. дальневост. морей СССР. 1959. Т. 6. С. 209–213.

Сиренко Б.И. Распределение бентоса в некоторых участках материкового склона Курильской гряды. Фауна материкового склона Курильской островной гряды // Исслед. фауны морей. 1993. Т. 46 (54). С. 5–44.

Ben Ismail D., Ben Hassine O.K., Mascarell G., d'Hondt J.-L. Description d'un nouveau Bryozoaire (Cheilostomes) de Méditerranée Occidentale (Tunisie): *Parellisina curvirostris raibauti,* subsp. nov. // Bull. Soc. Zool. Fr. 2009. V. 134. № 3–4. P. 313–319.

Busk G. Report on the Polyzoa collected by H.M.S. Challenger during the years 1873–1876. Part I: The Cheilostomata // Rep. Sci. Results Voy. H.M.S. “Challenger” 1873–1876. Zoology. 1884. V. 10. № 30. 216 p.

Canu F., Bassler R.S. Les Bryozoaires du Maroc et de Mauritanie // Mém. Soc. Sci. Nat. Maroc. 1925. № 10. P. 1–79.

Canu F., Bassler R.S. Bryozoaires des iles Hawaii // Bull. Soc. Sci. Seine–Oise. Thiers. 1927. V. 8. P. 1–45. Pls. 1–11.

Canu F., Bassler R.S. Fossil and Recent Bryozoa of the Gulf of Mexico region // Proc. U.S. Natl. Mus. 1928. V. 72. Art. 14. P. 1–199. Pls. 1–34.

Canu F., Bassler R.S. Bryozoa of the Philippine region // Bull. U.S. Natl. Mus. 1929. № 100. P. 1–685. Pls. 1–94.

(Contributions to the Biology of the Philippine Archipelago and Adjacent Regions; V. 9).

Di Martino E., Taylor P.D. Miocene Bryozoa from East Kalimantan, Indonesia. Part I: Cyclostomata and 'Anascan' Cheilostomata // Scr. Geol. 2014. № 146. P. 17–126.

Gontar V.I. On the Cheilostomata (Bryozoa) of the Kurile Islands / Eds G.P. Larwood, C. Nielsen // Recent and Fossil Bryozoa. Fredensborg: Olsen&Olsen. 1981. P. 101–103.

Gontar V.I. New deepwater species of Cheilostomatida from the Kuril Islands and the Pacific Ocean (Bryozoa) // Zoosyst. Ross. 1993. V. 2. № 1. P. 41–45.

Gontar V.I. New species of Bryozoa (Cheilostomida) from the region of the Kurile Islands // Zoosyst. Ros. 1996. V. 4. № 1. P. 45–47.

Gordon D.P. Bryozoa of the South China Sea – an overview // Raffles Bull. Zool. Suppl. 2016. № 34. P. 604–618.

Grischenko A.V., Chernyshev A.V. Deep-water Bryozoa from Kuril Basin, Sea of Okhotsk // Deep-Sea Res. Part II. 2018. V. 154. P. 59–73.

Grischenko A.V., Taylor P.D., Mawatari Sh.F. A new Cheilostome Bryozoan with gigantic zooids from the North-West Pacific // Zool. Sci. 2002. V. 19. № 11. P. 1279–1289.

Harmer S.F. The Polyzoa of the Siboga Expedition. Part 2: Cheilostomata Anasca // Siboga-Expeditie. Leiden. 1926. V. 28a. P. 182–501.

Hastings A.B. Cheilostomatous Polyzoa from the vicinity of the Panama Canal collected by Dr. C. Crossland on the cruise of the S.Y. "St. George" // Proc. Zool. Soc. London. 1930. № 47. P. 697–740.

Hincks T. A catalogue of the zoophytes of South Devon and South Cornwall // Ann. Mag. Nat. Hist. Ser. 3. 1862. V. 9. P. 22–30.

Hincks T. A history of the British marine Polyzoa. 2 vols. London. 1880a. 601 p.

Hincks T. Contributions towards a general history of the marine Polyzoa. I. Madeiran Polyzoa // Ann. Mag. Nat. Hist. Ser. 5. 1880b. V. 6. P. 69–92. Pls. 9–11.

Jullien J. Note sur une nouvelle division des Bryozoaires Cheilostomiens // Bull. Soc. Zool. France. 1881. V. 6. P. 271–285.

MacGillivray P.H. Descriptions of some new genera and species of Australian Polyzoa; to which is added a list of species found in Victoria // Trans. Proc. Roy. Soc. Victoria. Melbourne. 1869. V. 9. № 2. P. 126–148.

Osburn R.C. Bryozoa of Porto Rico: with a résumé of the West Indian bryozoan fauna // Sci. Survey of Porto Rico and the Virgin Islands. New York: New York Acad. Sci. 1940. V. 16. Part 3. P. 319–486. Pls. 1–9.

Osburn R.C. The genus *Parellisina* (Cheilostomata Anasca, Bryozoa) // Allan Hancock Found. Publ. Occ. Pap. 1949. № 10. P. 1–9.

Prenant M., Bobin G. Bryozoaires. 2ème partie: Chilostomes Anasca // Faune de France. Paris: Fédération Française des sociétés de sciences naturelles. 1966. № 68. 643 p.

Ridley S.O. Account of the zoological collections made during the survey of H.M.S. Alert in the straits of Magellan and on the coast of Patagonia // Proc. Zool. Soc. London. 1881. P. 44–61.

Robertson A. Report on a collection of Bryozoa from the Bay of Bengal and other eastern Seas // Rec. Indian Mus. Calcutta. 1921. V. 22. P. 33–65.

Rosso A., Di Martino E. Bryozoan diversity in the Mediterranean Sea: an update // Mediterr. Mar. Sci. 2016. V. 17. № 2. P. 567–607.

Ryland J.S., Hayward P.J. British anascan Bryozoans: Cheilostomata, Anasca: keys and notes for the identification of the species // Synopses of the British fauna; new ser. London; New York: Academic Press for the Linnaean Society of London. 1977. № 10. 188 p.

Silén L. Cheilostomata Anasca (Bryozoa) collected by Prof. Dr. Sixten Bock's Expedition to Japan and the Bonin Islands 1914 // Ark. Zool. Stockholm. 1941. V. 33A. № 12. P. 1–130.

Tilbrook K.J. Cheilostomatous Bryozoa from the Solomon Islands. Santa Barbara, Calif.: Santa Barbara Museum of Natural History Monographs. № 4. 2006. P. 1–386. (Studies in Biodiversity; № 3).

Waters A.W. Observations on Membraniporidae // J. Linn., Soc. London. Zool. 1898. V. 26. P. 654–693.

Winston J.E., Vieira L.M., Woollacott R.M. Scientific results of the *Hassler* Expedition: Bryozoa; No. 2. Brazil // Bull. Mus. Comp. Zool. 2014. V. 161. № 5. P. 139–239.

Parellisina gruzovi sp. n. (Bryozoa: Calloporidae), a New Species of Bryozoans from the Region of the Kurile Islands

V. I. Gontar

Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg 199034, Russia

Parellisina gruzovi sp. n., a new species of the bryozoan family Calloporidae belonging to the suborder Flustrina is described. To date, 13 species of recent and fossil species of the genus *Parellisina* are known. The new species is distinguished from the other species of the genus *Parellisina* by its narrower avicularium rounded in the proximal part and slightly bent distally, with a pointed rostrum; the absence of kenozooid associated with avicularium (except *Parellisina luciae* (Jullien, 1881)); the presence of a distal pair of spines (except *Parellisina mboliensis* Tilbrook, 2006), as well as by the structure of the frontal surface of the ovicell with a central finely striated area of the endooecium. Fragments of colonies of the species were collected off Onekotan Island (the northern Kurile Islands) at a depth of 205 m by E.N. Gruzov during an expedition with the R/V "Akademik Oparin" in 1988. This is the first finding of the genus in the Boreal subregion of the Far Eastern seas.

Keywords: Parellisina gruzovi sp. n., Cheilostomatida, Bryozoa, Kurile Islands

БИОЛОГИЯ МОРЯ, 2020, том 46, № 1, с. 70–72

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 574.64

СЕЗОННОЕ НАКОПЛЕНИЕ АМНЕЗИОТОКСИНА (ДОМОЕВОЙ КИСЛОТЫ) У ПРОМЫСЛОВЫХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ *MYTILUS TROSSULUS* GOULD, 1850 И *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS* JAY, 1850 В ЗАЛИВЕ ВОСТОК ЯПОНСКОГО МОРЯ

© 2020 г. И. В. Стоник[1, *], Т. Ю. Орлова[1]

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

**e-mail: innast2004@mail.ru*

Поступила в редакцию 21.05.2019 г.
После доработки 07.09.2019 г.
Принята к публикации 03.10.2019 г.

Впервые проведена оценка сезонного накопления опасного амнезиотоксина – домоевой кислоты (ДК) в тканях двух промысловых видов двустворчатых моллюсков, обитающих в зал. Восток Японского моря. В тканях тихоокеанской мидии *Mytilus trossulus* концентрация ДК в октябре–феврале варьировала от 0.003 до 0.1 мг/кг. В тканях приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* содержание ДК в январе–марте изменялось от 0.003 до 0.09 мг/кг. Максимальное содержание амнезиотоксина в тканях обоих видов моллюсков зарегистрировано в январе. Рекомендовано проводить обязательный круглогодичный мониторинг содержания амнезиотоксина в двустворчатых моллюсках из района исследования.

Ключевые слова: амнезиотоксин, домоевая кислота, двустворчатые моллюски, залив Восток, Японское море

DOI: 10.31857/S0134347520010106

Нейротоксичная домоевая кислота (ДК), продуцентами которой являются диатомовые водоросли, способна накапливаться в моллюсках, рыбах и других гидробионтах, что приводит к отравлению и гибели рыб, птиц, а также морских млекопитающих. У людей ДК вызывает тяжелое отравление, известное как амнезическое отравление моллюсками (Trainer et al., 2012; Bates et al., 2018, и др.). Интоксикации, связанные с употреблением в пищу морепродуктов, содержащих амнезиотоксин, наносят вред здоровью населения многих стран и причиняют значительный экономический ущерб (Lelong et al., 2012; Trainer et al., 2012, и др.). Содержание фикотоксинов в морепродуктах – важнейший показатель их безопасности, который регламентируется во многих странах. В России содержание амнезиотоксина регламентируется СанПиН 2.3.2.2401-08 “Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов” (http://docs.cntd.ru/document/902112577), в которых указан предельный уровень содержания ДК в моллюсках (20 мг/кг). В полуфабрикатах, изготовленных из рыбы и нерыбных продуктов промысла, присутствие ДК не допускается.

Контролировать содержание фикотоксинов в морепродуктах особенно важно в районах расположения хозяйств марикультуры и рекреационных объектов. К числу таких районов относится зал. Восток (зал. Петра Великого, Японское море), где находятся участки марикультуры для выращивания тихоокеанской мидии, приморского гребешка, дальневосточного трепанга и ламинарии японской, а также объекты рекреации, которые в летний сезон посещают не менее 200 тыс. отдыхающих (Orlova et al., 2014). Информация о содержании фикотоксинов в моллюсках из зал. Петра Великого ограничена (Orlova et al., 2015; Stonik et al., 2019); содержание фикотоксинов в двустворчатых моллюсках из зал. Восток ранее не оценивали.

Цель настоящей работы – определить сезонное накопление опасного амнезического токсина (домоевой кислоты) в двух видах промысловых двустворчатых моллюсков из зал. Восток Японского моря.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал собирали в зал. Восток Японского моря в районе с координатами 42°53′ N, 132°44′ E. Тихоокеанскую мидию *Mytilus trossulus* Gould, 1850 (13 проб) отбирали с сентября 2009 г. по октябрь 2010 г. (табл. 1), приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* Jay, 1857 (6 проб) – с января по июнь 2010 г. с глубины около 10 м. У тихоокеанской мидии брали все мягкие ткани, у приморского гребешка – только мускул. В зависимости от размера особи, каждая проба – это материал от 5–10 животных; масса одной пробы составляла 50 г. До проведения анализа пробы хранили при тем-

Таблица 1. Концентрация домоевой кислоты (мг/кг) в тканях двустворчатых моллюсков из зал. Восток Японского моря

Дата сбора	*Mytilus trossulus*	*Mizuhopecten yessoensis*
15.09.2009	nd	–
2.10.2009	0.005	–
16.10.2009	**0.003**	–
27.01.2010	0.1 ± 0.04	0.09 ± 0.009
27.02.2010	0.02 ± 0.001	**0.003**
24.03.2010	nd	**0.003**
29.04.2010	nd	nd
12.05.2010	nd	nd
5.06.2010	nd	nd
4.07.2010	nd	–
3.08.2010	nd	–
28.09.2010	nd	–
22.10.2010	nd	–

Примечание. Приведены средние значения ± стандартное отклонение; “nd” – значения концентрации ниже предела обнаружения; “–“ данные отсутствуют. Жирным шрифтом выделены концентрации, соответствующие пределу обнаружения методом cELISA.

пературе –80°C. В лаборатории пробу гомогенизировали с помощью блендера, 4 г гомогената экстрагировали в 16 мл 50% раствора метанола, центрифугировали в течение 10 мин при 3000 оборотов при комнатной температуре и затем отбирали супернатант. Непосредственно перед проведением анализа аликвоту получившегося экстракта разбавляли буферным раствором (10% метанол в фосфатном буфере с твином 20, pH 7.4). Экстракт анализировали в трех повторностях (57 измерений). Содержание домоевой кислоты измеряли методом конкурентного иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов ASP direct cELISA kit (Biosense Laboratories AS, Norway, AOAC Official method 2006.02) в соответствии с рекомендациями производителя (https://stylab.ru/netcat_files/userfiles/Flyers/Algal_toxins/ASP_ELISA.pdf). Данная методика рекомендована международной Ассоциацией аналитических сообществ (AOAC International) в качестве официального метода при рутинных мониторинговых исследованиях количественного содержания домоевой кислоты в съедобных моллюсках (Kleivdal et al., 2007; AOAC International, 2012). Она отличается высокой селективностью и чувствительностью, а также легкостью выполнения измерений по сравнению с инструментальным методом ВЭЖХ-УФ (предел количественного определения 0.5 мг/кг). Оптическую плотность растворов измеряли с помощью микропланшетного фотометра BioTek ELx800 (BioTek, USA) при длине волны 450 нм. Предел обнаружения метода cELISA составляет 0.003 мг/кг, предел количественного определения – 0.011 мг/кг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате круглогодичных наблюдений было установлено, что ДК в тканях тихоокеанской мидии присутствовала с октября по февраль; весной, летом и в начале осени в тканях этого моллюска амнезиотоксин не найден (табл. 1). В тканях приморского гребешка ДК была обнаружена в январе–марте, а в апреле–июне токсин не найден. Концентрация ДК в тканях моллюсков была низкой: от 0.003 до 0.1 мг/кг в пробах *M. trossulus* и от 0.003 до 0.09 мг/кг в пробах *M. yessoensis*. Установлено, что ДК присутствовала в 37% изученных проб. Максимальная концентрация амнезиотоксина (около 0.1 мг/кг) в тканях обоих видов зарегистрирована в конце января (табл. 1). Полученные результаты изменили наше представление о сезонах, в течение которых в зал. Петра Великого возможно загрязнение двустворчатых моллюсков фикотоксинами. Ранее считали, что загрязнение происходит только в летне-осенний период (Orlova et al., 2015; Stonik et al., 2019).

Известно, что содержание фикотоксинов в моллюсках в большей степени связано с концентрацией токсичного фитопланктона, отмеченной ранее, чем с его концентрацией, установленной одновременно с измерением токсичности моллюсков (Bricelj, Shumway, 1998). Сезонные исследования фитопланктона, проведенные в зал. Восток в мае–октябре 2009 г., позволили выявить массовое развитие в сентябре–октябре токсичной диатомовой водоросли *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle, 2003, плотность которой составляла 50–96 тыс. кл/л (М.С. Селина, личное сообщение). Эти сведения, а также установленная ранее высокая токсичность клонов *P. calliantha* из зал. Петра Великого (Stonik et al., 2019) свидетельствуют о том, что данный вид водорослей можно рассматривать как потенциальный источник ДК в моллюсках из района исследования.

Интенсивные и масштабные токсичные “цветения” *Pseudo-nitzschia* и связанное с ними накопление ДК в моллюсках до экстремально высоких значений (более 300 мг/кг), а также многочисленные случаи гибели морских птиц и млекопитающих характерны для тихоокеанских прибрежных вод США (Lelong et al., 2012; Trainer et al., 2012). В северо-западной части Тихого океана отравления людей и морских животных, обусловленные “цветениями” *Pseudo-nitzschia*, не зарегистрированы. Однако и в этом районе возможны случаи существенного накопления амнезиотоксина в моллюсках. Так, содержание ДК выше утвержденного предельного допустимого уровня концентрации (20 мг/кг), при котором вводится запрет на добычу и употребление в пищу моллюсков (http://files.foodmate.com/2013/files_930.html), зарегистрировано в мидиях из прибрежных вод Кореи (Lee, Baik, 1997) и о-ва Сахалин, где концентрация токсина в трех пробах приморского гребешка превышала предельно допустимую в 3.0–5.5 раза (Могильникова и др., 2007). Максимальные концентрации ДК в

тканях *M. trossulus* и *M. yessoensis* из зал. Восток (около 0.1 мг/кг), а также из других районов северо-западной части Японского моря – от 0.01 до 0.3 мг/кг (Stonik et al., 2019) – оказались существенно ниже предельно допустимых показателей.

Несмотря на то, что концентрация ДК в изученных пробах была невысокой, можно предположить, что при формировании интенсивных "цветений" *Pseudo-nitzschia* (концентрация выше 1 млн кл/л), подобных тем, что наблюдались ранее в Амурском и Уссурийском заливах Японского моря (Стоник, Орлова, 2013), существует высокая вероятность накопления ДК в моллюсках, обитающих в зал. Восток, до опасных для человека и животных значений. Необходимо отметить, что длительное хроническое воздействие даже низких концентраций ДК может быть причиной неврологических нарушений (Lelong et al., 2012). Результаты нашей работы указывают на необходимость проведения круглогодичного мониторинга содержания амнезиотоксина в двустворчатых моллюсках из района исследования.

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 финансовой поддержке программы "Дальний Восток" № 18-5-074.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Могильникова Т.А., Мотылькова И.В., Коновалова Н.В. О развитии массовых токсичных видов фитопланктона и содержании фикотоксинов в тканях гребешка *Mizuhopecten yessoensis* Jay в прибрежных водах о. Сахалин // Тр. СахНИРО. 2007. Т. 9. С. 207–222.

Стоник И.В., Орлова Т.Ю. Видовой состав и количественное распределение диатомовых водорослей рода *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, 1900 в российских водах Японского и Охотского морей // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 4. С. 246–253.

AOAC. Official methods of analysis of AOAC International: 19th ed. / Ed. G.W. Jr. Latimer. Gaithersburg, Md, USA: AOAC International. 2012.

Bates S.S., Hubbard K.A., Lundholm N. et al. Pseudo-nitzschia, Nitzschia, and domoic acid: new research since 2011 // Harmful Algae. 2018. V. 79. P. 3–43.

Bricelj V.M., Shumway S.E. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfer kinetics, and biotransformation // Rev. Fish. Sci. 1998. V. 6. P. 315–383.

Kleivdal H., Kristiansen S.-I., Nilsen M.V., Goksøyr A. Determination of domoic acid toxins in shellfish by Biosense ASP ELISA – a direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay: collaborative study // J. AOAC Int. 2007. V. 90. P. 1011–1027.

Lee J.H., Baik J.H. Neurotoxin-producing *Pseudonitzschia multiseries* (Hasle) Hasle, in the coastal waters of Southern Korea. II. Production of domoic acid // Korean J. Phycol. 1997. V. 12. P. 31–38.

Lelong A., Hégaret H., Soudant P., Bates S.S. Pseudo-nitzschia (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms // Phycologia. 2012. V. 51. P. 168–216.

Orlova T.Yu., Morozova T.Yu., Kameneva P.A., Schevchenko O.G. Harmful algal blooms on the Russian east coast and their possible economic impacts // PICES Sci. Rep. 2014. № 47. P. 41–58.

Orlova T.Yu., Kameneva P.A., Stonik I.V. et al. Diarrhetic shellfish toxins in Primorsky Krai, Russia // J. Shellfish Res. 2015. V. 34. № 3. P. 1151–1160.

Stonik I.V., Orlova T.Yu., Chikalovets I.R. et al. Pseudo-nitzschia species (Bacillariophyceae) and the domoic acid concentration in *Pseudo-nitzschia* cultures and bivalves from the northwestern Sea of Japan, Russia // Nova Hedwigia. 2019. V. 108. № 1–2. P. 73–93.

Trainer V.L., Bates S.S., Lundholm N. et al. Pseudo-nitzschia physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health // Harmful Algae. 2012. V. 14. P. 271–300.

Seasonal Accumulation of Amnesic Toxin (Domoic Acid) in Commercial Bivalves *Mytilus trossulus* Gould, 1850 and *Mizuhopecten yessoensis* Jay, 1850 in Vostok Bay, Sea of Japan

I. V. Stonik[a] and T. Yu. Orlova[a]

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

The seasonal accumulation of the amnesic toxin domoic acid (DA) in the tissues of two commercial species of bivalves from Vostok Bay (the Sea of Japan) was assessed for the first time. The concentration of domoic acid in the tissues of the Pacific mussel *Mytilus trossulus* varied from 0.003 to 0.1 mg/kg during the period between October and February, and in the scallop *Mizuhopecten yessoensis* it varied from 0.003 to 0.09 mg/kg during the period between January and March. The maximum concentration of domoic acid in both species of mollusks was recorded in January. The results indicate the need for a year-round monitoring of amnesic toxin concentrations in bivalves from Vostok Bay.

Keywords: amnesic toxin, domoic acid, diatoms, bivalves, Vostok Bay, Sea of Japan