

# СОДЕРЖАНИЕ

Том 46, номер 2, 2020

## Обзор

- Лейкемия-подобный рак у двустворчатых моллюсков  
*Н. А. Одинцова* 75
- Эколого-темпоральная дифференциация, единицы запаса и сохранение популяционного разнообразия анадромных рыб  
*В. Н. Иванков, Е. В. Иванкова* 85

## Оригинальные статьи

- Морфологическое описание и биология малоизвестных глубоководных скатов рода *Bathyraja* Ishiyama, 1958 (Rajidae) из северо-западной части Тихого океана  
*В. Н. Долганов* 91
- Распределение взрослых самцов многошипого круглопера *Eumicrotremus asperimus* (Tanaka, 1912) (Cyclopteridae) в Японском море у побережья северного Приморья и замечания о размножении данного вида  
*В. В. Панченко, А. А. Баланов* 100
- Паразиты мелких рыб-кораллобионтов, ведущих скрытный образ жизни  
*А. Е. Жохов, М. Н. Пугачева, Ха Во Тхи, В. Н. Михеев* 107
- Иммуноцитохимическая идентификация PIWI-позитивных клеток в ходе восстановления популяции целомоцитов после эвисцерации у голотурии *Eupentacta fraudatrix* (Djakonov et Baranova, 1958) (Holothuroidea: Dendrochirota)  
*Е. Г. Завальная, Е. В. Шамигурина, М. Г. Елисейкина* 117
- Влияние света разного спектрального состава на фотосинтетические характеристики C-фикоцианинсодержащей цианобактерии *Synechococcus* sp. WH5701  
*Т. В. Ефимова, Т. Я. Чурилова, В. С. Муханов* 126
- Поглощение и преобразование дизельного топлива водорослью *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber et D. Mohr, 1805 (Rhodophyta) и ее возможная роль в биоремедиации морской воды  
*Г. М. Воскобойников, И. В. Рыжик, Д. О. Салахов, Л. О. Метелькова, З. А. Жаковская, Е. М. Лопушанская* 135

## Краткие сообщения

- Asterocolax denticulatus* (Tokida) Feldmann et G. Feldmann, 1951 – новый представитель делессериевых водорослей (Ceramiales: Rhodophyta) у берегов Камчатки  
*О. Н. Селиванова, Г. Г. Жигадлова* 142

## ОТ РЕДАКЦИИ

Уважаемые читатели!

В 2020 году журнал “Биология моря” перешагнул 45-летний рубеж своего издания. Начиная с 1975 года, ежегодно выходит в свет 6 номеров русской и переводной версий журнала. За прошедшее время тематика журнала существенно не изменилась. В журнале публикуются статьи, посвященные изучению морских организмов и их жизнедеятельности, а также проблемам сохранения, рационального использования и воспроизводства биологических ресурсов морей и океанов.

Журнал был создан по инициативе и при активнейшем участии академика Алексея Викторовича Жирмунского (1921–2000), организатора и первого директора Института биологии моря АН СССР. Подготовка к изданию журнала была начата практически одновременно с основанием Института – ныне Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук. 1 января 2020 года исполнилось 50 лет со дня учреждения Института. В первые годы издания журнала сотрудники Института составляли ядро редколлегии, редакции и авторского коллектива.

В юбилейный для морских биологов год мы предоставляем страницы журнала ведущим научным сотрудникам Института (Центра) для публикации обзоров по ряду современных актуальных проблем морской биологии.

# Contents

---

---

Volume 46, No 2, 2020

---

---

## Review

- Leukemia-Like Cancer in Bivalves  
*N. A. Odintsova* 75
- Ecological and Temporal Differentiation, Stock Units, and Conservation  
of Population Diversity of Anadromous Fishes  
*V. N. Ivankov, E. V. Ivankova* 85
- 

## Original papers

- A Morphological Description and Biology of Poorly Known Deep-Sea Skates  
of the Genus *Bathyraja* Ishiyama, 1958 (Rajidae) from the Northwestern Pacific Ocean  
*V. N. Dolganov* 91
- Distribution of Adult Males of the Siberian Lump sucker *Eumicrotremus asperrimus*  
(Tanaka, 1912) (Cyclopteridae) off the Northern Primorsky Krai Coast, Sea of Japan,  
and Remarks on Reproduction of This Species  
*V. V. Panchenko and A. A. Balanov* 100
- Parasites of Small Cryptic Coral Reef Fishes  
*A. E. Zhokhov, M. N. Pugacheva, Ha Vo Thi, and V. N. Mikheev* 107
- The Immunocytochemical Identification of PIWI-Positive Cells During the Recovery  
of a Coelomocyte Population in the Holothurian *Eupentacta fraudatrix* (Djakonov et Baranova, 1958)  
(Holothuroidea: Dendrochirota) After Evisceration  
*E. G. Zavalnaya, E. V. Shamshurina, and M. G. Eliseikina* 117
- Influence of Light of Different Spectral Qualities on the Photosynthetic Characteristics  
of C-Phycocyanine-Containing Cyanobacteria *Synechococcus* sp. WH5701  
*T. V. Efimova, T. Ya. Churilova, and V. S. Mukhanov* 126
- Absorption and Conversion of the Diesel Fuel by the Red Alga *Palmaria palmata* (Linnaeus)  
F. Weber et D. Mohr, 1805 (Rhodophyta): the Potential Role of the Alga in Bioremediation of Sea Water  
*G. M. Voskoboinikov, I. V. Ryzhik, D. O. Salakhov, L. O. Metelkova,  
Z. A. Zhakovskaya, and E. M. Lopushanskaya* 135
- 

## Brief notes

- Asterocolax denticulatus* (Tokida) Feldmann et G. Feldmann, 1951, a New Representative  
of Delesseriacean Algae (Ceramiales: Rhodophyta) in Coastal Waters of Kamchatka  
*O. N. Selivanova and G. G. Zhigadlova* 142
- 
-

УДК 576.52:576.5

## ЛЕЙКЕМИЯ-ПОДОБНЫЙ РАК У ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ<sup>1</sup>

© 2020 г. Н. А. Одинцова\*

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

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

Поступила в редакцию 12.11.2019 г.

После доработки 14.01.2020 г.

Принята к публикации 30.01.2020 г.

Рассмотрены литературные данные о распространении диссеминированной неоплазии, или злокачественной лейкемии (лейкемия-подобный рак), в популяциях нескольких видов двустворчатых моллюсков. Эта болезнь у морских *Bivalvia* известна давно, но ее этиологию только в настоящее время (с развитием молекулярно-генетических методов) стали связывать с ретротранспозонами, которые могут передаваться в результате горизонтального переноса генов между разными видами моллюсков. Передача ретротранспозонов, как и опухолевых гемоцитов или их скоплений, возможна через морскую воду, при этом у особи-реципиента больные гемоциты не отторгаются иммунной системой. В некоторых районах мира лейкемия-подобный рак приводит к серьезным экономическим проблемам при развитии аквакультуры двустворчатых моллюсков. Разработка методов анализа злокачественных заболеваний моллюсков открывает перспективу широкого применения данных методов в морской биологии. Такая информация важна и при исследовании злокачественных опухолей человека.

*Ключевые слова:* двустворчатые моллюски, гемоциты, горизонтальный перенос, ретротранспозоны, злокачественная лейкемия

**DOI:** 10.31857/S0134347520020072

Двустворчатые моллюски (*Bivalvia*) — достаточно обширная группа, насчитывающая около 7500 видов. Это второй по величине и самый разнообразный класс после класса *Gastropoda*. Многие виды двустворчатых моллюсков являются сидячими фильтраторами. Питаясь фитопланктоном, они аккумулируют бактерии, вирусы, пестициды, промышленные отходы, токсичные металлы и нефтепродукты, поэтому могут быть маркерами для биомониторинга загрязнений водных экосистем и идеальными объектами для исследования последствий экологических катастроф (Song et al., 2010). У двустворчатых моллюсков имеется множество эффективных стратегий защиты от патогенов, токсических соединений, биотоксинов микроводорослей и различных видов стресса, оказывающих значительное влияние на водные экосистемы (Pörtner, 2008; Farabegoli et al., 2018). Цель настоящей работы — представить литературные данные о присутствии лейкемия-подобного рака в популяциях морских двустворчатых

моллюсков в разных районах земного шара, оценить возможные причины появления и передачи этого заболевания в ходе длительной эволюции *Bivalvia*, а также привести информацию об основных методах его анализа. Изучение болезней морских обитателей особенно важно для сравнения со злокачественными опухолями человека (Aguilera, 2017; Fernández Robledo et al., 2019).

В обзоре рассмотрена этиология опухолей, связанных с нарушениями пролиферации гемоцитов у моллюсков. Эта болезнь у морских *Bivalvia* известна с 1969 г., поэтому приведены сведения именно о лейкемия-подобном раке двустворчатых моллюсков, об их иммунной системе и методах анализа данного заболевания у этих животных, а также рассмотрены основные гены, вовлеченные в развитие рака у всех животных. Причиной появления лейкемия-подобного рака у двустворчатых моллюсков в последнее время считают ретротранспозоны, которые могут передаваться в результате горизонтального переноса генетического материала.

<sup>1</sup> Публикуется в связи с 50-летием Института биологии моря (в настоящее время — ННЦМБ им. А.В. Жирмунского ДВО РАН).

*Этиология злокачественных опухолей, связанных с нарушениями пролиферации гемоцитов у двустворчатых моллюсков*

Лейкемия-подобный рак двустворчатых моллюсков — это злокачественная форма рака, при которой опухолевые гемоциты или их скопления могут передаваться от одной особи к другой. Этиология злокачественных опухолей у двустворчатых моллюсков пока неизвестна. Неопластические гемоциты можно рассматривать как паразитов, способных инфицировать других особей (Riquet et al., 2017), либо в качестве потенциально полезных элементов, необходимых для функциональной эволюции эукариот. Передача раковых клеток может происходить через морскую воду, которая проникает в организм моллюска при фильтрации. Со временем раковые клетки распространяются по всем органам и тканям зараженного животного (Metzger et al., 2016). Возможно, опухолевые гемоциты могут мигрировать из водной толщи через слизистые оболочки, нарушая эпителиальный барьер (Metzger et al., 2015, 2016). В настоящее время у двустворчатых моллюсков, как и у всех беспозвоночных, неизвестно о существовании системы генов аллогенного иммунного распознавания. Молекулярные комплексы, способные распознавать клетки и ткани особей этого же вида, описаны лишь у представителей эволюционной линии Chordata, начиная с асцидий (Taketa, De Tomaso, 2015) и хрящевых рыб (Ройт и др., 2000).

Передача лейкемия-подобного рака между особями двустворчатых моллюсков может указывать на вирусную этиологию (Appeldoorn et al., 1984; Twomey, Mulcahy, 1988; Elston et al., 1992; Collins, Mulcahy, 2003; Renault, Novoa, 2004). Однако отсутствие пролиферативных нарушений у моллюсков, зараженных гемолимфой без клеток, указывает на то, что этиология болезни не должна быть связана с вирусами (McLaughlin et al., 1992). Эта болезнь была описана у многих видов животных (Muttray, Vassilenko, 2018). Возможно, ее появление связано с генетическими аномалиями (Benabdelmouna et al., 2018), так как именно генетические аномалии в популяциях мидий у побережья Франции привели к огромной смертности (90–100%) молодежи и взрослых моллюсков в 2014 г. (Béchemin et al., 2015).

В некоторых районах лейкемия-подобный рак достигает масштабов эпизоотий, приводя к серьезным экономическим проблемам в развитии аквакультуры двустворчатых моллюсков (Ciocan, Sunila, 2005). Различные факторы стресса могут вызывать разные уровни смертности, но ни один из этих факторов не может объяснить эпизоотии в популяциях нескольких видов двустворчатых моллюсков, обнаруженные в разных районах земного шара (Benabdelmouna, Ledu, 2016). Суще-

ствует мнение, что между уровнем загрязнения и частотой появления лейкемия-подобного рака нет корреляции, однако Леавитт с коллегами (Leavitt et al., 1990) отмечают, что частота появления гемоцитарной неоплазии у песчаной мидии *Mya arenaria* намного выше в сильно загрязненных районах побережья. Такой же вывод сделан при изучении опухолей аддуктора у приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* из загрязненных районов зал. Петра Великого Японского моря вблизи г. Владивосток, Россия (Ушева, 1999), а также опухолей соединительной ткани у мидии *Mytilus trossulus* из загрязненного района зал. Находка Японского моря, Россия (Ушева, Фролова, 2000). Даже если сначала гистопатологические изменения в тканях моллюсков носят неспецифический характер, связанный с хроническим воспалением (Ушева, 1999), некоторые загрязнители могут обострять уже существующие инфекции (Elston et al., 1992; Barber, 2004). Не исключено, что этиология этой болезни станет понятнее, когда будут установлены ее молекулярные механизмы (Walker et al., 2009).

*Лейкемия-подобный рак у моллюсков*

Впервые сведения о необычной пролиферации гемоцитов и, возможно, о неопластической болезни гемопоэтической системы моллюсков у побережий США (устриц *Crassostrea virginica* и *C. gigas*, а также голубой мидии *M. edulis*) появились в работах Фарлея (Farley, 1969a, b). Затем подобные случаи диссеминированной неоплазии (которую называют по-разному: злокачественная лейкемия, лейкемия-подобный рак, саркоматозная опухоль) были описаны по крайней мере у 20 разных видов моллюсков (Rasmussen et al., 1985; Farley et al., 1986; Peters, 1988; Zizzo et al., 1991; Elston et al., 1992; Villalba et al., 1995, 2001; Campalans et al., 1998; Da Silva et al., 2005; Delaporte et al., 2008; Galimany, Sunila, 2008; Le Grand et al., 2010; Díaz et al., 2013; Vassilenko, Baldwin, 2014; Newton, Lewbart, 2017).

Большинство известных опухолей моллюсков были определены как доброкачественные в основном из-за отсутствия доказательств высокой степени пролиферации и метастазов (Uшева, Odintsova, 1997, 1999; Ушева, 1999; Odintsova et al., 2011; Newton, Lewbart, 2017). Исключением является злокачественная лейкемия, связанная с необычно высокой пролиферацией гемоцитов. Лейкемия-подобный рак гемоцитов морских двустворчатых моллюсков в течение полувека был известен как смертельная и, вероятно, инфекционная болезнь (Farley, 1969a, b; Mix, 1986; Brousseau, 1987; Elston et al., 1988; Peters, 1988; Barber, 2004; Benabdelmouna, Ledu, 2016).

Высказано предположение, что уровень митотической активности опухолевых клеток в гемо-

лимфе двустворчатых моллюсков может зависеть от стадии развития рака (Sunila, 1991). На примере *M. arenaria* показано, что быстрее всего опухолевые гемоциты делились на ранних стадиях развития злокачественной лейкемии, когда менее чем 10% гемоцитов замещалось опухолевыми клетками (Sunila, 1991). На последних стадиях развития болезни уровень митотической активности (митотический индекс 1.2%) был почти в 100 раз ниже, чем на начальной стадии.

По внешней морфологии больные особи со злокачественной лейкемией не отличались от здоровых моллюсков (Farley, 1969a, b), но размер раковины у всех больных особей *M. arenaria* варьировал от 40 до 70 мм (Leavitt et al., 1990), т.е. это были взрослые моллюски, способные к нересту. В разных работах были исследованы моллюски обоих полов, однако определить большую зараженность самцов или самок в настоящее время невозможно. Известно, что развитие болезни зависит от условий, в которых обитают моллюски: от сезона и солености (Schlieper, 1966). Если отлов моллюсков был проведен в зимний период или ранней весной, они лучше адаптировались к изменению температуры (Facchini et al., 2018). Больные моллюски с низким содержанием опухолевых гемоцитов могут жить несколько месяцев; культуры, полученные из них, тоже будут жить долго, если гемоциты моллюсков были взяты в зимний период, но если моллюски были собраны летом, то полученные культуры быстро умрут (Walker et al., 2009).

Гемолимфа здоровых моллюсков содержит терминально дифференцированные гемоциты, как агранулярные, так и гранулярные. Например, у *M. arenaria* концентрация всех гемоцитов в норме составляет около  $1-6 \times 10^6$  клеток/мл (Walker et al., 2009). У моллюсков с опухолями концентрация гемоцитов обычно увеличена (Aguilera, 2017), и на последних стадиях развития злокачественной лейкемии происходит замещение нормальных циркулирующих гемоцитов большими делящимися клетками опухолей (Vassilenko et al., 2010; Vassilenko, Baldwin, 2014; Benabdelmouna et al., 2018). Именно на последних стадиях развития болезни увеличивается число недифференцированных клеток в гемолимфе (Wineberg et al., 1997), а животные находятся в плохом физиологическом состоянии (Leavitt et al., 1990). Для опухолевых гемоцитов характерны увеличенное ядро и негранулярная цитоплазма, а также высокие ядерно-цитоплазматическое отношение и уровень митотической активности (Ушева, Фролова, 2000; Villalba et al., 2001). С током гемолимфы неопластические клетки разносятся по всему организму и инфильтрируют соединительные ткани моллюска, гонады, мантию и ногу (Khudoley, Syrenko, 1977; Barber, 2004; Carballal et al., 2015).

#### *Исследование иммунной системы двустворчатых моллюсков*

Интерес к иммунитету *Bivalvia* в последние годы растет в связи с серьезными заболеваниями, приводящими к значительной смертности этих моллюсков. Информация о патологиях иммунной системы двустворчатых моллюсков накапливается, однако ее молекулярные механизмы почти не исследованы, так как изучено лишь небольшое количество наиболее распространенных видов (Bachere et al., 1990; Song et al., 2010).

Известно, что у моллюсков отсутствует адаптивный иммунитет (Fernández Robledo et al., 2019). Внутренняя защита реализуется одновременно через клеточный и гуморальный компоненты. К первому относятся фагоцитоз и инкапсуляция с последующим уничтожением возбудителя с помощью ферментативной активности гемоцитов и активных форм кислорода, а гуморальный компонент включает в себя различные реакции, опосредованные целым рядом таких молекул, как окись азота, лизозимы, лектины и фенолоксидазы (López et al., 1997; Song et al., 2010; Gorbushin, Iakovleva, 2011; Gorbushin, Borisova, 2015; Vasta et al., 2015). Гемоциты моллюсков обеспечивают первую линию защиты против чужеродных частиц или организмов, но теряют свою функциональность при превращении в опухолевые гемоциты. Интересный факт: у гемоцитов больных моллюсков снижена способность к фагоцитозу, вероятно, из-за плохо сформированного актинового цитоскелета (Beckmann et al., 1992; Walker et al., 2009; Tomanek, 2012).

#### *Диагностирование лейкемия-подобного рака моллюсков с помощью разных методов*

Опубликованы данные о попытках заражения гемоцитов здоровых моллюсков *in vivo* инъекциями гемоцитов больных животных, гемолимфой без клеток или лизированными гемоцитами (Elston et al., 1988; McLaughlin et al., 1992; Sunila, 1992; Wineberg et al., 1997). Показано, что индукция рака происходила медленнее (в течение 9 недель), если для инъекции использовали гемолимфу больных моллюсков без клеток (Walker et al., 2009).

В гемолимфе нормальных здоровых моллюсков содержатся практически только диплоидные клетки с размером ядер 5–7 мкм (мидии) или 7–9 мкм (мии), тогда как в гемолимфе больных животных кроме диплоидных клеток содержатся полиплоидные клетки, появление которых может быть связано с генотоксичными эффектами неизвестного происхождения и/или с болезнью гемоцитов. При этом размер ядер в гемоцитах больных мидий значительно увеличивается: от 7.5 до 21.0 мкм (Benabdelmouna et al., 2018). Изменения ploидности гемоцитов можно надежно оценить с помо-

шью проточной цитометрии (Elston et al., 1990; Reno et al., 1994; Da Silva et al., 2005; Galimany, Sunila, 2008; Díaz et al., 2013; Vassilenko, Baldwin, 2014; Benabdelmouna, Ledu, 2016), которая показывает, что неопластические клетки моллюсков могут содержать больше ДНК, чем нормальные гемоциты: в них кроме диплоидных клеток представлен широкий спектр полиплоидных клеток ( $4n$ ,  $5n$  или очень редко  $7-8n$ ) (Elston et al., 1990; Moore et al., 1991; Galimany, Sunila, 2008; Díaz et al., 2013). Вероятно, изменения пloidности связаны с изменениями ядерной структуры гемоцитов и их размеров, как это было показано для разных видов двустворчатых моллюсков, включая *Mytilus* spp. (Rasmussen et al., 1985; Carella et al., 2013, 2017), *Cerastoderma edule* (Collins, 1998; Da Silva et al., 2005), *Limecola balthica* (Smolarz et al., 2005) и *M. arenaria* (Reno et al., 1994; Delaporte et al., 2008; Siah et al., 2008).

Существует два традиционных подхода диагностирования лейкомиа-подобного рака моллюсков при помощи гистологических методов. В первом случае изготавливают препараты тканей, которые окрашивают гематоксилином и эозином с помощью стандартных гистологических методик. Этот метод позволяет выявлять неопластические клетки в тканях и диагностировать заболевание с высокой точностью (Carella et al., 2013). Второй способ диагностики основан на поиске неопластических клеток на окрашенных препаратах монослоев гемоцитов, полученных из гемолимфы моллюска. Исходно монослой гемоцитов получают в результате адгезии клеток на поверхность стекол, покрытых поли-L-лизинном — положительно заряженным аминокислотным полимером, который обеспечивает прикрепление клеток к поверхности. Следует отметить, что неопластические клетки гораздо хуже закрепляются на субстрате, чем здоровые гемоциты, и не расщепляются на нем (Elston et al., 1992). Возможно, как отмечено выше, причиной является аномальный актиновый цитоскелет (Tomanek, 2012). Кроме этого, при гистопатологической проверке больных моллюсков было обнаружено много аномальных митозов, ранее описанных в популяциях моллюсков из разных географических районов (Farley, 1969a, b; Beckmann et al., 1992; Reno et al., 1994; Ушева, Фролова, 2000; Galimany, Sunila, 2008).

#### *Гены, вовлеченные в развитие рака у животных*

Большинство известных типов рака возникает, когда мутации ДНК вызывают неконтролируемый рост клеток. Опухоль можно определить либо как ненормальное деление генетически модифицированных клеток, либо как нарушение нормальных механизмов контроля роста, т.е. развитие дефектов основных процессов сигнализации (Agu-

ilera, 2017; Newton, Lewbart, 2017). Борьба с раком невозможна без генетических исследований. Оценка геномной гомологии показывает, что каждая филогенетическая клада — от вирусов до эукариот — имеет своего предшественника, который может содержать характерные общие последовательности (Zdobnov et al., 2017).

Эволюционно древние механизмы образования раковых опухолей существуют в геномах разных животных до настоящего времени; многие гены вовлечены в развитие рака (Panaud, 2016). Так, теломерные повторы обнаружены не только у млекопитающих, но и у многих моллюсков, включая двустворчатых (Plohl et al., 2002; Pérez-García et al., 2010). Не исключено, что теломерная последовательность TTAGGG произошла от обратной транскриптазы ретротранспозонов (Nakamura, Szech, 1998). Среди генов, связанных с лейкомиа-подобным раком, следует отметить комплекс генов, кодирующих опухолевый супрессор p53 и морталин (белок из семейства белков теплового шока) (Siah et al., 2008). Ген p53 регулирует клеточный цикл и препятствует опухолевой трансформации. Гомолог этого гена был описан в клетках *M. arenaria* (см.: Kelley et al., 2001) и двух видов мидий — *M. edulis* (см.: Ciocan, Rotchell, 2005; Muttray et al., 2005) и *M. trossulus* (см.: Muttray, Vassilenko, 2018). Установлено совместное присутствие p53 и морталина в цитоплазме опухолевых гемоцитов *M. arenaria*, но не в цитоплазме нормальных гемоцитов; при этом обнаружена суперэкспрессия морталина в опухолевых клетках данного моллюска (Walker et al., 2006, 2011). В опухолевых гемоцитах сам p53-сигнальный путь, ведущий к апоптозу, не изменен (Siah et al., 2008). Возможно, происходит изменение экспрессии некоторых генов. Так, обнаружена различная экспрессия онкогена *ras*, контролирующего сигнальный каскад, связанный с ростом клеток: в *M. trossulus* этот онкоген экспрессировался в опухолевых гемоцитах и не экспрессировался в нормальных (Ciocan et al., 2006). В соматических клетках мутации генетического материала ведут к раку, а в клетках первично-половой линии или их предшественниках эти мутации могут приводить к увеличению пloidности генома (Kemp, Longworth, 2015). Злокачественная лейкомиа, несмотря на территориальную репродуктивную изоляцию видов, обнаружена в популяциях мидий как в Северной Европе (у *M. edulis*, Франция, Нидерланды), так и в Южной Америке (у *M. chilensis*, Чили, Аргентина), возможно, в связи с переносом особей *M. trossulus*, прикрепившихся ко дну трансокеанских лайнеров (Yonemitsu et al., 2019). Во всех случаях ДНК больных гемоцитов была сходна. Данный тип рака не был похож на известный тип рака мидий, ранее обнаруженный в популяциях *M. trossulus* из Британской Колумбии (Vassilenko et al., 2010; Vassilenko, Baldwin, 2014). Вероятно, этот

тип злокачественной лейкемии, возникший в популяциях *M. trossulus* сейчас, выявлен у представителей двух других видов мидий – *M. edulis* и *M. chilensis*, живущих в обоих полушариях.

Частота встречаемости опухолей в разных таксономических группах низших позвоночных и беспозвоночных животных разная (Aguilera, 2017). Например, мало известно о наличии опухолей у иглокожих или губок, но опубликовано довольно много работ об опухолях у насекомых или моллюсков (Sparks, 1969; Aktipis et al., 2015; Newton, Lewbart, 2017). Следует отметить, что разные типы опухолей у двустворчатых моллюсков были исследованы более интенсивно, чем у других беспозвоночных животных. Присутствие апоптозных опухолевых клеток и уменьшение их количества в процессе развития опухоли у моллюсков показывают, что пролиферация в клетках лейкемия-подобного рака может регулироваться генетически (Galimany, Sunila, 2008). Разные виды моллюсков заболевают этим типом рака с разной частотой: не исключено, что частая встречаемость лейкемия-подобного рака в популяциях *M. rossulus*, низкая в популяциях *M. edulis* и очень редкая в популяциях *M. galloprovincialis* обусловлена наличием апоптоз-регулирующих генов в геноме того или иного вида мидий (Galimany, Sunila, 2008).

#### В поисках ретроэлементов

В неопластических гемоцитах *M. arenaria*, но не в здоровых гемоцитах этого моллюска, была отмечена повышенная концентрация фермента обратной транскриптазы (Medina et al., 1993; House et al., 1998), что указывает на активность ретровирусов либо ретротранспозонов. В больших моллюсках были изолированы вирусные частицы, которые принадлежат семейству *Retroviridae* (Oprandy et al., 1981). Получены электронные микрофотографии этих частиц; их размер составляет около 120 нм (Romalde et al., 2007).

В поисках ретроэлементов на первом этапе исследований была секвенирована РНК неопластических и нормальных гемоцитов *M. arenaria*. Были обнаружены транскрипты неизвестного ранее ретроэлемента из семейства *Gypsy*, который был назван *Steamer* (Metzger et al., 2015, 2016). Соотношение количества эндогенных копий этого ретроэлемента в клетках здоровых животных в гаплоидном гене было оценено как 2 : 10, а в неопластических клетках как 150 : 300 (Arriagada et al., 2014). Этот ретроэлемент более близок к ретротранспозонам моллюсков, а не к ретровирусам позвоночных. Сайты интеграции *Steamer* в гемоцитах больных и здоровых моллюсков различались. Генотипы неопластических гемоцитов разных двустворчатых моллюсков были сходными у многих видов, а в одних и тех же географических

популяциях – практически идентичными (Arriagada et al., 2014; Metzger et al., 2015).

В морской среде раковые клетки, вероятно, передаются многим видам и много раз, среди них, например, такие виды, как *M. arenaria*, *M. trossulus*, *C. edule* и *Polititapes aureus* (см.: Metzger et al., 2016). Исследователи во главе с Мишелем Metzгером на основании единообразного распределения *Steamer* по геномам злокачественных клеток двустворчатых моллюсков предложили гипотезу о трансмиссивном раке (clonally transmissible cancer, CTC) (Metzger et al., 2015, 2018). Была выявлена неожиданная способность гемоцитов моллюсков с CTC пересекать таксономические границы (Metzger et al., 2016): геном раковых клеток *P. aureus* очень сходен с геномом клеток *Venerupis corrugata* – двустворчатого моллюска из другого рода, но обитающего внутри грунта в этом же географическом районе. Однако злокачественную лейкемию гемоцитов *V. corrugata* до сих пор не наблюдали, несмотря на общность местообитания этого вида с *P. aureus*. Вероятно, моллюску *V. corrugata* удалось приобрести резистентность к данному заболеванию (Metzger et al., 2016).

#### Горизонтальный перенос генетического материала

В норме эукариоты получают генетический материал от родителей, но иногда может произойти его передача из неродственных организмов через горизонтальный перенос. Горизонтальный генетический обмен очень широко распространен у одноклеточных (прокариот) и гораздо реже встречается у многоклеточных животных (Male et al., 2006). Существует множество барьеров для передачи чужеродного материала, но известны многочисленные примеры горизонтального переноса генов от одного организма к другому (Doolittle, 1999; Bulgakov et al., 2006; Wallau et al., 2012; Ivancevic et al., 2013; Walsh et al., 2013; Dotto et al., 2015). Частота переносов увеличивается у близкородственных видов и у видов с близкими ареалами (Paynter et al., 2017). Для горизонтального переноса генов не нужна долговременная физическая ассоциация между видами, но физический контакт увеличивает его вероятность, хотя это довольно редкое событие (Male et al., 2006). Данные геномики позволяют утверждать, что в ходе эволюции происходили массивные генные переносы как внутри царств, так и между ними (Doolittle, 1999).

Рак в отдельных особях проявляется как результат онкогенных изменений внутри клеток. В большинстве случаев передаче опухоли между организмами препятствует иммунитет. Тем не менее, достоверно известны три случая заразного рака между особями: трансмиссивная венерическая опухоль собак (Murgia et al., 2006; Rebbeck et al.,

2009), лицевая опухоль тасманийского дьявола (Pearse, Swift, 2006) и злокачественная лейкемия двустворчатых моллюсков (Metzger et al., 2015, 2016; Muttray, Vassilenko, 2018; Yonemitsu et al., 2019). Трансмиссивная венерическая опухоль собак появилась очень давно — от 10 до 12 тыс. лет назад. В клетках этой опухоли наблюдается пониженная экспрессия генов, связанных с презентацией антигенов и апоптозом (Murgia et al., 2006). Лицевая опухоль тасманийского дьявола, выявленная в последнее десятилетие XX века, передается при укусах животных. В 65% случаев эта опухоль метастазирует (Metzger et al., 2016). Ее трансмиссивный характер стал очевиден после полного секвенирования геномов клеток двух разных опухолей и обнаружения уникальных хромосомных перестроек во всех опухолевых клетках (Kreiss et al., 2010). Результаты генетического анализа нескольких видов мидий показали генетический химеризм некоторых особей. Не исключено, что клетки с СТС тихоокеанской мидии *M. trossulus* проникли в европейские популяции *M. edulis* (Riquet et al., 2017) благодаря клину аллельных частот в *M. edulis* (Gosling, 1992) или несбалансированной амплификации аллелей. Сейчас лейкемия-подобный рак найден в популяциях близких видов мидий в обоих полушариях (Yonemitsu et al., 2019). Важно понять механизмы, способствующие раковым клеткам вырваться на свободу и “обмануть” иммунную систему нового хозяина. Как правило, передача чужеродных клеток может произойти лишь при нарушении целостности физических и иммунных барьеров организма, например, при пересадке органов у человека, когда иммунная система реципиента искусственно угнетается; однако даже при этом передачи опухоли у человека не обнаружено (Male et al., 2006).

Ретротранспозон, близкий к *Steamer*-подобным элементам (*Steamer*-like elements, SLEs), был найден в коллекциях *Bivalvia* Американского музея естественной истории (Нью-Йорк, США). С помощью метода ПЦР с использованием высокоспецифичных праймеров было установлено, что этот ретротранспозон помимо *M. arenaria* встречается у двустворчатых моллюсков *Ensis directus* и *Macoma balthica* из Северного моря — мелководного шельфового моря Атлантического океана в Европе. У близких родственников этих видов *Mya truncata* и *Siliqua patula*, обитающих вдоль западного тихоокеанского побережья, SLEs не удалось идентифицировать (Paynter et al., 2017). Отрицательный результат еще не означает, что данный элемент отсутствует: из-за точечных мутаций ДНК в районах посадки праймеров результаты амплификации могут быть негативными.

Филогенетическое дерево SLEs у 19 видов двустворчатых моллюсков (из 37 анализируемых) заметно не совпадает с их филогенией, что может указывать на частые и множественные пересече-

ния таксономических границ этими элементами в процессе эволюции (Metzger et al., 2018). Используя ПЦР, можно установить недавнее пересечение (обнаружено не во всех индивидуумах и еще не закреплено во всех особях данного вида) таксономических границ ретротранспозонами в геномах моллюсков из Балтийского моря и Атлантики. Однако небольшой размер этих ретротранспозонов (177 пар нуклеотидов) осложняет точный анализ времени вставки. Обнаружение SLEs как в тихоокеанских, так и в европейских популяциях *M. arenaria* показывает, что первая вставка произошла примерно 800 тыс. лет назад, при этом известно, что вид *M. arenaria* появился в Европе примерно 1300 тыс. лет назад (Strasser, 1998). По-видимому, моллюски имеют более высокую скорость митохондриальных мутаций по сравнению с другими организмами, поэтому генетическая дистанция митохондриальных генов (*COI*) между двумя видами двустворчатых моллюсков (мидий и мидий) больше, чем дистанция между ними и позвоночными и даже между ними и губками (Metzger et al., 2018).

Анализ последовательностей в базах данных NCBI (National Center for Biotechnology Information) показал, что SLEs присутствуют в гидробионтах, далеких от моллюсков: Chordata, рыбы (данио, цихлиды, лососи), морские ежи, Nemichordata (желудевые черви), Priapulida (морские черви приапулиды), Cnidaria (акропоровые кораллы) и Porifera (губки). *Steamer*-подобные ретротранспозоны, как и ретровирусы, могут перемещаться между организмами в результате горизонтального переноса и, вероятно, являются активными элементами (Metzger et al., 2018). У морских беспозвоночных обнаружено максимальное разнообразие ретротранспозонов (Пузаков и др., 2017). Не исключено, что перемещение SLEs запускается такими факторами внешней среды, как перенаселенность, загрязнение и изменение температуры воды. У человека значительная часть генома (до половины) приходится на ретроэлементы, которые принадлежат к семейству Mag, как и многие другие ретротранспозоны (Gonzalez, Lessios, 1999).

Вероятно, в результате горизонтального переноса в геном могут переходить не только ретротранспозоны, но и ДНК транспозоны, как это происходило в процессе эволюции насекомых (Pescoud et al., 2017), у которых для 175 видов из 195 установлен горизонтальный перенос хотя бы одного генетического элемента в течение последних 10 млн лет. Транспозоны присутствуют в геномах всех эукариот и играют важную роль в эволюции, создавая генетическое разнообразие за счет своей мобильности (Kidwell, Lisch, 2001). Важно классифицировать все мобильно перемещающиеся элементы и вирусы, циркулирующие в живых организмах, чтобы понять их роль не

только как патогенных агентов, но и как векторов эволюции эукариотического генома (Doolittle, 1999; Llorens et al., 2009; Thomas-Bulle et al., 2018).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак существовал миллионы лет задолго до появления современного индустриального общества. Различные опухоли могут возникать почти у всех видов животных. Изучение природы лейкемия-подобного рака у двустворчатых моллюсков имеет небольшую историю, и многие вопросы остаются открытыми, однако такие работы могут пролить свет на эволюцию общих механизмов онкогенеза. Перспективным направлением дальнейших исследований этой проблемы является комплексный сравнительный подход, включающий геномный, транскриптомный и протеомный анализ с использованием экспериментов *in vitro* и *in vivo*.

### 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 финансовой поддержке гранта РФФ № 19-74-20024.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Пузаков М.В., Пузакова Л.В., Захаров И.К. Разнообразие и распространение мобильных генетических элементов в геномах морских беспозвоночных // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2017. Т. 21. № 2. С. 269–283.
- Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир. 2000. 592 с.
- Ушева Л.Н. Гистопатология аддуктора у гребешка *Mizuhopecten yessoensis* из загрязненных районов залива Петра Великого Японского моря // Биол. моря. 1999. Т. 25. № 5. С. 383–388.
- Ушева Л.Н., Фролова Л.Т. Опухоль соединительной ткани у мидии *Mytilus trossulus* из загрязненного района зал. Находка Японского моря // Онтогенез. 2000. Т. 31. № 1. С. 63–70.
- Aguilera F. Neoplasia in mollusks: What does it tell us about cancer in humans? – A review // J. Genet. Disord. 2017. V. 1. № 1. P. 7–16.
- Aktipis C.A., Boddy A.M., Jansen G. et al. Cancer across the tree of life: cooperation and cheating in multicellularity // Philos. Trans. R. Soc., B. 2015. V. 370. P. 20140219. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0219>
- Appeldoorn R.S., Brown C.W., Brown R.S. et al. Field and laboratory studies to define the occurrence of neoplasia in the soft shell clam, *Mya arenaria* // API Publication. № 4345. Washington, DC: Am. Pet. Inst. 1984. P. 201.
- Arriagada G., Metzger M.J., Muttray A.F. et al. Activation of transcription and retrotransposition of a novel retroelement, *Steamer*, in neoplastic hemocytes of the mollusk *Mya arenaria* // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2014. V. 111. № 39. P. 14175–14180.
- Bachère E., Hervio D., Mialhe E., Grizel H. Evidence of neutralizing activity against T3 coliphage in oyster *Crassostrea gigas* hemolymph // Dev. Comp. Immunol. 1990. V. 14. P. 261–268.
- Barber B.J. Neoplastic diseases of commercially important marine bivalves // Aquat. Living Resour. 2004. V. 17. P. 449–466.
- Béchemin C., Soletchnik P., Polsenaere P. et al. Episodes de mortalité massive de moules bleues observés en 2014 dans les Pertuis charentais // Bull. Épidémiol., Santé Anim. Aliment. 2015. V. 67. P. 6–9.
- Beckmann N., Morse M.P., Moore C.M. Comparative study of phagocytosis in normal and diseased hemocytes of the bivalve mollusk *Mya arenaria* // J. Invertebr. Pathol. 1992. V. 59. P. 124–132.
- Benabdelmouna A., Ledu C. The mass mortality of blue mussels (*Mytilus* spp.) from the Atlantic coast of France is associated with heavy genomic abnormalities as evidenced by flow cytometry // J. Invertebr. Pathol. 2016. V. 138. P. 30–38.
- Benabdelmouna A., Saunier A., Ledu C. et al. Genomic abnormalities affecting mussels (*Mytilus edulis-galloprouvencialis*) in France are related to ongoing neoplastic processes, evidenced by dual flow cytometry and cell monolayer analyses // J. Invertebr. Pathol. 2018. V. 157. P. 45–52.
- Brousseau D.J. Seasonal aspects of sarcomatous neoplasia in *Mya arenaria* (soft-shell clam) from Long Island Sound // J. Invertebr. Pathol. 1987. V. 50. P. 269–276.
- Bulgakov V.P., Kiselev K.V., Yakovlev K.V. et al. Agrobacterium-mediated transformation of sea urchin embryos // Biotechnol. J. 2006. V. 1. № 4. P. 454–461.
- Campalans M., Gonzales M., Rojas P. Neoplasia in *Mytilus chilensis* cultivated in Chiloe Island (Chile) // Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 1998. V. 18. P. 93–95.
- Carballal M.J., Barber B.J., Iglesias D., Villalba A. Neoplastic diseases of marine bivalves // J. Invertebr. Pathol. 2015. V. 131. P. 83–106.
- Carella F., De Vico G., Landini G. Nuclear morphometry and ploidy of normal and neoplastic haemocytes in mussels // PloS One. 2017. V. 12 (3). P. e0173219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173219>
- Carella F., Figueras A., Novoa B., De Vico G. Cytomorphology and PCNA expression pattern in bivalves *Mytilus galloprovincialis* and *Cerastoderma edule* with haemic neoplasia // Dis. Aquat. Org. 2013. V. 105. P. 81–87.
- Ciocan C., Sunila I. Disseminated neoplasia in blue mussels, *Mytilus galloprovincialis*, from the Black Sea, Romania // Mar. Pollut. Bull. 2005. V. 50. P. 1335–1339.
- Ciocan C.M., Moore J.D., Rotchell J.M. The role of *ras* gene in the development of haemic neoplasia in *Mytilus trossulus* // Mar. Environ. Res. 2006. V. 62. Suppl. 1. P. S147–S150.

- Ciocan C.M., Rotchell J.M. Conservation of cancer genes in the marine invertebrate *Mytilus edulis* // Environ. Sci. Technol. 2005. V. 39. P. 3029–3033.
- Collins C. Studies on a Neoplasm of the Cockle, *Cerastoderma edule* (Linnaeus). PhD Thesis Dissertation, Cork, Ireland: National University of Ireland. 1998. P. 155.
- Collins C.M., Mulcahy M.F. Cell-free transmission of a haemic neoplasm in the cockle *Cerastoderma edule* // Dis. Aquat. Org. 2003. V. 54. P. 61–67.
- Da Silva P.M., Soudant P., Carballal M.J. et al. Flow cytometric DNA content analysis of neoplastic cells in haemolymph of the cockle *Cerastoderma edule* // Dis. Aquat. Org. 2005. V. 67. P. 133–139.
- Delaporte M., Synard S., Pariseau J. et al. Assessment of haemic neoplasia in different soft shell clam *Mya arenaria* populations from eastern Canada by flow cytometry // J. Invertebr. Pathol. 2008. V. 98. P. 190–197.
- Díaz S., Villalba A., Insua A. et al. Disseminated neoplasia causes changes in ploidy and apoptosis frequency in cockles *Cerastoderma edule* // J. Invertebr. Pathol. 2013. V. 113. P. 214–219.
- Doolittle W.F. Phylogenetic classification and the universal tree // Science. 1999. V. 284. № 5423. P. 2124–2128.
- Dotto B.R., Carvalho E.L., Silva A.F. et al. HTT-DB: Horizontally transferred transposable elements database // Bioinformatics. 2015. V. 31. P. 2915–2917.
- Elston R.A., Drum A.S., Allen S.K. Jr. Progressive development of circulating polyploid cells in *Mytilus* with hemic neoplasia // Dis. Aquat. Org. 1990. V. 8. P. 51–59.
- Elston R.A., Kent M.L., Drum A.S. Transmission of hemic neoplasia in the bay mussel, *Mytilus edulis*, using whole cells and cell homogenate // Dev. Comp. Immunol. 1988. V. 12. P. 719–727.
- Elston R.A., Moore J.D., Brooks K. Disseminated neoplasia of bivalve mollusks // Rev. Aquat. Sci. 1992. V. 6. P. 405–466.
- Facchini L., Losito I., Cataldi T.R.I., Palmisano F. Seasonal variations in the profile of main phospholipids in *Mytilus galloprovincialis* mussels: A study by hydrophilic interaction liquid chromatography-electrospray ionization Fourier transform mass spectrometry // J. Mass Spectrom. 2018. V. 53. P. 1–20.
- Farabegoli F., Blanco L., Rodríguez L.P. et al. Phycotoxins in marine shellfish: Origin, occurrence and effects on humans // Mar. Drugs. 2018. V. 16. № 6. P. 188–214.
- Farley C.A. Probable neoplastic disease of the hematopoietic system in oysters, *Crassostrea virginica* and *Crassostrea gigas* // Neoplasms and Related Disorders of Invertebrate and Lower Vertebrate Animals. Dawe C.J., Harshbarger J.C. (eds.). // Natl. Cancer Inst. Monogr. 31, Washington, DC: Gov. Printing Office. 1969a. V. 31. P. 541–555.
- Farley C.A. Sarcomatoid proliferative disease in a wild population of blue mussels (*Mytilus edulis*) // JNCI, J. Natl. Cancer. Inst. 1969b. V. 43. № 2. P. 509–516.
- Farley C.A., Otto S.V., Reinisch C.L. New occurrence of epizootic sarcoma in Chesapeake Bay soft shell clams, *Mya arenaria* // Fish. Bull. 1986. V. 84. № 4. P. 851–857.
- Fernández Robledo J.A., Yadavalli R., Allam B. et al. From the raw bar to the bench: Bivalves as models for human health // Dev. Comp. Immunol. 2019. V. 92. P. 260–282.
- Galimany E., Sunila I. Several cases of disseminated neoplasia in mussels *Mytilus edulis* (L.) in Western Long Island Sound // J. Shellfish Res. 2008. V. 27. P. 1201–1207.
- Gonzalez P., Lessios H.A. Evolution of sea urchin retroviral-like (SURL) elements: Evidence from 40 echinoid species // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. P. 938–952.
- Gorbushin A.M., Borisova E.A. Lectin-like molecules in transcriptome of *Littorina littorea* hemocytes // Dev. Comp. Immunol. 2015. V. 48. P. 210–220.
- Gorbushin A.M., Iakovleva N.V. A new gene family of single fibrinogen domain lectins in *Mytilus* // Fish Shellfish Immunol. 2011. V. 30. P. 434–438.
- Gosling E. Genetics of *Mytilus* // The Mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture. Gosling E. (ed.) Developments in Aquaculture and Fisheries Science. V. 25. Amsterdam: Elsevier. 1992. P. 309–382.
- House M.L., Kim C.H., Reno P.W. Soft shell clams *Mya arenaria* with disseminated neoplasia demonstrate reverse transcriptase activity // Dis. Aquat. Org. 1998. V. 34. P. 187–192.
- Ivancevic A.M., Walsh A.M., Kortschak R.D., Adelson D.L. Jumping the fine LINE between species: Horizontal transfer of transposable elements in animals catalyses genome evolution // BioEssays. 2013. V. 35. P. 1071–1082.
- Kelley M.L., Winge P., Heaney J.D. et al. Expression of homologues for p53 and p73 in the softshell clam (*Mya arenaria*), a naturally-occurring model for human cancer // Oncogene. 2001. V. 20. P. 748–758.
- Kemp J.R., Longworth M.S. Crossing the LINE toward genomic instability: LINE-1 retrotransposition in cancer // Front. Chem. 2015. V. 3. P. 68.
- Khudoley V.V., Syrenko O.A. Tumors in mollusks // Usp. Sovrem. Biol. 1977. V. 84. P. 128–137.
- Kidwell M.G., Lisch D.R. Perspective: Transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution // Evolution. 2001. V. 55. P. 1–24.
- Kreiss A., Tovar C., Obendorf D.L. et al. A murine xenograft model for a transmissible cancer in Tasmanian devils // Vet. Pathol. 2010. V. 48. № 2. P. 475–481.
- Leavitt D.F., McDowell Capuzzo J., Smolowitz R.M. et al. Hematopoietic neoplasia in *Mya arenaria*: Prevalence and indices of physiological condition // Mar. Biol. 1990. V. 105. P. 313–321.
- Le Grand F., Kraffe E., de Montaudouin X. et al. Prevalence, intensity, and aneuploidy patterns of disseminated neoplasia in cockles (*Cerastoderma edule*) from Arcachon Bay: Seasonal variation and position in sediment // J. Invertebr. Pathol. 2010. V. 104. P. 110–118.
- Llorens C., Muñoz-Pomer A., Bernad L. et al. Network dynamics of eukaryotic LTR retroelements beyond phylogenetic trees // Biol. Direct. 2009. V. 4. P. 41.
- López C., Carballal M.J., Azevedo C., Villalba A. Differential phagocytic ability of the circulating haemocyte types of the carpet shell clam *Ruditapes decussatus* (Mollusca: Bivalvia) // Dis. Aquat. Org. 1997. V. 30. P. 209–215.
- Male D., Brostoff J., Roth D.B., Roitt I. Immunology // 7th Ed. Philadelphia, Penn.: Mosby/Elsevier. 2006. 563 p.
- McLaughlin S.M., Farley C.A., Hetrick F.M. Transmission studies of sarcoma in the soft-shell clam, *Mya arenaria* // In Vivo. 1992. V. 6. P. 367–370.
- Medina D.J., Paquette G.E., Sadasiv E.C., Chang P.W. Isolation of infectious particles having reverse transcriptase activity and producing hematopoietic neoplasia in *Mya arenaria* // J. Shellfish Res. 1993. V. 12. P. 112–113.

- Metzger M.J., Reinisch C., Sherry J., Goff S.P. Horizontal transmission of clonal cancer cells causes leukemia in soft-shell clams // *Cell*. 2015. V. 161. P. 255–263.
- Metzger M.J., Villalba A., Carballal M.J. et al. Widespread transmission of independent cancer lineages within multiple bivalve species // *Nature*. 2016. V. 534. P. 705–709.
- Metzger M.J., Paynter A.N., Siddall M.E., Goff S.P. Horizontal transfer of retrotransposons between bivalves and other aquatic species of multiple phyla // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2018. V. 115. № 18. P. E4227–E4235.
- Mix M.C. Cancerous diseases in aquatic animals and their association with environmental pollutants: A critical literature review // *Mar. Environ. Res.* 1986. V. 20. P. 1–141.
- Moore J.D., Elston R.A., Drum A.S., Wilkinson M.T. Alternate pathogenesis of systemic neoplasia in the bivalve mollusk *Mytilus* // *J. Invertebr. Pathol.* 1991. V. 58. P. 231–243.
- Murgia C., Pritchard J.K., Kim S.Y. et al. Clonal origin and evolution of a transmissible cancer // *Cell*. 2006. V. 126. P. 477–487.
- Muttray A.F., Cox R.L., St-Jean S. et al. Identification and phylogenetic comparison of p53 in two distinct mussel species (*Mytilus*) // *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* 2005. V. 140. P. 237–250.
- Muttray A., Vassilenko E. Mollusca: Disseminated neoplasia in bivalves and the p53 protein family // *Advances in Comparative Immunology*. Cooper E. (ed.) Cham, Germany: Springer. 2018. P. 953–979. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-76768-0\\_28](https://doi.org/10.1007/978-3-319-76768-0_28)
- Nakamura T.M., Cech T.R. Reversing time: Origin of telomerase // *Cell*. 1998. V. 92. № 5. P. 587–590.
- Newton A.L., Lewbart G.A. Invertebrate oncology: Diseases, diagnostics, and treatment // *Vet. Clin. North Am.: Exot. Anim. Pract.* 2017. V. 20. P. 1–19.
- Odintsova N.A., Usheva L.N., Yakovlev K.V., Kiselev K.V. Naturally occurring and artificially induced tumor-like formations in marine invertebrates: A search for permanent cell lines // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2011. V. 407. P. 241–249.
- Oprandy J.J., Chang P.W., Pronovost A.D. et al. Isolation of a viral agent causing hematopoietic neoplasia in the soft-shell clam, *Mya arenaria* // *J. Invertebr. Pathol.* 1981. V. 38. P. 45–51.
- Panaud O. Horizontal transfers of transposable elements in eukaryotes: The flying genes // *C. R. Biol.* 2016. V. 339. P. 296–299.
- Paynter A.N., Metzger M.J., Sessa J.A., Siddall M.E. Evidence of horizontal transmission of the cancer-associated *Steamer* retrotransposon among ecological cohort bivalve species // *Dis. Aquat. Org.* 2017. V. 124. P. 165–168.
- Pearse A.-M., Swift K. Allograft theory: Transmission of devil facial-tumour disease // *Nature*. 2006. V. 439. P. 549.
- Peccoud J., Loiseau V., Cordaux R., Gilbert C. Massive horizontal transfer of transposable elements in insects // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2017. V. 114. № 18. P. 4721–4726.
- Pérez-García C., Guerra-Varela J., Morán P., Pasantés J.J. Chromosomal mapping of rRNA genes, core histone genes and telomeric sequences in *Brachidontes puniceus* and *Brachidontes rodriguezii* (Bivalvia, Mytilidae) // *BMC Genet.* 2010. V. 11. P. 109.
- Peters E.C. Recent investigations on the disseminated sarcomas of marine bivalve molluscs // *Disease Processes in Marine Bivalve Molluscs*. W.S. Fisher (ed.) American Fisheries Society Special Publication. Bethesda, Md.: Am. Fish. Soc. 1988. V. 18. P. 74–92.
- Plohl M., Prats E., Martínez-Lage A. et al. Telomeric localization of the vertebrate-type hexamer repeat, (TTAGGG)<sub>n</sub>, in the wedgeshell clam *Donax trunculus* and other marine invertebrate genomes // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 19839–19846.
- Pörtner H.-O. Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: a physiologist's view // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 2008. V. 373. P. 203–217.
- Rasmussen L.P.D., Hage E., Karlog O. An electron microscope study of the circulating leukocytes of the marine mussel, *Mytilus edulis* // *J. Invertebr. Pathol.* 1985. V. 45. P. 158–167.
- Rebeck C.A., Thomas R., Breen M. et al. Origins and evolution of a transmissible cancer // *Evolution*. 2009. V. 63. P. 2340–2349.
- Renault T., Novoa B. Viruses infecting bivalve molluscs // *Aquat. Living Resour.* 2004. V. 17. P. 397–409.
- Reno P.W., House M., Illingworth A. Flow cytometric and chromosome analysis of softshell clams, *Mya arenaria*, with disseminated neoplasia // *J. Invertebr. Pathol.* 1994. V. 64. P. 163–172.
- Riquet F., Simon A., Bierné N. Weird genotypes? Don't discard them, transmissible cancer could be an explanation // *Evol. Appl.* 2017. V. 10. № 2. P. 140–145.
- Romalde J.L., Villarino M.L., Beaz R. et al. Evidence of retroviral etiology for disseminated neoplasia in cockles (*Cerastoderma edule*) // *J. Invertebr. Pathol.* 2007. V. 94. P. 95–101.
- Schlieper C. Genetic and nongenetic cellular resistance adaptation in marine invertebrates // *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 1966. V. 14. P. 482–502.
- Siah A., Delaporte M., Pariseau J. et al. Patterns of p53, p73 and mortalin gene expression associated with haemocyte polyploidy in the soft-shell clam, *Mya arenaria* // *J. Invertebr. Pathol.* 2008. V. 98. P. 148–152.
- Smolarz K., Thiriot-Quiévreux C., Wołowicz M. Recent trends in the prevalence of neoplasia in the Baltic clam *Macoma balthica* (L.) from the Gulf of Gdańsk (Baltic Sea) // *Oceanologia*. 2005. V. 47. № 1. P. 61–74.
- Song L., Wang L., Qiu L., Zhang H. Bivalve immunity // *Invertebrate Immunity*. Söderhäll K. (Ed.) // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2010. Berlin: Springer. V. 708. Ch. 3. P. 44–65.
- Sparks A.K. Review of tumors and tumor-like conditions in protozoa, coelenterata, plathyhelminthes, annelida, sipunculida, and arthropoda, excluding insects // *Neoplasms and Related Disorders of Invertebrates and Lower Vertebrate Animals*. C.J. Dawe and J.C. Harshbarger (eds.) National Cancer Institute Monograph, Bethesda, Md.: Natl. Cancer. Inst. 1969. V. 31. P. 671–682.
- Strasser M. *Mya arenaria* – an ancient invader of the North Sea coast // *Helgol. Meeresunters.* 1998. V. 52. P. 309–324.
- Sunila I. Respiration of sarcoma cells from the soft-shell clam *Mya arenaria* L. under various conditions // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1991. V. 150. № 1. P. 19–29.
- Sunila I. Serum–cell interactions in transmission of sarcoma in the soft shell clam *Mya arenaria* // *Comp. Bio-*

- chem. Physiol., Part A: Mol. Integr. Physiol. 1992. V. 102. № 4. P. 727–730.
- Taketa D.A., De Tomaso A.W. Botryllus schlosseri* allorecognition: Tackling the enigma // *Dev. Comp. Immunol.* 2015. V. 48. P. 254–265.
- Thomas-Bulle C., Piednoël M., Donnart T. et al.* Mollusc genomes reveal variability in patterns of LTR-retrotransposons dynamics // *BMC Genomics.* 2018. V. 19. P. 821.
- Tomanek L.* Environmental Proteomics of the Mussel *Mytilus*: implications for tolerance to stress and change in limits of biogeographic ranges in response to climate change // *Integr. Comp. Biol.* 2012. V. 52. P. 648–664.
- Twomey E., Mulcahy M.F.* Transmission of a sarcoma in the cockle *Cerastoderma edule* (Bivalvia: Mollusca) using cell transplants // *Dev. Comp. Immunol.* 1988. V. 12. P. 195–200.
- Usheva L.N., Odintsova N.A.* Mesenchymal tumor in the mantle of the mussel *Modiolus difficilis* from Amursky Bay in the Sea of Japan // *Dis. Aquat. Org.* 1997. V. 29. № 2. P. 121–126.
- Usheva L.N., Odintsova N.A.* Tumor-like lesions in the mantle of the mussel *Modiolus difficilis* from the Sea of Japan // *Dis. Aquat. Org.* 1999. V. 35. № 1. P. 63–68.
- Vassilenko E., Baldwin S.A.* Using flow cytometry to detect haemic neoplasia in mussels (*Mytilus trossulus*) from the Pacific coast of Southern British Columbia, Canada // *J. Invertebr. Pathol.* 2014. V. 117. P. 68–72.
- Vassilenko E.I., Muttray A.F., Schulte P.M., Baldwin S.A.* Variations in p53-like cDNA sequence are correlated with mussel haemic neoplasia: A potential molecular-level tool for biomonitoring // *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2010. V. 701. P. 145–152.
- Vasta G.R., Feng C., Bianchet M.A. et al.* Structural, functional, and evolutionary aspects of galectins in aquatic mollusks: From a sweet tooth to the Trojan horse // *Fish Shellfish Immunol.* 2015. V. 46. P. 94–106.
- Villalba A., Carballal M.J., López C.* Disseminated neoplasia and large foci indicating heavy haemocytic infiltration in cockles *Cerastoderma edule* from Galicia (NW Spain) // *Dis. Aquat. Org.* 2001. V. 46. P. 213–216.
- Villalba A., Peters E.C., Lopez M.C., Carballal M.J.* Disseminated sarcoma in the clam *Ruditapes decussatus* in Galicia (NW Spain) // *J. Invertebr. Pathol.* 1995. V. 65. P. 76–78.
- Wallau G.L., Ortiz M.F., Loreto E.L.S.* Horizontal transposon transfer in Eukarya: Detection, bias, and perspectives // *Genome Biol. Evol.* 2012. V. 4. P. 801–811.
- Walker C., Böttger S., Low B.* Mortalin-based cytoplasmic sequestration of p53 in a nonmammalian cancer model // *Am. J. Pathol.* 2006. V. 168. P. 1526–1530.
- Walker C., Böttger S.A., Mulhern J. et al.* Mass culture and characterization of tumor cells from a naturally occurring invertebrate cancer model: Applications for human and animal disease and environmental health // *Biol. Bull.* 2009. V. 216. № 1. P. 23–39.
- Walker C.W., Van Beneden R.J., Muttray A.F. et al.* p53 Superfamily proteins in marine bivalve cancer and stress biology // *Adv. Mar. Biol.* 2011. V. 59. P. 1–36.
- Walsh A.M., Kortschak R.D., Gardner M.G. et al.* Widespread horizontal transfer of retrotransposons // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2013. V. 110. P. 1012–1016.
- Weinberg J.R., Leavitt D.F., Lancaster B.A., Capuzzo J.M.* Experimental field studies with *Mya arenaria* (Bivalvia) on the induction and effect of hematopoietic neoplasia // *J. Invertebr. Pathol.* 1997. V. 69. P. 183–194.
- Yonemitsu M.A., Giersch R.M., Polo-Prieto M. et al.* A single clonal lineage of transmissible cancer identified in two marine mussel species in South America and Europe // *eLife.* 2019. V. 8. P. e47788. <https://doi.org/10.7554/eLife.47788>
- Zdobnov E.M., Tegenfeldt F., Kuznetsov D. et al.* OrthoDB v9.1: Cataloging evolutionary and functional annotations for animal, fungal, plant, archaeal, bacterial and viral orthologs // *Nucleic Acids Res.* 2017. V. 45. P. D744–D749.
- Zizzo N., Tiscar P.G., Troncone A.* Neoplasia in mitili (*Mytilus galloprovincialis*) // *Boll. Soc. Ital. Patol. Ittica.* 1991. V. 7. P. 19–21.

## Leukemia-Like Cancer in Bivalves

N. A. Odintsova

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

The present review summarizes information available in published literature on the distribution of disseminated neoplasia, or malignant leukemia (leukemia-like cancer), in populations of several bivalve species. This disease of marine Bivalvia has been known since long ago, but currently (with the development of molecular-genetic methods) its etiology is associated with retrotransposons which can be transmitted by horizontal gene transfer between different bivalve species. The transmission of retrotransposons, as well as neoplastic hemocytes or their clusters, is possible via seawater. Of particular interest is the fact that the immune system of recipient individual does not reject the neoplastic hemocytes. In some regions of the world, leukemia-like cancer causes serious economic damage to bivalve aquacultures. The development of methods for diagnosing cancer in mollusks opens up broad prospects for their use in marine biology and can also be helpful in studying human malignant tumors.

*Keywords:* bivalves, hemocytes, horizontal transfer, retrotransposons, malignant leukemia

УДК 597.553.2.575.8

## ЭКОЛОГО-ТЕМПОРАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ, ЕДИНИЦЫ ЗАПАСА И СОХРАНЕНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ АНАДРОМНЫХ РЫБ

© 2020 г. В. Н. Иванков<sup>1, \*</sup>, Е. В. Иванкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690091, Россия

\*e-mail: ivankov-bio@mail.ru

Поступила в редакцию 25.07.2019 г.

После доработки 29.10.2019 г.

Принята к публикации 28.11.2019 г.

Проанализирована экологическая, генетическая и темпоральная внутривидовая дифференциация популяций анадромных лососевых рыб рода *Oncorhynchus*. Показано, что учет популяционной организации рыб при проведении промысла способствует сохранению структуры эксплуатируемых стад и позволяет поддерживать их численность на оптимально высоком уровне. Промысловый запас анадромных рыб в том или ином районе размножения представлен одним или несколькими локальными стадами. Единицами запаса являются популяции рыб, составляющие локальное стадо.

**Ключевые слова:** анадромные рыбы, тихоокеанские лососи, структура вида, экологические подвиды, локально-темпоральные популяции, единицы запаса

**DOI:** 10.31857/S0134347520020059

Изучение внутривидовой организации и популяционного разнообразия гидробионтов, в частности рыб, в настоящее время становится все более актуальным. Это обусловлено необходимостью разработки способов сохранения разнообразия их внутривидовой структуры, а также поддержанием численности популяций на оптимально высоком уровне. В первую очередь данное касается видов, у которых выявлена не только географическая, но и ярко выраженная экологическая и темпоральная внутривидовая дифференциация.

Эколого-морфологический и генетический анализ популяционной организации рыб, в том числе тихоокеанских лососей, показал, что значительные различия, как правило, наблюдаются у лососей локальных стад, наиболее удаленных друг от друга. Однако такая связь прослеживается далеко не всегда. Часто у рыб из географически удаленных популяций отмечается большое фенетическое и генетическое сходство. И наоборот, популяции, расположенные сравнительно близко (например, в бассейне крупной реки или в реках, впадающих в один и тот же залив), генетически существенно различаются (Алтухов и др., 1997). Отмечено также, что гетерогенность популяций внутри одного региона может превышать гетерогенность популяций между регионами (Withler, 1985; Varnavskaya et al., 1994). Каковы же причины подобных различий? Очевидно, это связано с тем, что влияние отбора наблюдается не только

при географической, но и при экологической изоляции популяций, которая ярко выражена у анадромных рыб, в частности, у тихоокеанских лососей. Проведенные исследования позволили выявить у них довольно сложную внутривидовую иерархию (рис. 1). У всех видов рода *Oncorhynchus* выделяют две эколого-темпоральные (сезонные) расы: русловую (размножение происходит в реках на участках с хорошо развитым подрусловым потоком) и ключевую (размножение происходит в водоемах в местах выхода грунтовых вод, в ключах). Эти экологические группировки лососей генетически достаточно хорошо различаются, что убедительно показано в результате многолетних исследований рас кеты (Cronin et al., 1993; Салменкова и др., 1994; Wilmot et al., 1994; Winans et al., 1994; Ivankova, 2001; Иванкова, Борисовец, 2002; Животовский и др., 2017), горбуши (Алтухов и др., 1997) и нерки (Wilmot, Burger, 1985; Пильганчук, 2014).

Ранее было высказано мнение (Берг, 1934; Смирнов, 1975), что различия сезонных рас могут приближаться к различиям подвидового ранга. Сравнительный детальный анализ экологических, генетических и морфофизиологических различий этих рас у ряда тихоокеанских лососей показал, что в данном случае мы имеем дело с хорошо выраженными экологическими подвидами (Иванков, Иванкова, 2013, 2017). Отсюда следует, что при сравнении величин межпопуляционной

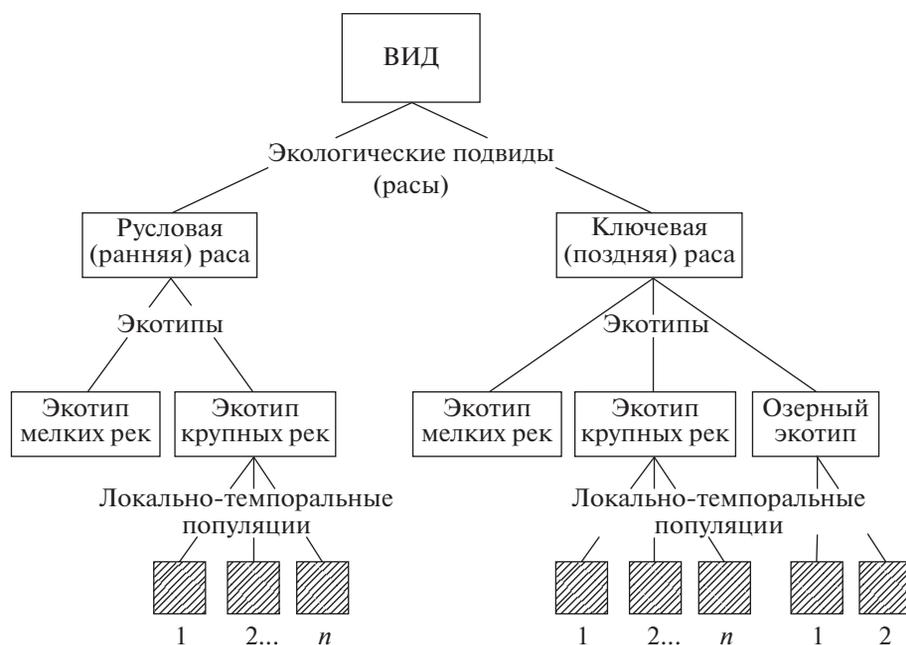


Рис. 1. Внутривидовая эколого-темпоральная дифференциация популяций у кеты и нерки.

географической изменчивости лососей необходимо принимать во внимание и экологическую дивергенцию изучаемых популяций, т.е. анализ межпопуляционных различий следует проводить между популяциями, принадлежащими к той или иной эколого-темпоральной расе (Иванков, Иванкова, 2013). В противном случае трудно объяснить иногда наблюдаемое сходство удаленных друг от друга популяций или большое различие сравнительно близко расположенных популяций (Nei, 1978; Алтухов и др., 1997). Учет эколого-темпоральной дифференциации популяций необходим и при выяснении объема, границ, структуры, иерархической организации видов, а также объема и границ единиц промыслового запаса. В настоящее время за единицу запаса, как правило, принимается локальное стадо рыб (состоящее из ряда популяций) того или иного региона. Очевидно, что в районах, где вид представлен двумя эколого-темпоральными расами, присутствуют два запаса. Подобную ситуацию следует учитывать при хозяйственной деятельности человека — при организации промысла, искусственном разведении и интродукции (Иванков, 1968).

Известно, что минимальной самовоспроизводящейся группировкой вида является локальная популяция. В силу своей частичной или даже полной изоляции она представляет собой элементарную эволюционную единицу. Кроме того, локальная популяция обладает способностью к регуляции своей численности и генетической структуры, образуя элементарную гомеостатическую структуру (Дубинин, 1966; Шмальгаузен, 1968; Ти-

мофеев-Ресовский и др., 1969; Шварц, 1969). Расположенные рядом популяции из-за сходного характера воздействия отбора образуют плеяды сходных популяций, отличных от соседних групп. Однако группа соседних популяций не является единой функциональной системой (Шварц, 1969), т.е. не представляет собой большую популяцию. Плеяды популяций, объединяясь по ряду признаков, в свою очередь, могут образовывать комплексы (локальные стада), отличные от других подобных комплексов популяций. Например, такой комплекс составляют популяции кеты мелких рек Калининка, Ясноморка и Заветинка на юго-западе о-ва Сахалин (Алтухов и др., 1997; Иванкова и др., 2000), популяции кеты рек Барабашевка, Рязановка и Нарва в южном Приморье (Животовский, 2016а), а также популяции горбуши рек юго-восточного Сахалина (Иванков и др., 1996; Иванков, 2011). Подобные локальные стада анадромных рыб в репродуктивный период, как правило, привязаны к разным гидрогеологическим районам с характерным для этих районов химическим составом воды в реках и их притоках (Иванков, 1972, 1993; Ресурсы ..., 1973; Животовский, 2016а, 2016б). Необходимо отметить, что морфофизиологические и генетические различия существуют не только между выделенными локальными стадами, но и внутри них — между локальными популяциями. Следовательно, промысловый запас обеспечивает плеяда соседних популяций (локальное стадо), а единицами запаса являются популяции, входящие в это локальное стадо. Та-

ким образом, единицей промысла является единица запаса — локальная популяция.

В течение достаточно долгого времени у тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* выделяли, как правило, две эколого-темпоральные (сезонные) расы: у кеты и горбуши — летнюю и осеннюю, у нерки в разных районах — весеннюю и летнюю или летнюю и осеннюю. Однако в настоящее время отмечается большое разнообразие в названиях сезонных форм (рас). В частности, у кеты кроме двух рас (летняя и осенняя), обнаруженных Бергом (1934), в последнее время выделяют и другие: весеннюю, летнюю раннюю, летнюю позднюю, раннюю и позднюю (Николаева, Овчинников, 1988; Волобуев и др., 1992, 2005; Заварина, 1995; Кузищин и др., 2010). Гриценко с соавторами (1987) выделили еще четыре сезонные расы кеты: летнюю амурскую, летнюю камчатскую, осеннюю амурскую и осеннюю камчатскую. Всего с учетом последних насчитывается более 10 названий сезонных рас этого лосося. Подобные темпоральные группировки недавно были выделены не только у кеты, но и у других видов тихоокеанских лососей. В р. Большая (Камчатка) у двух видов (чавыча и горбуша) были выделены три расы: у чавычи — весенняя, ранняя летняя и поздняя летняя; у горбуши — ранняя летняя, летняя и поздняя летняя (Запорожец и др., 2017). Отметим, что сезонные расы различаются не только временем захода рыб в реки на нерест и сроками нереста, но и экологией (местами нереста и термическим режимом в период эмбрионально-личиночного развития).

Довольно часто в бассейнах крупных рек наряду с эколого-темпоральными расами встречаются внутрисезонные группировки (локально-темпоральные популяции). Такие популяции обнаружены, например, у кеты в бассейнах рек Амур, Анадырь, Тугур и Камчатка, у горбуши в ряде рек североохотского побережья, а также у сима в реках южного Приморья (Ловецкая, 1948; Световидова, 1961; Бирман, 1977; Иванков и др., 1984; Путивкин, 1999; Марченко, 2004; Иванков и др., 2008; Кульбачный, Иванков, 2011). Группы (плеяды) популяций крупных рек часто представляют собой локальные стада, состоящие из ряда популяций, размножающихся в притоках второго порядка. Они выявляются при анализе колебаний численности и соотношения полов рыб в период их нерестового хода по основному руслу реки. Игнорирование (или отсутствие) сведений об иерархии внутривидовой организации видов при промысле и искусственном разведении может приводить (и, как правило, приводит) к обеднению морфологического, экологофизиологического и генетического разнообразия популяций рыб в разных регионах (Иванков, Иванкова, 2017). Прежде всего это сказывается на расовом составе вида. Наиболее интенсивному прессу промысла лосося

подвергаются в начале нерестовой миграции в реки, когда на нерест идут рыбы ранней (руслевой) расы.

Как отмечено выше, нерегулируемый по срокам нерестовой миграции промысел может приводить к нарушению естественной структуры популяций лососей в том или ином районе. Это видно, например, при анализе соотношения ранней (руслевой) и поздней (ключевой) рас горбуши, размножающейся на о-ве Итуруп (Курильские острова) и в зал. Анива (о-в Сахалин). Соотношение первой и второй рас лососей в период с 1956 по 1966 г. на о-ве Итуруп было практически одинаковым (51.3 и 48.7%), в то время как в 1967–2009 гг. оно заметно изменилось и составляло соответственно 20.1 и 79.9% (Иванков, 1997; Каев, 2010). Подобная ситуация наблюдалась в реках западной Камчатки и р. Амур (Шунтов, Темных, 2008), а также в зал. Анива (Каев, 2010). В большие реки в начале нерестовой миграции, как правило, идут наиболее крупные лососи, мигрирующие на нерест в свои “родные” нерестовые притоки на сотни и даже тысячи километров, как, например, в бассейне р. Амур. Эти рыбы подвергаются наиболее интенсивному отлову. Опубликованы данные, показывающие, что подобный селективный промысел приводит к измельчанию рыб и снижению воспроизводительного потенциала амурской кеты (Рослый, 2002). Аналогичные сведения получены и для кеты бассейна р. Анадырь. В этом районе масса тела лососей с 1984 г. к середине 1990-х гг. снизилась с 3.82 до 2.84 кг, а их плодовитость — с 3573 до 2590 икринок (Путивкин, 1999). При нерегулируемом промысле лососей наблюдается сокращение популяционного разнообразия и значительно снижается численность рыб локально-темпоральных популяций. Например, в бассейне р. Уссури из существовавших ранее 30 популяционных группировок осенней кеты 14 уже практически исчезли, а основной нерест кеты происходит преимущественно в русле притоков р. Уссури — в реках Хор и Бикин (Эко-системы..., 1997). Численность осенней кеты в последние годы здесь поддерживалась лишь за счет рыб, заходивших в р. Уссури в самые поздние сроки — в октябре–декабре, в основном под льдом (Золотухин, 2007). Эти данные показывают, что отсутствие или игнорирование сведений о популяционной организации видов при промысле анадромных рыб приводит к сокращению их общего запаса в том или ином районе, а также к уменьшению численности и к снижению качества рыб наиболее ценных единиц запаса, которыми являются ранние локально-темпоральные популяции (ходы) в бассейнах крупных рек или популяции (единицы запаса) локальных стад. Отмечено также снижение генетического разнообразия популяций, что было выявлено при проведении популяционно-генетических исследова-

ний группировок лососей разных иерархических уровней (Салменкова и др., 1986; Алтухов и др., 1997; Gharrett et al., 2001; Алтухов, 2003).

Проведенный нами анализ структуры промысловых видов анадромных рыб и их популяционной организации, а также последствий негативного влияния нерационального ведения промысла на структуру популяций и биологические показатели лососей позволил сделать вывод о необходимости разработки оптимальной стратегии промысла и рационального освоения запасов. Для этого прежде всего необходимо выяснить внутривидовую иерархическую структуру: наличие или отсутствие эколого-темпоральных (сезонных) рас и локально-темпоральных популяций в том или ином районе обитания видов, сроки нерестовой миграции, места размножения лососей каждой расы и локально-темпоральных популяций, а также популяционную структуру локального стада. Для объективного суждения о популяционной структуре каждого вида рыб в том или ином районе, очевидно, требуется проведение исследований с применением как биогеографических, экологических и морфофизиологических, так и популяционно-генетических методов (Животовский, 2016а).

Учет эколого-темпоральной дифференциации, популяционной организации лососей и рациональное ведение промысла, несомненно, будут способствовать устойчивости экологической и генетической структуры эксплуатируемых стад, поддержанию их популяционного разнообразия и численности на оптимально высоком уровне, а также позволят сохранять наиболее ценные единицы запаса (Алтухов, 2001; Зиничев и др., 2012; Иванков, Иванкова, 2017; Животовский, Смирнов, 2018). Сохранение популяционного внутривидового разнообразия лососей в регионе может быть обеспечено посредством регулирования сроков и интенсивности промысловой нагрузки в разные периоды нерестовой миграции рыб в реки, а поддержание оптимальной численности популяций рыб, являющихся единицами запаса, — их искусственным разведением на рыболовных заводах и проведением рыбоохранных мероприятий.

#### 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

- Алтухов Ю.П. Генетические последствия селективного промысла и рыбоводства // *Вопр. рыбоводства*. 2001. Т. 2. № 4 (8). С. 562–602.
- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях: Учеб. пособие. М.: ИКУ “Академкнига”. 2003. 431 с.
- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. Популяционная генетика лососевых рыб. М.: Наука. 1997. 288 с.
- Берг Л.С. Яровые и озимые расы у проходных рыб // *Изв. АН СССР*. 1934. № 5. С. 711–732.
- Бирман И.Б. О внутривидовых группировках амурской осенней кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) // *Вопр. ихтиологии*. 1977. Т. 17. Вып. 5. С. 879–889.
- Волобуев В.В., Бачевская Л.Т., Волобуев М.В., Марченко С.Л. Популяционная структура кеты *Oncorhynchus keta* континентального побережья Охотского моря // *Вопр. ихтиологии*. 2005. Т. 45. Вып. 4. С. 489–501.
- Волобуев В.В., Розатных А.Ю., Царев Ю.И., Кузицин К.В. Морфо-биологическая дифференциация ранней и поздней кеты *Oncorhynchus keta* р. Тайй // *Популяционная биология лососей Северо-Востока Азии (Биологические проблемы Севера)*. Владивосток: ДВО АН СССР. 1992. С. 72–80.
- Гриценко О.Ф., Ковтун А.А., Косткин В.К. Экология и воспроизводство кеты и горбуши. М.: Агропромиздат. 1987. 168 с.
- Дубинин Н.П. Эволюция популяций и радиация. М.: Атомиздат. 1966. 743 с.
- Животовский Л.А. Популяционная структура вида: эко-географические единицы и генетическая дифференциация популяций // *Биол. моря*. 2016а. Т. 42. № 5. С. 323–333.
- Животовский Л.А. Провизорное районирование единиц запаса кеты Дальнего Востока России // *Бюл. № 11 изучения тихоокеанских лососей на Дальнем Востоке*. 2016б. С. 193–198.
- Животовский Л.А., Лапина А.Е., Михеев П.Б. и др. Дивергенция сезонных рас кеты *Oncorhynchus keta* Walbaum, 1792 рек Амур и Поронай: экология, генетика, морфология // *Биол. моря*. 2017. Т. 43. № 4. С. 284–292.
- Животовский Л.А., Смирнов Б.П. Стратегия воспроизводства тихоокеанских лососей в Сахалинской области // *Вопр. рыбоводства*. 2018. Т. 19. № 3. С. 285–299.
- Заварина А.О. Морфобиологическое описание “весенней” формы кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) бассейна реки Камчатки // *Исследование биологии и динамики численности промысловых рыб западно-камчатского шельфа*. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. 1995. Вып. 3. С. 120–124.
- Запорожец О.М., Запорожец Д.В., Зорбиди Ж.Х. Темпоральные группировки у производителей тихоокеанских лососей реки Большая (Западная Камчатка) // *Водные биологические ресурсы России: состояние, мониторинг, управление*. Сб. материалов Всерос. науч. конф. с международным участием, посвященной 85-летию Камчатского научно-исследовательского ин-та рыбного хозяйства и океано-

- графии (3–6 октября 2017 г.). Петропавловск-Камчатский. 2017. С. 182–190.
- Зиничев В.В., Леман В.Н., Животовский Л.А., Ставенко Г.А. Теория и практика сохранения биоразнообразия при разведении тихоокеанских лососей. М.: Изд-во ВНИРО. 2012. 238 с.
- Золотухин С.Ф. Кета реки Уссури. Владивосток: ТИНРО-центр. 2007. 210 с.
- Иванков В.Н. Тихоокеанские лососи острова Итуруп // Изв. ТИНРО. 1968. Т. 65. С. 49–74.
- Иванков В.Н. Особенности экологии и структура популяций осенней кеты различных районов Сахалина // Уч. зап. Дальневост. ун-та. 1972. Т. 60. С. 27–35.
- Иванков В.Н. Популяционная организация лососей с коротким пресноводным периодом жизни // Вопр. ихтиологии. 1993. Вып. 1. С. 78–83.
- Иванков В.Н. Изменчивость и микроэволюция рыб. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та. 1997. 124 с.
- Иванков В.Н. Внутривидовая дифференциация и популяционная организация горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в различных частях ареала // Изв. ТИНРО. 2011. Т. 167. С. 101–109.
- Иванков В.Н., Добрицкий О.Ю., Скуба Н.С., Карпенко А.И. Дифференциация популяций горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* южного Сахалина // Вопр. ихтиологии. 1996. Т. 22. № 3. С. 167–173.
- Иванков В.Н., Иванкова Е.В. Внутривидовые репродуктивные стратегии у тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* (фундаментальное сходство и видовые различия) // Изв. ТИНРО. 2013. Т. 173. С. 103–118.
- Иванков В.Н., Иванкова Е.В. Экологические подвиды и локально-темпоральные популяции анадромных рыб // Вопр. ихтиологии. 2017. Т. 57. № 1. С. 59–65.
- Иванков В.Н., Иванкова Е.В., Кульбачный С.Е. Популяционная организация тихоокеанских лососей: иерархия темпоральных рас и популяций // Современное состояние водных биоресурсов: Материалы науч. конф., посвященной 70-летию С.М. Коновалова. Владивосток: ТИНРО-Центр. 2008. С. 366–371.
- Иванков В.Н., Падецкий С.Н., Карпенко С.Н., Лукьянов П.Е. Биология проходных рыб южного Приморья // Биология проходных рыб Дальнего Востока. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та. 1984. С. 10–36.
- Иванкова Е.В., Борисовец Е.Э. Морфологический и генетический анализы темпоральных группировок кеты *Oncorhynchus keta* реки Камчатка // Вопр. ихтиологии. 2002. Т. 43. № 4. С. 489–502.
- Иванкова Е.В., Борисовец Е.Э., Карпенко А.И., Хоревин Л.Д. Популяционная структура кеты *Oncorhynchus keta* острова Сахалин // Вопр. ихтиологии. 2000. Т. 40. № 4. С. 467–476.
- Каев А.М. Некоторые вопросы динамики стада горбуши в связи с ее темпоральной структурой // Бюл. № 5 реализации “Концепции дальневосточной бассейновой программы изучения тихоокеанских лососей”. 2010. С. 89–96.
- Кузицин К.В., Груздева В.А., Савваитова К.А. и др. Сезонные расы кеты *Oncorhynchus keta* и их взаимоотношения в реках Камчатки // Вопр. ихтиологии. 2010. Т. 50. № 2. С. 202–215.
- Кульбачный С.Е., Иванков В.Н. Темпоральная дифференциация и условия размножения кеты *Oncorhynchus keta* (Salmoniformes: Salmonidae) бассейна реки Тугур (Хабаровский край) // Вопр. ихтиологии. 2011. Т. 51. № 1. С. 70–79.
- Ловецкая Е.А. Материалы по биологии амурской кеты // Изв. ТИНРО. 1948. Т. 27. С. 115–138.
- Марченко С.Л. Особенности биологии и популяционная структура горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) северного побережья Охотского моря: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: ТИНРО-Центр. 2004. 24 с.
- Николаева Е.Т., Овчинников К.А. О внутривидовой структуре кеты *Oncorhynchus keta* на Камчатке // Вопр. ихтиологии. 1988. Т. 28. Вып. 3. С. 493–497.
- Пильганчук О.А. Генетическая структура нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) полуострова Камчатка: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. 2014. 24 с.
- Путивкин С.В. Биология и динамика численности андырской кеты: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: ТИНРО-центр. 1999. 24 с.
- Ресурсы поверхностных вод СССР // Дальний Восток. Вып. 4. Сахалин и Курилы. Л.: Гидрометиздат. 1973. 264 с.
- Рослый Ю.С. Динамика популяций и воспроизводство тихоокеанских лососей в бассейне Амура. Хабаровск: Хабаровск. кн. изд-во. 2002. 212 с.
- Салменкова Е.А., Алтухов Ю.П., Викторовский Р.М. и др. Генетическая структура популяций кеты, разнотажующихся в реках Дальнего Востока и Северо-Востока СССР // Журн. общ. биол. 1986. Т. 47. С. 529–549.
- Салменкова Е.А., Омельченко В.Т., Рослый Ю.С. и др. Генетическая дифференциация кеты бассейна Амура // Генетика. 1994. Т. 30. № 4. С. 518–528.
- Световидова А.А. Локальные стада летней кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) бассейна Амура // Вопр. ихтиологии. 1961. Вып. 17. С. 14–23.
- Смирнов А.И. Биология, размножение и развитие тихоокеанских лососей. М.: МГУ. 1975. 336 с.
- Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В. Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука. 1969. 408 с.
- Шварц С.С. Эволюционная экология животных. М.: Наука. 1969. 199 с.
- Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции: теория стабилизирующего отбора. М.: Наука. 1968. 444 с.
- Шунтов В.П., Темных О.С. Тихоокеанские лососи в морских и океанических экосистемах: монография. Владивосток: ТИНРО-Центр. 2008. Т. 1. 481 с.
- Экосистемы бассейна реки Бикин: среда, человек, управление / Отв. ред. С.Ф. Золотухин. Владивосток: ДВО РАН. 1997. 176 с.
- Cronin M.A., Spearman W.J., Wilmot R.L. et al. Mitochondrial DNA variation in chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) and chum salmon (*O. keta*) detected by restriction enzyme analysis of polymerase chain reaction (PCR) products // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1993. V. 50. P. 708–715.

- Gharrett A.J., Lane S., McGregor A.J., Taylor S.G. Use of a genetic marker to examine genetic interaction among subpopulations of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // *Genetica* (Dordrecht, Neth.). 2001. V. 111. P. 259–267.
- Ivankova E.V. Morphogenetic analysis of temporal populations of chum salmon of Kamchatka River // *Proc. Northeast Pacific Pink and Chum Salmon Workshop*. Seattle, Wash.: Univ. Washington. 2001. P. 137–146.
- Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // *Genetics*. 1978. V. 89. № 3. P. 583–590.
- Varnavskaya N.V., Wood C.C., Everett R.J. et al. Genetic differentiation of subpopulations of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) within lakes of Alaska, British Columbia, and Kamchatka, Russia // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1994. V. 51. Suppl. 1. P. 147–157.
- Wilmot R.L., Burger C.V. Genetic differences among populations of Alaskan sockeye salmon // *Trans. Am. Fish. Soc.* 1985. V. 114. P. 236–243.
- Wilmot R.L., Everett R.J., Spearman W.J. et al. Genetic stock structure of western Alaska chum salmon and a comparison with Russian Far East stocks // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1994. V. 51. Suppl. 1. P. 84–94.
- Winans G.A., Aebersold P.B., Urawa S., Varnavskaya N.V. Determining continent of origin of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) using genetic stock identification techniques: Status of allozyme baseline in Asia // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1994. V. 51. Suppl. 1. P. 95–113.
- Withler R.E. *Ldh-4* allozyme variability in North American sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) populations // *Can. J. Zool.* 1985. V. 63. P. 2924–2932.

## Ecological and Temporal Differentiation, Stock Units, and Conservation of Population Diversity of Anadromous Fishes

V. N. Ivankov<sup>a</sup> and E. V. Ivankova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Far Eastern Federal University, Vladivostok 690091, Russia*

The ecological, genetic, and temporal intraspecific differentiation of populations of anadromous fishes of the genus *Oncorhynchus* is analyzed. It has been shown that the stability of the ecological and genetic structure of exploited stocks and the maintenance of their abundance at an optimally high level can be provided by taking into account the population organization of fishes during fishing operations. A commercial stock of anadromous fish at a breeding ground is represented by one or several local herds. The stock units are the fish populations that make up a local herd.

**Keywords:** anadromous fish, Pacific salmon, species structure, ecological subspecies, local and temporal populations, stock units

УДК 597.355.3

## МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ И БИОЛОГИЯ МАЛОИЗВЕСТНЫХ ГЛУБОКОВОДНЫХ СКАТОВ РОДА *BATHYRAJA* ISHIYAMA, 1958 (RAJIDAE) ИЗ СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ТИХОГО 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 27.03.2019 г.

После доработки 12.09.2019 г.

Принята к публикации 03.10.2019 г.

Дано морфологическое описание и приведены сведения о биологии редких глубоководных скатов *Bathyraja fedorovi*, *B. andriashevi* и *B. tzinovskii* из северо-западной части Тихого океана. Описано строение неврокраниума, скапулокоракоида и птеригоподиев, а также приведены данные о количестве туловищных и хвостовых позвонков, рядов зубов и оборотов спирального клапана кишечника.

**Ключевые слова:** скаты *Bathyraja fedorovi*, *B. andriashevi*, *B. tzinovskii*, Охотское море, морфометрические данные, неврокраниум, скапулокоракоид, птеригоподии, дермальные чешуи, позвонки, зубы, спиральный клапан

DOI: 10.31857/S0134347520020035

В 1985 г. из северо-западной части Тихого океана было описано пять новых видов скатов рода *Bathyraja* (см.: Долганов, 1985), из которых три вида — *B. andriashevi* (голотип и один несохранившийся экземпляр), *B. fedorovi* (голотип и паратип) и *B. tzinovskii* (голотип) — были известны только по единичным экземплярам первоописания, а данные по их биологии отсутствовали. Из-за ограниченности материала к моменту описания видов возможности для изготовления морфологических препаратов не было, поэтому такие важные для таксономии скатов признаки, как строение птеригоподиев, неврокраниума и скапулокоракоида, были неизвестны. Во время экспедиции НПС “Дарвин” в 1989 г. на материковом склоне Охотского моря автором был собран материал, позволяющий значительно дополнить недостающие сведения о морфологии и биологии этих редких видов скатов.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Возраст скатов определяли по шипам срединного ряда, на которых после очистки хорошо видны годовичные кольца (Долганов, 1998). Степень созревания особей определяли не только по развитию гонад, но и по степени развития ректальной железы самок и эректильных колючек самцов.

Сбор и обработку желудков проводили в соответствии с “Методическим пособием...” (1974). Количественно-весовым методом были обработаны желудки 57 экз. *Bathyraja fedorovi*, 5 экз. *B. andriashevi* и 4 экз. *B. tzinovskii*.

Сокращенные обозначения признаков: *TL* — общая длина, *DW* — ширина диска, *DL* — длина диска, *IT* — длина хвоста от середины ануса, *c* — длина головы до начала позвоночной пластины, *ao* — длина рыла до орбит, *o* — наибольший диаметр орбиты, *io* — межорбитальное расстояние, *s* — длина брызгальца, *is* — расстояние между брызгальцами, *an* — длина рыла до ноздрей, *in* — расстояние между ноздрями, *ar* — длина рыла до ротовой щели, *r* — ширина рта, *IID* и *IID* — длина оснований соответственно первого и второго спинных плавников, *hID* и *hIID* — их высота, *lcl* — длина птеригоподиев взрослых самцов; *P* — количество лучей в грудном плавнике, *vt. tr.* — туловищных позвонков, *vt. prd.* — предорсальных позвонков, *int. v.* — витков в спиральном клапане, *dent.* — поперечных рядов (серий) зубов в верхней и нижней челюсти.

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

## МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ

*Bathyraja fedorovi Dolganov,*  
1985 – скат Федорова (рис. 1)

**Материал.** Голотип: взрослая самка *TL* 733 мм, *DW* 420 мм, ЗИН № 46190, НПС “Геракл”, 9 августа 1975 г., Охотское море, 44°41′ с.ш., 146°12′ в.д., глубина лова 1370–1550 м. Коллектор В.В. Федоров. Паратип: самка *TL* 698 мм, *DW* 417 мм, музей ТИНРО № 750, НПС “Мыс Дальний”, 9 февраля 1981 г., тихоокеанское побережье Японии, 37°58′ с.ш., 142°48′ в.д., глубина лова 1400 м. Коллектор Б.А. Шейко. Дополнительный материал: 28 самок *TL* 292–727 мм, *DW* 180–410 мм, 14 самцов *TL* 267–699 мм, *DW* 168–417 мм, Охотское море, май–сентябрь 1989 г., НПС “Дарвин”, донный трал, глубина лова 1110–2025 м. Коллектор В.Н. Долганов.

*P* 69–74; *vt. tr.* 27–31, *vt. prd.* 58–73, *int. v.* 9–11, *dent.* 17–26/15–22.

**Описание.** Рыло острое, образует угол менее 90°. Глаза маленькие, намного меньше межорбитального расстояния, их длина около 5 раз содержится в длине рыла до глаз. Брызгальце в любом возрасте меньше диаметра глаза и лишь изредка равно ему у наиболее крупных экземпляров. Носовой клапан с неглубокой выемкой. Диск ромбовидный, с заостренными внешними и задними углами грудных плавников; его длина составляет 76.3–92.0 (80.9)% ширины. Длина хвоста от середины ануса больше предхвостового расстояния. Размеры спинных плавников одинаковы; хвостовой плавник в виде невысокой складки. Хвост с боковыми кожными складками по всей длине.

Зубы с маленькими заостренными вершинами, околосоимфизные крупнее боковых. Глотка и жаберные дуги без шипиков. Шипы на диске обычно отсутствуют. У молодых особей шипы срединного ряда иногда имеются. Хвостовая серия шипов срединного ряда начинается далеко позади тазовых бугров и состоит из 20–31 (24.3) шипа. Междорзальный шип обычно отсутствует. Эректильные (аларные) колючки взрослых самцов расположены в 21–23 сериях по 5–7 колючек в каждой. Сверху диск и хвост покрыты мелкими шипиками. Нижняя поверхность голая, кроме двух полос шипиков, расположенных вдоль боковых складок хвоста.

Измерения *B. fedorovi* в % *DW* (в скобках среднее значение признака): *TL* 157.5–181.8 (163.8); *DL* 76.3–92.0 (80.9); *c* 29.3–36.5 (33.0); *ao* 19.3–26.2 (23.1); *o* 4.0–6.0 (4.5); *io* 4.8–7.2 (6.0); *s* 3.3–4.6 (3.8); *is* 10.6–12.1 (11.1); *an* 15.0–20.5 (17.9); *in* 11.8–14.9 (13.5); *ar* 19.8–28.2 (24.2); *r* 10.7–13.8 (11.9); *IT* 80.7–97.9 (85.7); *lcl* 26.6–29.6 (28.1); *IID* 4.9–7.4 (6.1); *IIID* 4.9–7.4 (5.9); *hID* 1.8–4.1 (2.8); *hIID* 1.8–4.4 (2.8).

Туловищных позвонков 27–31 (29.5), преддорзальных 58–73 (65.0); лучей в грудном плавнике 69–74 (71.1). В верхней челюсти 17–26 (22.2) серий зубов, в нижней – 15–22 (18.3). Складка спирального клапана образует 9–11 (10.1) полных оборотов.

Неврокраниум сравнительно узкий. Ростральный хрящ цельный, очень слабый и длинный; он намного длиннее половины длины черепа. Боковые ростральные хрящи маленькие, их длина около 5 раз содержится в длине рострума; задние края хрящей плоские в сечении. Передняя фонтанель широкая, открывается у начала обонятельных капсул и простирается до уровня начала орбит. Базальные отверстия носовых капсул маленькие (рис. 1в). Скапулокораконд невысокий. Имеется перемычка (*anterior bridge*), разделяющая переднюю фонтанель на дорзальную и вентральную части. Постдорзальных и поствентральных отверстий 7–8 (рис. 1г). Передний и задний края тазовой пластины прямые (рис. 1д).

Птеригоподии не крупные, около 1/3 длины хвоста. Псевдосифон (*pseudosiphon*) крупный. Внутренняя поверхность дорзальной доли птеригоподия с неглубокой выемкой (*slit*). Дорзальная и вентральная доли разделены срединной впадиной – 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 складкой кожи (рис. 1е).

Скелет птеригоподия *B. fedorovi* состоит из осевого хряща (*axial*), к которому продольно прикреплены дорзальный (*dorsal marginal*) и вентральный (*ventral marginal*) осевые хрящи. Дорзальный осевой хрящ в дистальной части дифференцирован на три дорзальных щитка (*dorsal terminal* 1, 2, 3), а вентральный осевой хрящ – на овальный добавочный хрящ (*accessory terminal*) и крупный вентральный щиток (*ventral terminal*) (рис. 1ж).

Окраска взрослых скатов сверху и снизу темно-коричневая. Верхняя поверхность молоди более светлая, чем нижняя.

**Распространение.** Глубокие воды Охотского моря и тихоокеанского побережья Японии (1100–2025 м).

*Bathyraja andriashevi Dolganov,*  
1985 – скат Андрияшева (рис. 2)

**Материал.** Голотип: самка *TL* 1032 мм, *DW* 681 мм, ЗИН № 46191, НПС “Мыс Юноны”, 23 января 1980 г., тихоокеанское побережье Японии, 36°24′ с.ш., 141°29′ в.д., глубина лова 1470–1480 м. Коллектор В.Н. Долганов. Дополнительный материал: взрослый самец *TL* 1200 мм, *DW* 756 мм, тихоокеанское побережье Японии, 36°25′ с.ш., 141°28′ в.д.,

25 января 1980 г., НПС “Мыс Юноны”, глубина лова 1390–1400 м; самец *TL* 390 мм, *DW* 235 мм, Охотское море, 48°08' с.ш., 148°05' в.д., 24 мая 1989 г., НПС “Дарвин”, глубина 1960–1980 м; самец *TL* 550 мм, *DW* 348 мм, Охотское море, 48°46' с.ш., 151°08' в.д., 31 мая 1989 г., НПС “Дарвин”, глубина 1978–2004 м; две сильно поврежденные взрослые самки *TL* 132 и 141 см, Охотское море, 48°07' с.ш., 149°11' в.д., 25 мая 1989 г., НПС “Дарвин”, глубина 1948–1998 м. Коллектор В.Н. Долганов.

*P* 93–97; *vt. tr.* 40–43, *vt. prd.* 75–79, *int. v.* 11, *dent.* 29–30/25–28.

**Описание.** Рыло широкое, тупое; образует угол 120–125°. Глаза очень маленькие, 58.5–80.2% межорбитального расстояния и 13.1–22.7% длины рыла до глаз. Брызгальце большое, у взрослых особей 127.3–158.3% диаметра глаза, у молоди – 83.1–107.6%. Носовой клапан со слабой выемкой. Диск широкий, округлый; его длина составляет 75.3–79.6% ширины. Внешние и задние углы грудных плавников плавно закруглены, передний край прямой или слегка выпуклый. Длина хвоста от середины ануса составляет 104.1–106.4% предхвостового расстояния у взрослых особей и 125.4–129.3% у молоди. Первый спинной плавник немного крупнее второго, хвостовой плавник сильно редуцирован. Боковая складка хвоста начинается у внутренней пазухи брюшного плавника.

Зубы мелкие, с небольшими острыми вершинами; у взрослых самцов вершины более высокие и массивные. Глотка и жаберные дуги без шипиков. Шипы на диске отсутствуют. Хвостовая серия шипов начинается далеко позади тазовых бугров и состоит из 25–31 не крупного шипа. Междорзальный шип обычно имеется. Эректильные колючки взрослого самца расположены в 20 сериях; количество колючек в серии достигает 5. Имеется небольшое количество недоразвитых колючек; это показывает, что серии могут быть более многочисленными. Сверху диск и хвост полностью покрыты очень мелкими шипиками, но у взрослых самцов центральная часть грудных плавников голая. Нижняя поверхность голая.

Измерения *B. andriashevi* в % *DW*: *TL* 151.5–166.0; *DL* 75.3–79.6; *c* 31.5–33.2; *ao* 22.1–24.7; *o* 3.2–5.1; *io* 4.6–6.4; *s* 4.0–5.0; *is* 8.3–9.8; *an* 17.2–18.1; *in* 11.2–12.6; *ar* 21.2–25.1; *r* 8.5–10.3; *IT* 78.1–93.6; *lcl* 20.9; *IID* 5.6–7.2; *IID* 4.7–5.5; *hID* 3.2–3.5; *hIID* 3.2–3.5.

Туловищных позвонков 40–43, преддорзальных 75–79; лучей в грудном плавнике 93–97. В верхней челюсти 29–30 серий зубов, в нижней – 25–28. Складка спирального клапана образует 11 полных оборотов.

Неврокраниум сравнительно широкий. Ростральный хрящ цельный, тонкий; его длина немного более половины длины черепа. Боковые

ростральные хрящи очень маленькие, их длина около 5 раз содержится в длине рострума; задние края хрящей плоские в сечении. Передняя фонтанель широкая, открывается примерно на уровне начала обонятельных капсул и простирается до начала орбит. Базальные отверстия носовых капсул небольшие (рис. 2в). Скапулокораконд умеренно высокий. Имеется перемычка, разделяющая переднюю фонтанель на дорзальную и вентральную части. Постдорзальных и поствентральных отверстий 5–6 (рис. 2г). Передний край тазовой пластины почти прямой, задний край сильно вогнут (рис. 2д).

Дорзальная поверхность птеригоподиев с крупным псевдосифоном. На вентральной доле внутренней поверхности имеются хорошо выраженный удлиненный выступ и расположенный под ним округлый хрящ с острым краем – острие. На дорзальной доле находится неглубокая выемка. Вентральная и дорзальная доли птеригоподиев разделены глубокой продольной впадиной – гипопиле (рис. 2е).

Прижизненная окраска верхней поверхности диска и хвоста взрослых самок светло-сиреневая с неясными серыми пятнами разных размеров; взрослый самец серый с небольшими светлыми пятнами. Молодые скаты однотонные, серо-фиолетовые или коричнево-серые. Нижняя поверхность светлая с широкой темной окантовкой грудных и брюшных плавников.

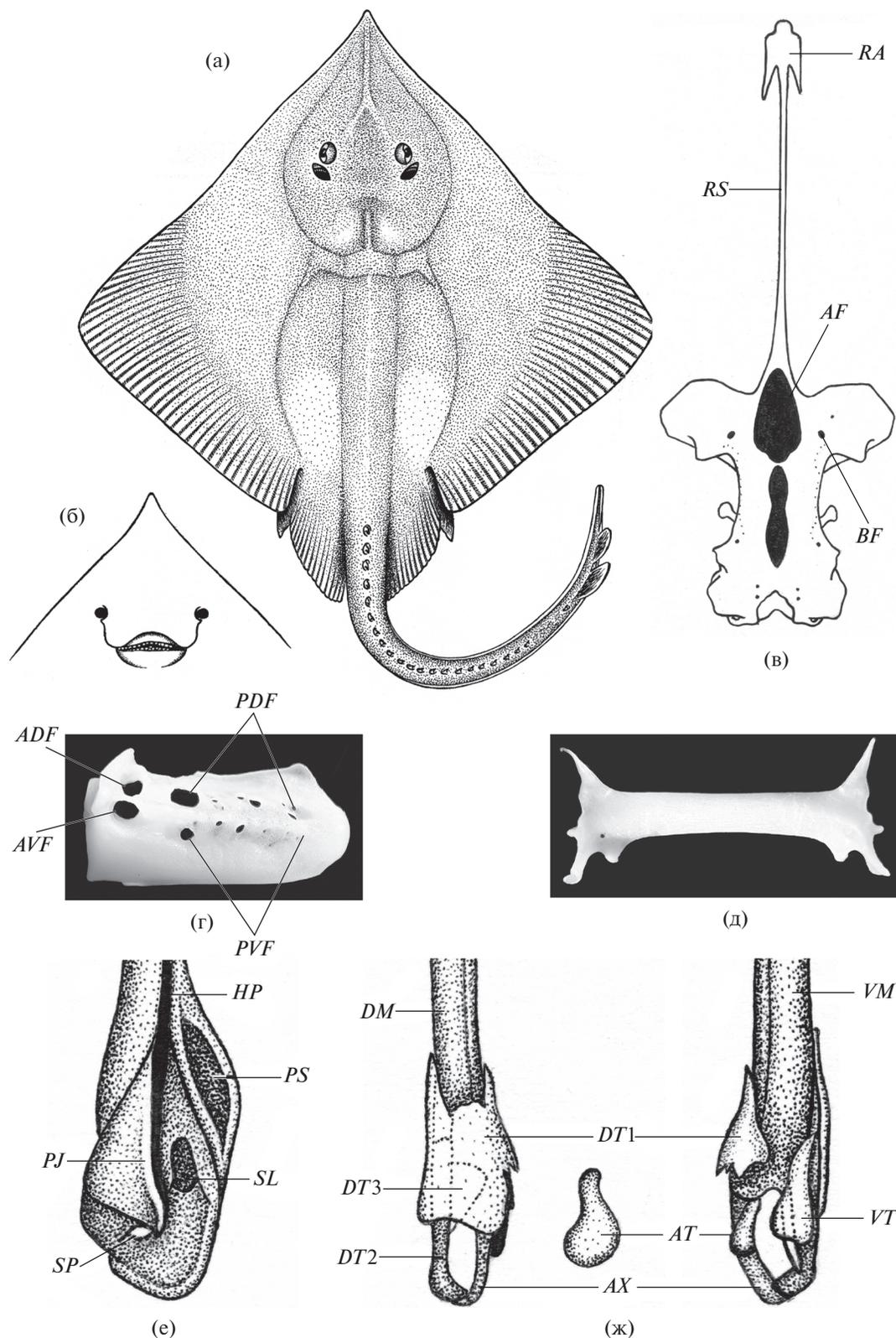
**Распространение.** Известен у тихоокеанского побережья о-ва Хонсю на глубинах 1390–1480 м и в Курильской котловине Охотского моря на глубинах 1960–2004 м.

*Bathyraja tzinovskii Dolganov,*  
1985 – *скат Циновского (рис. 3)*

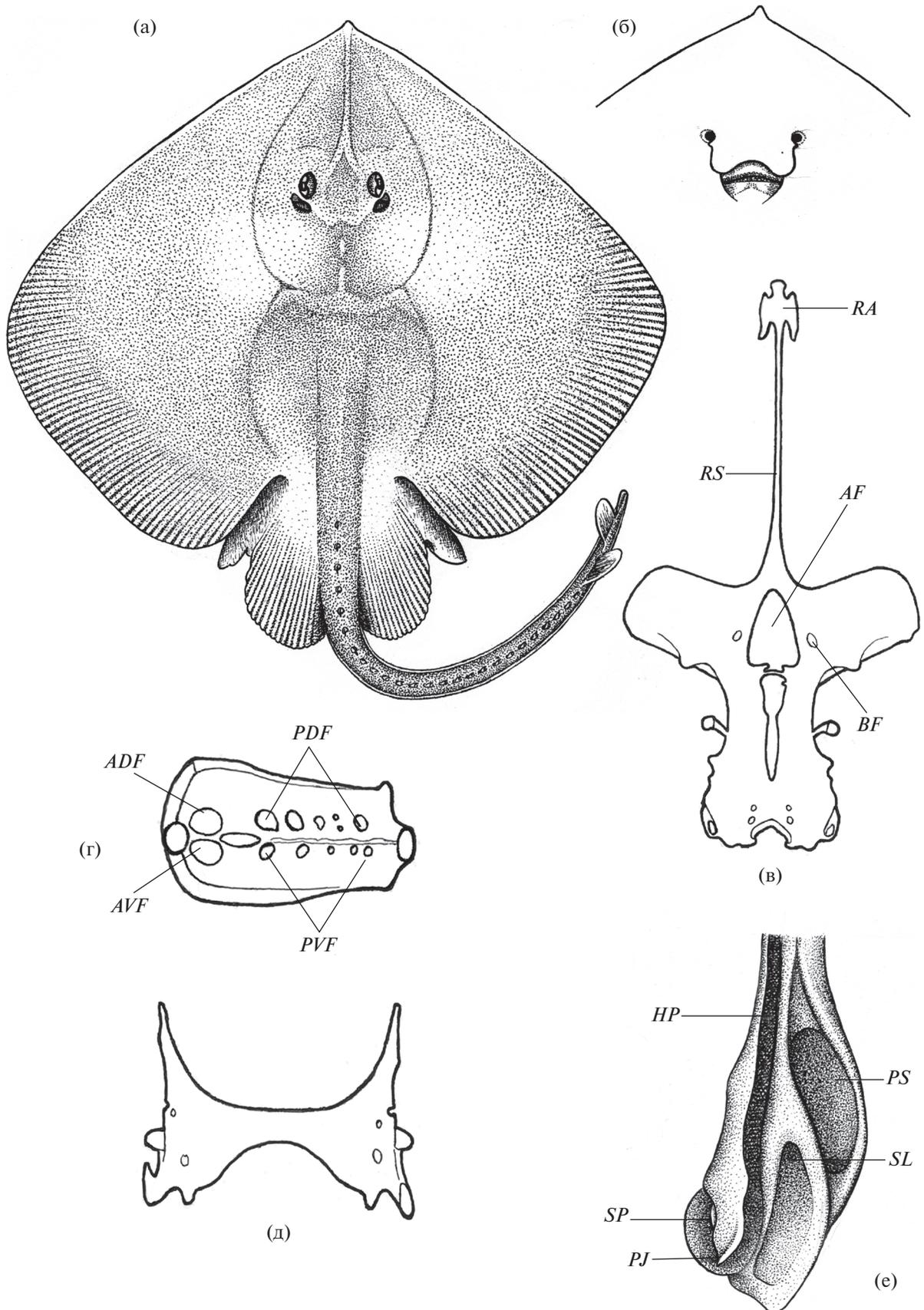
**Материал.** Голотип: взрослая самка *TL* 714 мм, *DW* 415 мм; ЗИН № 46192, 23 июня 1972 г., тихоокеанское побережье Японии, 40°12' с.ш., 143°35' в.д., глубина лова 2500 м. Коллектор В.Д. Циновский. Дополнительный материал: два взрослых самца *TL* 743 и 730 мм, *DW* 440 и 457 мм, Охотское море, 48°02' с.ш., 146°49' в.д., 22 мая 1989 г., НПС “Дарвин”, глубина лова 2025–2100 м; созревающий самец *TL* 682 мм, *DW* 392 мм, Охотское море, 48°06' с.ш., 147°09' в.д., 22 мая 1989 г., НПС “Дарвин”, глубина лова 1745–1766 м. Коллектор В.Н. Долганов.

*P* 70–72; *vt. tr.* 30–31, *vt. prd.* 64–69, *int. v.* 8–9, *dent.* 26–32/23–32.

**Описание.** Рыло образует угол около 100°. Глаза сравнительно небольшие, 50.2–74.9% межорбитального расстояния и 16.2–21.1% длины рыла до глаз. Брызгальце составляет 85.0–117.2% диаметра глаза. Носовой клапан с неглубокой выемкой. Диск ромбовидный, со слабо заостренными внешними и задними углами грудных плавников; его длина составляет 78.3–86.0% ширины. Длина



**Рис. 1.** *Bathyraja fedorovi*. а – голотип, взрослая самка *TL* 733 мм; б – голова, вид снизу (Долганов, 1985); в–ж – взрослый самец *TL* 673 мм: в – неврокраниум (*RA* – боковые роstralные отростки, *RS* – роstrум, *AF* – передняя фонтанель, *BF* – базальные отверстия); г – скапулоракораоид (*ADF* – переднее дорзальное отверстие, *AVF* – переднее вентральное отверстие, *PDF* – задние дорзальные отверстия, *PVF* – задние вентральные отверстия); д – тазовая пластина; е – внешний вид развернутого птеригоподия (*PS* – псевдосифон, *HP* – гипопиле, *SL* – выемка, *PJ* – отросток, *SP* – острие); ж – вентральный и дорзальный вид скелета птеригоподиев (*AX* – осевой хрящ; *DM* – дорзальный осевой хрящ; *VM* – вентральный осевой хрящ; *DT* 1, *DT* 2 и *DT* 3 – 1-й, 2-й и 3-й дорзальные щитки; *AT* – добавочный хрящ; *VT* – вентральный щиток).



**Рис. 2.** *Bathyraja andriashevi*. а – голотип, взрослая самка TL 1032 мм; б – голова, вид снизу (Долганов, 1985); в–д – ювенильный самец TL 550 мм (в – неврокраниум, г – скапулокораконд, д – тазовая пластина); е – взрослый самец TL 1200 мм (внешний вид развернутого птеригоподия). Условные обозначения, как на рис. 1.

хвоста от середины ануса в любом возрасте больше предхвостового расстояния. Первый спинной плавник немного длиннее второго; хвостовой плавник выражен слабо. Боковые складки хвоста начинаются от основания брюшных плавников и постепенно расширяются назад.

Зубы мелкие, с направленными назад вершинами. Глотка и жаберные дуги без шипиков. Шипы на диске отсутствуют. Срединный ряд шипов представлен только хвостовой серией из 21–24 не крупных шипов. Эректильные колючки взрослого самца образуют до 23 серий по 6 колючек в каждой. Диск и хвост полностью покрыты густо сидящими мелкими шипиками; нижняя поверхность голая.

Измерения *B. tzinovskii* в % *DW*: *TL* 159.7–174.0; *DL* 78.3–86.0; *c* 32.2–34.9; *ao* 21.7–23.6; *o* 3.7–4.8; *io* 6.4–7.4; *s* 4.3–4.8; *is* 10.5–11.5; *an* 17.3–18.6; *in* 13.4–14.5; *ar* 23.6–25.0; *r* 11.8–13.5; *IT* 83.6–93.1; *lcl* 25.9–27.8; *IID* 6.6–8.0; *IIID* 6.0–6.8; *hID* 3.3–4.3; *hIID* 3.3–4.3.

Туловищных позвонков 30–31, преддорзальных 64–69; лучей в грудном плавнике 70–72. В верхней челюсти 26–32 серий зубов, в нижней – 23–32. Складка спирального клапана образует 8–9 полных оборотов.

Неврокраниум сравнительно узкий. Ростральный хрящ цельный, без сочленения; его длина немного более половины длины черепа. Длина боковых ростральных хрящей около 5 раз содержится в длине рострума; задние края хрящей в сечении плоские. Передняя фонтанель широкая, открывается у начала обонятельных капсул и простирается до уровня начала орбит. Базальные отверстия носовых капсул маленькие (рис. 3в). Скапулокораконд невысокий, с перемычкой, разделяющей переднюю фонтанель на дорзальную и вентральную части. Постдорзальных и поствентральных отверстий 3–5 (рис. 3г). Передний край тазовой пластины почти прямой, задний край вогнут (рис. 3д).

Скелет птеригоподия *B. tzinovskii* состоит из осевого хряща с прикрепленными к нему продольно дорзальным и вентральным осевыми хрящами. Дорзальный осевой хрящ в дистальной части дифференцирован на три дорзальных щитка, а вентральные осевые хрящи – на добавочный хрящ и вентральный щиток. Первый дорзальный щиток очень крупный, его значительная часть заходит на вентральную сторону птеригоподиев. Задний конец 2-го дорзального щитка прилегает к концу осевого хряща. Дистальные концы добавочного хряща и вентрального щитка расширены и закруглены (рис. 3е).

Окраска спинной поверхности фиксированного голотипа светло-кремовая, однотонная; брюшная поверхность белая. Прижизненная окраска верхней стороны диска от фиолетово-розовой до темно-серой. Нижняя поверхность свет-

лая, но края грудных плавников с широкой и четко отграниченной темной полосой.

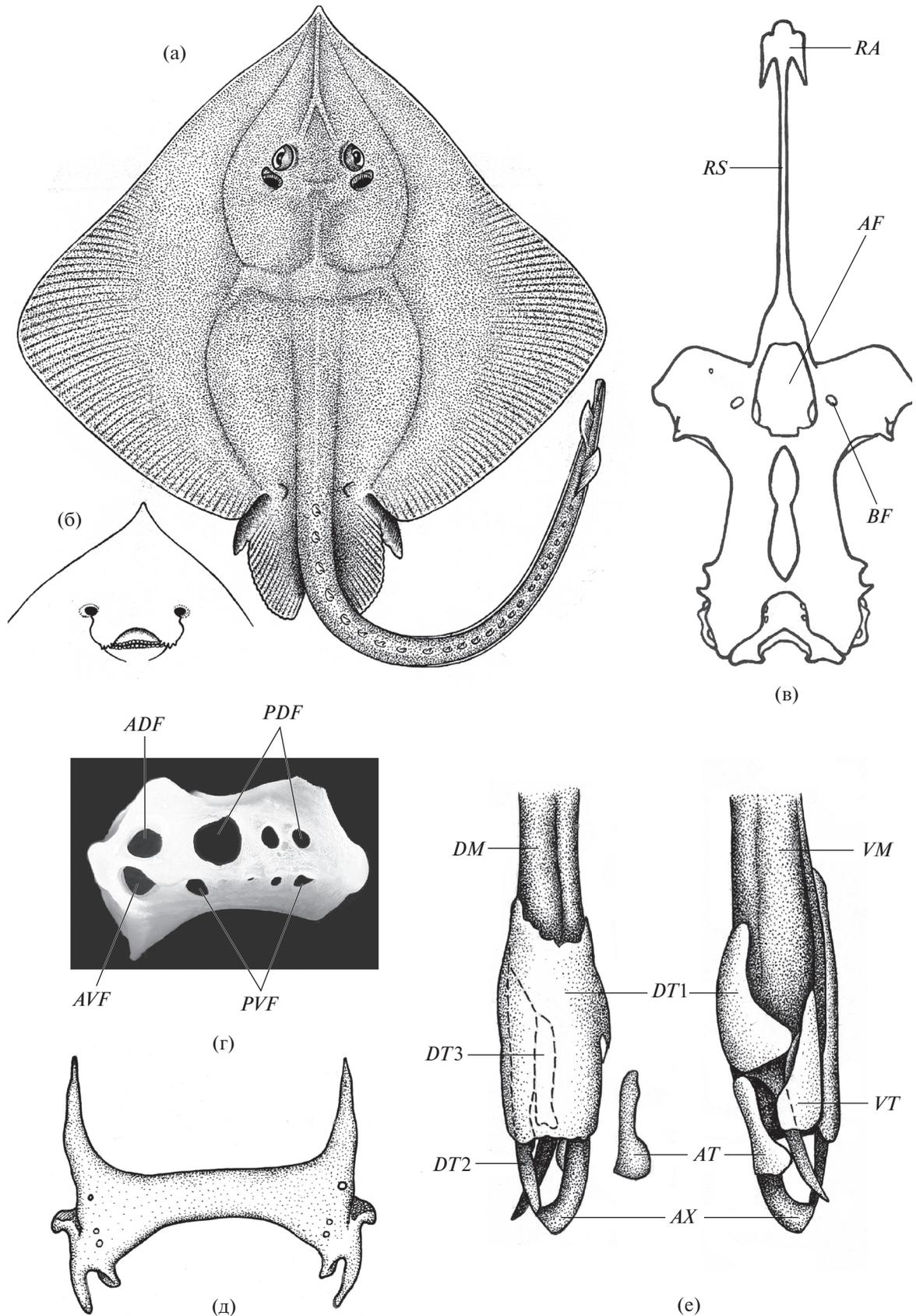
**Распространение.** Известен по голотипу, пойманному у тихоокеанского побережья о-ва Хонсю на глубине 2500 м и в Охотском море на глубинах 1745–2100 м.

## БИОЛОГИЯ

Скаты *Bathyrāja andriashevi*, *B. fedorovi* и *B. tzinovskii* относятся к наиболее глубоководным скатам мира. В 1989 г. во время полной съемки материкового склона Охотского моря на НПС “Дарвин” (300–2000 м) их встречаемость увеличивалась с глубиной. Это позволяет предположить, что основная зона обитания данных видов – гораздо большие глубины. Вместе со скатами *Bathyrāja abyssicola* (710–2903 м), *B. spinosissima* (1250–2400 м) и *Amblyrāja hyperborea* (890–2400 м) они принадлежат к батибентальному ихтиоцелу северной части Тихого океана, представители которого обитают на глубинах от 1000 до 1500–3000 м (Парин, 1988). Два вида этого ихтиоцела – *Raja hyperborea* и *Bathyrāja spinosissima*, являются космополитами, *B. abyssicola* широко распространен в северной Пацифике, а ареалы *B. andriashevi*, *B. fedorovi* и *B. tzinovskii* тяготеют к побережью Азии (Долганов, 1999).

Характеристики глубинных вод в течение года практически не изменяются (Шунтов, 2001). Этим обусловлена крайняя stenothermность скатов батибентального ихтиоцела, которые во время съемки 1989 г. встречались только при температуре 1.95–2.32°C. Вследствие однородности глубинных водных масс данные скаты характеризуются широким диапазоном распространения, слабо выраженными сезонными миграциями и отсутствием сезонности в размножении.

Размножение скатов семейства Rajidae довольно своеобразное. У этих видов внутреннее оплодотворение, и они откладывают на дно яйца, облаченные в яйцевую капсулу. Половой диморфизм выражен очень сильно: у взрослых самцов имеются крупные птеригоподии для внутреннего оплодотворения, образованные из внутренних лучей брюшных плавников, а для остановки и удержания самки – более острые, чем у самок, зубы, сильно вогнутые передние края грудных плавников и острые эректильные колючки. С наступлением половозрелости самки круглогодично в течение жизни откладывают яйца, которые постоянно находятся в яичниках на разной стадии созревания – от мельчайших безжелтковых до готовых к вымету. Созревшие яйца из яичников по яйцепроводам попадают в скорлуповые железы,



**Рис. 3.** *Bathyraja tzinovskii*. а – голотип, взрослая самка TL 714 мм; б – голова, вид снизу (Долганов, 1985); в–е – взрослый самец TL 730 мм (в – неврокраниум, г – скапулокораконд, д – тазовая пластина, е – вентральный и дорзальный вид скелета птеригоподиев). Условные обозначения, как на рис. 1.

где оплодотворяются и покрываются капсулой (Долганов, 1998). Яйцевая капсула имеет четыре роговидных выроста по углам, служащих для прикрепления к субстрату. Для этой же цели на задних более коротких рогах формируется по пучку длинных тонких фибриллярных нитей. Поверхность капсулы шероховатая, с множеством мелких выростов разной формы, которые расположены правильными рядами. В боковой части каждого роговидного выроста имеется узкая щель, через нее происходит обмен с внешней средой (Ishiyama, 1958). Размер яйцевой капсулы зависит от видовой принадлежности и размера самки. Так, у крупного вида *B. andriashevi* длина яйцевой капсулы достигает 122–130 мм, а ширина – 55–58 мм. У более мелких *B. fedorovi* и *B. tzinovskii* длина яйцевой капсулы составляет соответственно 75–86 и 85 мм, а ширина – 40–48 и 49 мм. У всех скатов батибентального ихтиоцена в капсуле развивается только один эмбрион. Соотношение полов эмбрионов из яйцевых капсул приблизительно 1 : 1, как и в естественных популяциях, в которых самки преобладают лишь в старших возрастных группах (Долганов, 1998).

Известные к настоящему времени максимальные размеры и возраст составляют для *B. fedorovi* 69.9 см (7 лет) у самцов и 73.3 см (9 лет) у самок, для *B. andriashevi* 120.0 см (14 лет) у самцов и 141.0 см (16 лет) у самок, для *B. tzinovskii* соответственно 74.3 см (8 лет) и 71.4 см (8 лет). Судя по появлению эректильных колючек и развитию гонад, половозрелыми самцы *B. fedorovi* становятся при длине 56.3–61.2 см в возрасте 4–5 лет, самки – при длине 62.0–64.8 см в возрасте 5–6 лет; самцы *B. andriashevi* – при длине около 105 см (10 лет), а самцы *B. tzinovskii* – при длине около 68 см в возрасте 6 лет.

Скаты батибентального ихтиоцена обладают сходными морфологическими особенностями строения пищеварительной системы. Характерной чертой является большой нижний рот с выдвижными челюстями, при раскрытии которого объем ротовой полости значительно увеличивается. Многочисленные мелкие зубы, расположенные на челюстях, облегчают удержание захваченной добычи. Коронки зубов скатов представляют собой сплюснутые сверху овалы с острой конусовидной вершиной, направленной назад. Имеются хорошо выраженные возрастные различия в форме зубов: у молодых скатов вершина коронки маленькая, у взрослых особей она намного крупнее и острее. Увеличение вершины коронки с возрастом функционально связано с переходом на питание более крупным бентосом и рыбой.

По способу питания *B. fedorovi* является бентоихтиофагом. Этот вид питается преимущественно креветками (55.3%), амфиподами (8.9%), молодой крабов (7.1%), мелкой рыбой (светящимися анчоусами – 12.2%) и др. (7.4%). Второстепенной пищей являются головоногие моллюски (кальмары и осьминоги – 7.0%) и полихеты (2.1%). Несмотря на небольшое количество исследованных желудков *B. andriashevi* и *B. tzinovskii*, по-видимому, они тоже являются бентоихтиофагами, так как в их желудках приблизительно в равной пропорции обнаружены креветки и рыбы.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Автор глубоко благодарен художникам В.П. Чеблукву и С.Ю. Серебряковой за выполнение рисунков.

#### 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

- Долганов В.Н. Новые виды скатов семейства Rajidae из северо-западной части Тихого океана // Вопр. ихтиологии. 1985. Т. 25. № 3. С. 415–425.
- Долганов В.Н. Размножение скатов семейства Rajidae дальневосточных морей России // Изв. ТИНРО. 1998. Т. 124. С. 495–498.
- Долганов В.Н. Географическое и батиметрическое распространение скатов семейства Rajidae в дальневосточных морях России и сопредельных водах // Вопр. ихтиологии. 1999. Т. 39. № 3. С. 428–430.
- Методическое пособие по изучению питания и пищевых отношений рыб в естественных условиях. М.: Наука. 1974. 254 с.
- Парин Н.В. Рыбы открытого океана. М.: Наука. 1988. 272 с.
- Шунтов В.П. Биология дальневосточных морей России. Владивосток: ТИНРО-центр. 2001. Т. 1. 580 с.
- 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.
- 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.
- 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.

## **A Morphological Description and Biology of Poorly Known Deep-Sea Skates of the Genus *Bathyraja* Ishiyama, 1958 (Rajidae) from the Northwestern Pacific Ocean**

**V. N. Dolganov**

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

A morphological description of the rare deep-sea skates *Bathyraja fedorovi*, *B. andriashevi*, and *B. tzinovskii* from the northwestern Pacific Ocean is presented and data on their biology are considered. The structure of neurocranium, scapulocoracoid, and pterygopodia is described; data on the number of abdominal and caudal vertebrae, rows of teeth, and turns of the spiral valve in the intestine are provided.

*Keywords:* skates, *Bathyraja fedorovi*, *B. andriashevi*, *B. tzinovskii*, Sea of Okhotsk, morphometric data, neurocranium, scapulocoracoid, pterygopodia, dermal denticles, vertebrae, teeth, spiral valve

УДК 597.5/591.4

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВЗРОСЛЫХ САМЦОВ МНОГОШИПОГО КРУГЛОПЕРА *EUMICROTREMUS ASPERRIMUS* (TANAKA, 1912) (CYCLOPTERIDAE) В ЯПОНСКОМ МОРЕ У ПОБЕРЕЖЬЯ СЕВЕРНОГО ПРИМОРЬЯ И ЗАМЕЧАНИЯ О РАЗМНОЖЕНИИ ДАННОГО ВИДА

© 2020 г. В. В. Панченко<sup>1, 2, \*</sup>, А. А. Баланов<sup>2, \*\*</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии, Владивосток 690091, Россия

<sup>2</sup>Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

\*e-mail: vlad-panch@yandex.ru

\*\*e-mail: abalanov@imb.dvo.ru

Поступила в редакцию 07.02.2019 г.

После доработки 10.04.2019 г.

Принята к публикации 30.05.2019 г.

В северном Приморье самцы многошипного круглопера *Eumicrotremus asperrimus* (Tanaka, 1912) без покровного вооружения или с его сильной редукцией встречаются практически вдоль всего побережья. Отсутствие, или сильная редукция покровного вооружения у самцов этого вида является вторичным половым признаком и указывает на то, что они могут принимать участие в размножении. У самцов *E. asperrimus* выделяют три основные стадии процесса размножения: захват нерестового субстрата, собственно нерест и охрана икры. В водах северного Приморья нерест многошипного круглопера проходит в шельфовой зоне в весенне-осенний период с пиком весной. Для нереста наиболее благоприятны глубины 60–100 м; в качестве нерестового субстрата используются мертвые раковины крупных брюхоногих моллюсков. Кладки икры охраняют самцы.

**Ключевые слова:** *Eumicrotremus asperrimus*, *Cyclopteropsis lindbergi*, *C. bergi*, самцы, Приморье, покровное вооружение, распределение, размерный состав, нерестовый сезон

DOI: 10.31857/S0134347520020084

Колючие круглоперы рода *Eumicrotremus*, относящиеся к семейству круглоперовых Cyclopteridae, являются обычными обитателями умеренных и холодных морей Северного полушария (Линдберг, Легеза, 1955; Фадеев, 2005; Соколовский и др., 2007). В российских водах Японского моря встречаются три представителя данного рода: *Eumicrotremus asperrimus*, *E. pacificus* и *E. taranetzi* (см.: Уено, 1970). Из них относительно высокими биомассой и численностью обладает только многошипный круглопер *E. asperrimus* (см.: Соломатов, 2004). В этом районе довольно подробно изучено его сезонное пространственное распределение (Антоненко и др., 2009) и отмечена невысокая численность в уловах половозрелых самцов. В результате последующих экспериментальных (Natano et al., 2015) и генетических (Kai et al., 2015) исследований было установлено, что *C. lindbergi* Soldatov, 1930 и *C. bergi* Роров, 1929, считавшиеся самостоятельными видами рода *Cyclopteropsis*, являются самцами *E. asperrimus*. Говоря о *C. lindbergi*, с подобным выводом нельзя не согласиться, так

как оба вида (*E. asperrimus* и *C. lindbergi*) описаны из Японского моря и их ареалы в пределах этого моря и южной части Охотского моря полностью совпадают. *C. bergi* описан из северной части Охотского моря, где *E. asperrimus* никогда не встречался. Можно предположить, что *C. bergi* является самцом одного из видов рода *Eumicrotremus*, который обитает в северной части Охотского моря. Очевидно, вид из Японского моря и южной части Охотского моря, подходящий под описание *C. bergi*, следует рассматривать как *C. cf. bergi*.

Представители рода *Cyclopteropsis* были обычными видами в донных тралениях в северной части Японского моря и хорошо идентифицировались (Соломатов, 2004; Соколовский и др., 2007). Примерно 70% рыб, относимых к роду *Cyclopteropsis*, определяли как *C. lindbergi*, а остальных — как *C. cf. bergi*. Данное исследование основано на анализе распространения особей, относимых ранее к *C. lindbergi* и *C. cf. bergi*.

Хатано с соавторами (Natano et al., 2015) отмечали, что при достижении возраста 17 мес. самцы

*E. asperrimus* с полным или частичным отсутствием наружного вооружения длиной 63–85 мм *SL* (расчетная длина  $TL = 80–100$  мм) не росли, были агрессивными и боролись за нерестовый субстрат (пустые раковины букцинид), т.е. собирались принять участие в размножении. Сведения об экологии самцов *E. asperrimus* на этом этапе их жизненного цикла отсутствуют.

Цели настоящей работы – описать вертикальное и горизонтальное распределение взрослых самцов *E. asperrimus* и обсудить некоторые аспекты размножения этого вида.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

К взрослым авторы относят самцов *Eumicrotremus asperrimus* с полным или почти полным отсутствием наружного вооружения на разных стадиях процесса размножения: захват нерестового субстрата, собственно нерест и охрана икры. Для определения стадий зрелости гонад гистологические исследования и вскрытия не проводились.

В основу настоящей работы положены материалы, полученные при проведении донных траловых съемок в российских водах Японского моря на судах ТИНРО-Центра. Известно, что *E. asperrimus* в северо-западной части Японского моря обитает преимущественно у побережья северного Приморья на акватории, ограниченной на юго-западе мысом Поворотный, а на северо-востоке – мысом Золотой (Антоненко и др., 2009). В связи с этим для исследования закономерностей распространения взрослых самцов *E. asperrimus* анализировали данные, полученные на акватории северного Приморья (рис. 1). В работе использовали результаты донных тралений на шельфе и материковом склоне на глубине от 10 до 935 м в конце марта – в начале декабря в 2004–2018 гг. Ловы производили донным тралом ДТ/ТВ 27.1/24.4 с мягким грунтопом с горизонтальным раскрытием 15–16 м и с мелкочейной вставкой в кутце 10 мм. Скорость тралений варьировала от 2.2 до 3.5 узла (в среднем составляла 2.8 узла). Проанализированы данные 1919 тралений, большая часть которых (1778) сопровождалась измерением придонной температуры воды. Всего промерено ( $TL$ ) 463 особи. При проведении массовых промеров точность измерений составляла 1.0 см, при промерах единичных особей – 0.1 см. Частоту встречаемости определяли как отношение числа результативных тралений к их общему числу в определенном батиметрическом интервале и выражали в процентах. Уловы рыб пересчитывали на плотность по формуле:

$$P = B/S,$$

где  $P$  – плотность, экз./км<sup>2</sup>;  $B$  – улов, экз.;  $S$  – площадь траления, км<sup>2</sup>.

При анализе сезонного распределения *E. asperrimus* гидрологические сезоны определяли по классификации Зуенко (1994), согласно которой зимний период включал январь и февраль, весенний – март и апрель, летний – июнь–сентябрь, осенний – ноябрь и декабрь. Май являлся переходным месяцем между весенним и летним сезонами, октябрь – между летним и осенним. Поскольку распределение донных рыб у побережья северного Приморья в мае ближе к таковому весной (Соломатов, 2004), этот месяц относили к весеннему сезону. В октябре исследования проводились только во второй половине месяца, что позволило отнести его к осеннему периоду. Согласно данной классификации, большинство положенных в основу работы тралений (1264) было выполнено в весенний период. В летний период проведено 494 траления, в осенний – 161.

Анализ пространственного распределения выполнен с использованием программного пакета CHARTMASTER. Карта распределения построена с помощью метода сплайн-аппроксимации при коэффициенте сглаживания, равном 1.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ пространственного распределения взрослых самцов *Eumicrotremus asperrimus* показал, что места их скоплений довольно стабильны. У побережья северного Приморья такие самцы встречались практически повсеместно, а наиболее высокие концентрации зарегистрированы на северо-востоке и на юго-западе исследованного района. Локальные пятна меньшей плотности отмечены и на некоторых других участках (рис. 1).

Наиболее узким батиметрический диапазон обитания взрослых самцов был в период гидрологического лета. В это время они встречались на глубине от 65 до 128 м. Частота встречаемости рыб была наиболее высокой на глубинах 60–80 и 80–100 м, с увеличением глубины она снижалась (рис. 2а). Подобная закономерность прослеживалась и для средней плотности (рис. 2б). Осенью и весной, как и в летний период, взрослые самцы *E. asperrimus* концентрировались в основном на глубине 60–100 м, однако батиметрический диапазон их обитания был более широким (рис. 2). Осенью минимальная глубина обнаружения рыб, как и летом, составляла 65 м, а максимальная достигала 241 м. Весной расширение батиметрического диапазона обитания взрослых самцов происходило преимущественно в область малых глубин (до 25 м); максимальная глубина их обитания составляла 162 м. В весенний период плотность и частота встречаемости *E. asperrimus* были выше, чем в осенний и летний периоды (рис. 2).

Температура воды при поимках взрослых самцов многошипого круглопера изменялась от –1.0 до 4.4°C, при этом на глубинах их обитания тем-

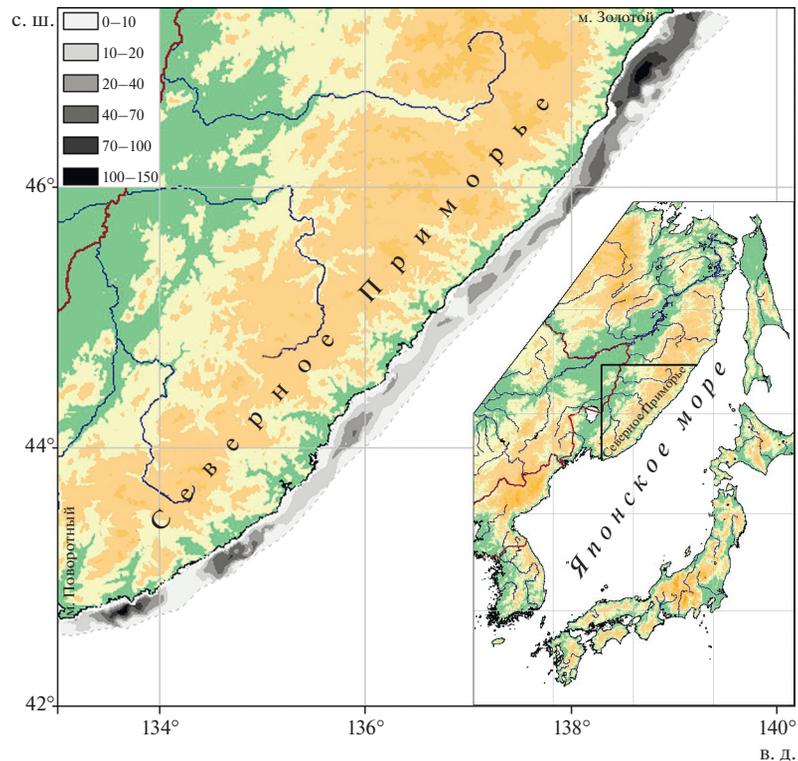


Рис. 1. Район работ и пространственное распределение (экз./км<sup>2</sup>) взрослых самцов *Eumicrotremus asperimus* у побережья северного Приморья в весенне-осенний период.

температура воды в весенний период колебалась от  $-1.2$  до  $4.6^{\circ}\text{C}$ , в летний — от  $1.1$  до  $4.9^{\circ}\text{C}$ , в осенний — от  $0.8$  до  $3.3^{\circ}\text{C}$ . Весной взрослые самцы встречались при температуре от  $-0.1$  до  $3.5^{\circ}\text{C}$ ; при отрицательных значениях температуры отмечена более высокая частота их встречаемости (табл. 1). Летом в результате прогрева воды минимальная температура при поимке взрослых самцов составляла  $1.1^{\circ}\text{C}$ , а максимальная достигала  $4.4^{\circ}\text{C}$  и была приурочена к самой меньшей глубине —  $65$  м. В остальных тралениях температура воды не превышала  $2.6^{\circ}\text{C}$ . Осенью взрослые самцы концентрировались в узком температурном диапазоне  $2.6-3.3^{\circ}\text{C}$ ; зарегистрирована поимка самца на глубине  $241$  м при температуре  $0.9^{\circ}\text{C}$  (табл. 1).

Минимальная длина тела взрослых самцов *E. asperimus* составляла  $5.0$  см *TL*, максимальная —

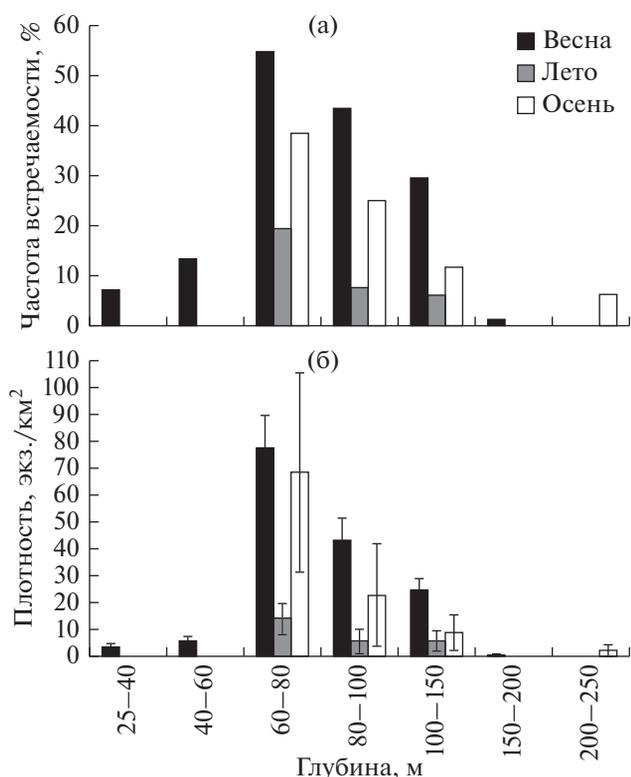
$9.0$  см (табл. 2). До настоящего времени считали, что в естественных условиях максимальный размер самцов, относимых ранее к *Cyclopteroopsis lindbergi* и *C. cf. bergi*, не превышает  $7$  см *TL* (Линдберг, Красюкова, 1987; Новиков и др., 2002). Особи с минимальными и максимальными размерами встречались в весенний период. Летом размер рыб варьировал от  $5.5$  до  $7$  см, осенью — от  $5.2$  до  $7.5$  см *TL*.

Весной самцы с минимальными размерами (около  $5$  см *TL*) встречались на всех исследованных глубинах, за исключением глубин более  $150$  м. Рыбы с максимальными размерами были пойманы на глубинах  $40-60$  и  $60-80$  м (табл. 2), причем в первом диапазоне глубины средний размер пойманных рыб был выше. При уменьшении или увеличении глубины прослеживалась тенденция

Таблица 1. Частота встречаемости (%) взрослых самцов *Eumicrotremus asperimus* у побережья северного Приморья в зависимости от придонной температуры воды в разные сезоны

Сезон	Температура, °C										
	-1...-0.5	-0.5-0	0-0.5	0.5-1	1-1.5	1.5-2	2-2.5	2.5-3	3-3.5	3.5-4	4-4.4
Весна	54.5	44.4	33.3	22.4	29.8	38.7	16.7	13.5	16.0	0	0
Лето	—	—	—	—	33.3	7.1	8.6	33.3	0	0	33.3
Осень	—	—	—	33.3	0	0	0	77.8	50.0	—	—

Примечание. "—" — данные отсутствуют.



**Рис. 2.** Частота встречаемости (а) и средняя плотность (б) взрослых самцов *Eumicrotremus asperrimus* в северном Приморье в весенний, летний и осенний сезоны. Вертикальная линия – ошибка средней.

к снижению среднего размера рыб, однако на глубине 100–150 м длина рыб увеличивалась. Длина пойманной на глубине 200–250 м особи составляла около 8 см. Летом во всех трех диапазонах глубин, где встречались взрослые самцы *E. asperrimus*, их минимальный и максимальный размеры были схожими, а средняя длина рыб с глубиной несколько увеличивалась (табл. 2). В осенний период самые мелко- и крупноразмерные особи были

пойманы на глубине 60–80 м; средний размер рыб до 150-метровой изобаты возрастал. Длина пойманной на глубине 200–250 м особи составляла 6 см (табл. 2).

Самки многошипного круглопера откладывали икру в полость пустых раковин букцинид. Взрослые самцы, охранявшие кладки икры, встречались во все сезоны. Так, например, 9 апреля 2007 г. на глубине 100 м был пойман самец без покровного вооружения длиной 67 мм *TL* (52 мм *SL*). Он прочно присосался к устью пустой раковины брюхоногого моллюска *Neptunea lyrata* (Gmelin, 1979), закрыв собой находящуюся внутри кладку развивающейся икры (рис. 3). Следует отметить, что самец остался “на посту” и после вытряхивания улова на палубу. Однако, по-видимому, не всем самцам удается удержаться в раковине после захвата их тралом. Например, 5 апреля 2009 г. при разборе тралового улова с глубины 36 м была найдена раковина с кладкой развивающейся икры без самца. Взрослые самцы встречались и в пустых раковинах без икры. Так, 4 июля 2007 г. при разборе тралового улова с глубины 128 м были обнаружены три взрослых самца *E. asperrimus* 6–7 см *TL*, один из которых находился в раковине с кладкой икры, второй – в пустой раковине, а третий – без раковины; 4 ноября 2010 г. на глубине 75 м в раковинах букцинид с отложенной икрой было обнаружено несколько самцов длиной 5–6 см *TL*.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Полученные сведения о пространственном распределении и температурных условиях обитания взрослых самцов *Eumicrotremus asperrimus* у побережья северного Приморья в общем совпадают с опубликованными данными (Антоненко и др., 2009), за исключением информации о глубинах его наиболее плотных скоплений. По данным Антоненко с соавторами (2009) основные концентрации *E. asperrimus* были приурочены к

**Таблица 2.** Минимальные (min), максимальные (max) и средние (*M*) размеры (см) взрослых самцов *Eumicrotremus asperrimus* в уловах донного трала на разной глубине у побережья северного Приморья в исследованные сезоны

Глубина, м	Весна					Лето					Осень				
	min	max	<i>M</i>	±	<i>n</i>	min	max	<i>M</i>	±	<i>n</i>	min	max	<i>M</i>	±	<i>n</i>
25–40	5.0	7.5	5.9	0.26	13	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
40–60	5.0	9.0	6.9	0.21	15	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
60–80	5.1	9.0	6.0	0.04	205	5.5	6.8	5.8	0.18	13	5.2	7.5	5.7	0.10	25
80–100	5.0	7.6	5.9	0.06	84	5.6	7.0	6.3	0.38	4	5.3	6.7	6.0	0.20	6
100–150	5.2	7.7	6.1	0.07	82	5.5	7.0	6.4	0.26	8	5.5	6.5	6.3	0.15	6
150–200	8.0	8.0	8.0	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
200–250	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6.0	6.0	6.0	–	1

Примечание. “±” – ошибка средней; *n* – количество измеренных экземпляров.

глубинам 100–300 м. Между тем нами показано, что в летне-осенний период взрослые самцы концентрировались на глубинах 60–100 м. Необходимо отметить, что Антоненко с соавторами (2009) как *E. asperrimus* определяли только полностью ошипленных особей. Признак сильного и плотного ошипления является одним из характерных для этого вида (Линдберг, Легеза, 1955; Ueno, 1970; Линдберг, Красюкова, 1987). Экспериментальные данные Хатано с соавторами (Hatano et al., 2015) позволили понять, что материал, использованный в работе Антоненко с соавторами (2009), состоял из самок всех возрастов и неполовозрелых самцов. Весной в траловых уловах самок было больше, чем самцов, и практически все самцы были незрелыми. Сходная картина наблюдалась и в северной Атлантике у *Eumicrotremus spinosus*, когда самок в траловых уловах было больше, чем самцов (Berge, Nahrgang, 2013). Очевидно, это различие в распределении связано с тем, что взрослые самцы концентрируются в районах, где будет проходить размножение, которые не совпадают с районами нагула самок и незрелых самцов.

Биология *E. asperrimus* изучена очень слабо. Сообщалось, что в северной части Японского моря у этого вида нерест летний (Новиков и др., 2002) или весенне-летний (Ueno, 1979; Антоненко и др., 2009). Анализ информации о пространственном и сезонном распределении взрослых самцов *E. asperrimus* позволяет высказать предположение об основных районах, о сезоне и глубинах нереста данного вида. Известно, что самцы *E. asperrimus* с частичной или полной потерей ошипления готовятся к размножению и могут принять участие в нересте (Hatano et al., 2015). Среди внешне неразличимых взрослых самцов могут быть самцы, захватывающие нерестовый субстрат (пойманные в пустых раковинах самцы явно занимали нерестовые участки в ожидании подхода самок), нерестящиеся и охраняющие икру.

На основе данных о распространении взрослых самцов сложно судить о том, какие из них находятся в нерестовом состоянии, поскольку занимать нерестовые участки (и попадать в тралы) они могут задолго до нереста. Например, самцы атлантического пинагора *Cyclopterus lumpus* приходят в районы нерестилищ на месяц раньше самок (Goulet et al., 1986; Кудрявцева, 2008). Однако, судя по тому, что охранявшие кладки самцы *E. asperrimus* встречались в весенний, летний и осенний сезоны, нерест у этого вида с различной интенсивностью проходит в весенне-осенний период. Уточнить сведения о продолжительности нерестового периода и его интенсивности в разные месяцы могли бы данные о преднерестовых и нерестовых самках. Данных о конкретном периоде поимки нерестовых самок *E. asperrimus* (диаметр икры 3–4 мм, высокий гонадосоматический индекс) в Японском море (да и на всем ареале)



Рис. 3. Половозрелый самец *Eumicrotremus asperrimus* на охране кладки икры. Нерестовый субстрат – раковина брюхоногого моллюска *Neptunea lyrata* (Gmelin, 1979).

очень мало. Уэно (Ueno, 1970) сообщал о поимке в середине мая в районе прол. Лаперуза четырех крупных самок со зрелыми ооцитами; максимальный диаметр (4 мм) был определен у самки 89 мм *SL*. В Татарском проливе в апреле–мае 2007 г. были пойманы самки в преднерестовом состоянии с диаметром икры до 3 мм и с гонадосоматическим индексом до 90% (Антоненко и др., 2009). Об одной половозрелой (?) самке 80 мм *SL*, пойманной 29 июня 1932 г., сообщали Линдберг и Легеза (1955). Информация об обнаружении самок *E. asperrimus* со зрелой икрой в осенний и зимний периоды отсутствует.

В северо-западном районе Японского моря гидрологической весной (март–май) уловы взрослых самцов *E. asperrimus* были максимальными (рис. 2), а их размерный состав самым широким (табл. 2). В этот же период встречались наиболее зрелые самки данного вида. Полученные сведения позволяют предположить, что основной нерест *E. asperrimus* в этом районе, по-видимому, проходит в марте–мае преимущественно на глубине 60–100 м. Анализ пространственного распределения взрослых самцов *E. asperrimus* свидетельствует о том, что у побережья Приморья имеется два основных нерестилища: севернее мыса Поворотный и южнее мыса Золотой (рис. 1).

При массовом нересте в весенний период логично предположить, что созревание и, соответственно, утрата наружного вооружения у самцов *E. asperrimus* происходят преимущественно в предшествующий холодный период, т.е. осенью и зимой. В пользу этого предположения свидетельствует информация о сезонной динамике размерного состава, встречаемости и уловах. Характерен “провал” данных о встречаемости и плотности уловов взрослых самцов *E. asperrimus* в летний период, когда эти показатели были минимальными (рис. 2). При основном весеннем нересте такая

ситуация могла сложиться только при гибели нерестовых самцов после вылупления мальков и при слабом или остаточном (самец начал охранять икру еще весной) нересте летом. В этом случае относительно высокие уловы взрослых самцов *E. asperrimus* в ноябре–декабре можно объяснить подходом созревающих рыб следующего года нереста. В осенний период отдельные взрослые самцы были обнаружены на глубине 200–250 м, что, возможно, показывает, откуда подходят к нерестилищам созревающие особи.

По результатам аквариальных наблюдений, у самцов *E. asperrimus* метаморфоз завершается (после этого прекращается их рост) приблизительно в возрасте полутора лет (Natano et al., 2015). Минимальная длина особей к этому времени составляет 6.3 см *SL*, максимальная – 8.5 см *SL*, что по расчетным данным соответствует 8 и более 10 см *TL*. Однако при содержании в аквариуме из-за равномерного кормления и более высокой температуры воды (6–10°C) рыбы растут быстрее, чем в природных условиях. Минимальный и максимальный размер взрослых самцов *E. asperrimus* в естественных условиях гораздо меньше (табл. 2).

Самцы с максимальными размерами (до 9 см) встречались в весенний период, их отсутствие в другие сезоны можно объяснить гибелью после нереста. Гибель большинства самцов после нереста описана для *Aptocyclus ventricosus* (Ульченко, Орлов, 2001; Zhukova et al., 2018). Невысокий уровень посленерестового возврата меток (всего 10%) *C. lumpus* в водах Исландии может быть вызван высокой смертностью особей обоих полов после нереста (Kasper et al., 2014). Исходя из опубликованных данных, смертность самок *E. asperrimus* также может быть высокой. Вероятно, именно этим обусловлена низкая численность самок *E. asperrimus* старших возрастов (Антоненко и др., 2009).

В юго-восточной части Японского моря у побережья о-ва Хонсю (Япония) нерест *E. asperrimus* зарегистрирован и в глубоководной зоне. В октябре с глубины 340 м были подняты три кладки этого вида (диаметр икринок 4.3–4.7 мм), из которых после инкубации было получено потомство (Natano et al., 2015). Глубоководный нерест *E. asperrimus*, вероятно, связан с особенностями гидрологии в этой части Японского моря. В данном районе на глубинах до 200 м температура воды слишком высокая (Лучин, 2007), поэтому виды бореального комплекса опускаются на большие глубины, чем в северной части моря (Nishimura, 1966, 1968; Савельев и др., 2014).

Известно, что в качестве нерестового субстрата *E. asperrimus* использует пустые раковины букцинид (Natano et al., 2015). Нами также были обнаружены самцы *E. asperrimus*, охранявшие кладки икры, отложенные в раковины крупных букцинид, в частности, *Neptunea lyrata* (рис. 3). Судя по распределению живых моллюсков (Репина и др., 2011), в северной части исследованного района

многошипый круглопер в качестве нерестового субстрата должен использовать преимущественно раковины *Vuccinum bayani* (Jousseam, 1883), а в южной части – раковины массовых видов рода *Neptunea*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение отметим, что принимающие участие в размножении самцы *Eumicrotremus asperrimus* в северном Приморье встречаются практически вдоль всего побережья, а их наиболее высокие концентрации формируются на северо-востоке и на юго-западе исследованного района. В летне-осенний период скопления самцов этого вида зарегистрированы на глубинах 60–100 м.

Отсутствие покровного вооружения или его сильная редукция у самцов *E. asperrimus* являются вторичным половым признаком, указывающим на то, что самцы могут принять участие в размножении. Выделены следующие стадии процесса размножения у самцов *E. asperrimus*: захват нерестового субстрата, собственно нерест и охрана икры. У побережья северного Приморья имеется два основных нерестилища многошипного круглопера: севернее мыса Поворотный и южнее мыса Золотой. Нерест *E. asperrimus* проходит в шельфовой зоне в весенне-осенний период с пиком весной; время икрометания связано с наличием слабopоложительной температуры воды. Для нереста *E. asperrimus* наиболее благоприятны глубины около 60–100 м; в качестве нерестового субстрата рыбы используют мертвые раковины крупных брюхоногих моллюсков. Кладки оплодотворенной икры охраняют самцы.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем искреннюю признательность В.В. Гульбину (ННЦМБ ДВО РАН) за определение раковины брюхоножного моллюска, а также благодарность за помощь в сборе материала сотрудникам ТИПРО-Центра Д.В. Антоненко, С.Ф. Соломатову, П.В. Калчугину и М.И. Бойко.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Антоненко Д.В., Пуцина О.И., Соломатов С.Ф. Сезонное распределение и некоторые черты биологии многошипного круглопера *Eumicrotremus asperrimus* (Cyclopteridae, Scorpaeniformes) в северо-западной

- части Японского моря // *Вопр. ихтиологии*. 2009. Т. 49. № 5. С. 693–700.
- Зуенко Ю.И. Типы термической стратификации вод на шельфе Приморья // *Комплексные исследования морских гидробионтов и условий их обитания*. Владивосток: ТИНРО. 1994. С. 20–39.
- Кудрявцева О.Ю. Пинагор Баренцева моря и сопредельных вод. М.: Наука. 2008. 164 с.
- Линдберг Г.У., Красюкова З.В. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей. Л.: Наука. 1987. Ч. 5. 526 с.
- Линдберг Г.У., Легеза М.И. Обзор родов и видов рыб подсемейства Cyclopterinae (Pisces) // *Тр. ЗИН АН СССР*. 1955. Т. 18. С. 389–458.
- Лучин В.А. Сезонная изменчивость температуры воды в деятельном слое дальневосточных морей // *Дальневосточные моря России*. Кн. 1: Океанологические исследования. М.: Наука. 2007. С. 232–252.
- Новиков Н.П., Соколовский А.С., Соколовская Т.Г., Яковлев Ю.М. Рыбы Приморья. Владивосток: Дальрыбвтуз. 2002. 552 с.
- Репина Е.М., Зуенко Ю.И., Седова Л.Г. Распределение брюхоногих моллюсков сем. Vucsinidae на шельфе и в верхней батииали вод Приморья (Японское море) // *Изв. ТИНРО*. 2011. Т. 165. С. 74–88.
- Савельев П.А., Баланов А.А., Калчугин П.В. и др. Пространственное распределение и термический режим обитания двух представителей рода *Lycodes* (Perciformes, Zoarcidae) в российских водах Японского моря // *Вопр. ихтиологии*. 2014. Т. 54. № 1. С. 32–42.
- Соколовский А.С., Дударев В.А., Соколовская Т.Г., Соломатов С.Ф. Рыбы российских вод Японского моря: аннотированный и иллюстрированный каталог. Владивосток: Дальнаука. 2007. 200 с.
- Соломатов С.Ф. Характеристика ихтиофауны морских вод северного Приморья Японское море // *Изв. ТИНРО*. 2004. Т. 138. С. 205–219.
- Ульченко В.А., Орлов А.М. Ихтиофауна литорали охотоморского побережья о. Уруп (Курильские острова) // *Тез. междунаrod. конф. по биологическим основам устойчивого развития прибрежных морских экосистем*. Мурманск: ПИНРО. 2001. С. 245–247.
- Фадеев Н.С. Справочник по биологии и промыслу рыб северо-западной части Тихого океана. Владивосток: ТИНРО-Центр. 2005. 366 с.
- Berge J., Nahrgang J. The Atlantic spiny lumpsucker *Eumicrotremus spinosus*: life history traits and the seemingly unlikely interaction with the pelagic amphipod *Themisto libellula* // *Pol. Polar Res.* 2013. V. 34. № 3. P. 279–287.
- Goulet D., Green J.M., Shear T.H. Courtship, spawning, and parental care behavior of the lumpfish, *Cyclopterus lumpus* L., in Newfoundland // *Can. J. Zool.* 1986. V. 64. № 6. P. 1320–1325.
- Hatano M., Abe T., Wada T., Munehara H. Ontogenetic metamorphosis and extreme sexual dimorphism in lump-suckers: *Eumicrotremus asperimus*, *Cyclopteropsis bergi* and *Cyclopteropsis lindbergi*, may be synonymous // *J. Fish Biol.* 2015. V. 86. № 3. P. 1121–1128.
- Kai Y., Stevenson D.E., Ueda Y. et al. Molecular insights into geographic and morphological variation within the *Eumicrotremus asperimus* species complex (Cottoidei: Cyclopteridae) // *Ichthyol. Res.* 2015. V. 62. № 4. P. 396–408.
- Kasper J.M., Bertelsen B., Ólafsson H.G. et al. Observations of growth and postspawning survival of lumpfish *Cyclopterus lumpus* from mark-recapture studies // *J. Fish Biol.* 2014. V. 84. № 6. P. 1958–1963.
- Nishimura S. The zoogeographical aspects of the Japan Sea. Part III // *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 1966. V. 13. № 5. P. 365–384.
- Nishimura S. The zoogeographical aspects of the Japan Sea. Part IV // *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 1968. V. 15. № 5. P. 329–352.
- Zhukova K., Maznikova O.A., Orlov A.M. Gonadal maturation of the female smooth lumpsucker (*Aptocyclus ventriosus*) // *Fish. Bull.* 2018. V. 116. № 2. P. 153–160.
- Ueno T. Fauna Japonica: Cyclopteridae (Pisces). Tokyo: Acad. Press Japan. 1970. 233 p.

## Distribution of Adult Males of the Siberian Lumpsucker *Eumicrotremus asperimus* (Tanaka, 1912) (Cyclopteridae) off the Northern Primorsky Krai Coast, Sea of Japan, and Remarks on Reproduction of This Species

V. V. Panchenko<sup>a, b</sup> and A. A. Balanov<sup>b</sup>

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

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

In northern Primorsky Krai, male Siberian lumpsuckers, *Eumicrotremus asperimus* (Tanaka, 1912), with much reduced or lacking bony tubercles occur almost all along the coastline. The lack or significant reduction of bony tubercles in males is a secondary sexual characteristic of this species indicating that such males can participate in breeding. Three main stages are distinguished in the breeding cycle of male *E. asperimus*: occupation of a spawning substrate, spawning proper, and guarding of eggs. In waters off northern Primorsky Krai, *E. asperimus* spawn in the shelf zone during spring and autumn, with a peak in spring. The most favorable depths for spawning are from 60 to 100 m. The fish use abandoned shells of large gastropods as the spawning substrate. Clutches of fertilized eggs are guarded by males.

**Keywords:** *Eumicrotremus asperimus*, *Cyclopteropsis lindbergi*, *C. bergi*, males, Primorsky Krai, bony tubercles, distribution, size composition, spawning season

УДК 591.69-7(597)

## ПАРАЗИТЫ МЕЛКИХ РЫБ-КОРАЛЛОБИОНТОВ, ВЕДУЩИХ СКРЫТНЫЙ ОБРАЗ ЖИЗНИ

© 2020 г. А. Е. Жохов<sup>1</sup>\*, М. Н. Пугачева<sup>1</sup>, Ха Во Тхи<sup>2</sup>, В. Н. Михеев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок 152742, Россия

<sup>2</sup>Российско-вьетнамский тропический центр, Нячанг, Вьетнам

<sup>3</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва 119071, Россия

\*e-mail: aezhokhov@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.01.2019 г.

После доработки 12.09.2019 г.

Принята к публикации 03.10.2019 г.

В апреле–мае 2012–2014 гг. и в ноябре 2017 г. 61 экз. восьми видов рыб-кораллобионтов (*Caracanthus maculatus*, *Scorpaenodes* sp., *Sebastapistes cyanostigma*, *Gobiodon unicolor*, *Paragobiodon modestus*, *P. echinocephalus*, *Pseudocheilinus hexataenia*, *Halichoeres* sp.) исследовали на зараженность паразитами. Данные виды рыб являются симбионтами кораллов родов *Acropora* и *Pocillopora*. Обнаружены следующие паразиты рыб: нематоды *Procamallanus istiblenii*, *Raphidascaris* (?) sp. и *Ascarophis* sp., личинка цестоды *Nybelinia* sp., а также метацеркарии трематод *Stephanostomum* sp. 1, *Stephanostomum* sp. 2 и *Trematoda* gen. sp. Невысокие показатели зараженности рыб и разнообразия паразитов можно объяснить низкой численностью популяций рыб-хозяев, их эффективной индивидуальной защитой и хищничеством кораллов, уничтожающих расселительные стадии паразитов.

**Ключевые слова:** паразиты, *Stephanostomum*, *Nybelinia*, *Ascarophis*, рыбы, симбионты, склерактиниевые кораллы, Южно-Китайское море, Вьетнам

DOI: 10.31857/S0134347520020126

Коралловые рифы представляют собой область очень высокого биологического разнообразия. Так, количество видов рыб, обитающих в водах Индо-Тихоокеанского региона, может достигать 5 тыс. (Allen, Erdmann, 2012). Паразитические организмы являются неотъемлемой частью фауны. Оценка видового состава отдельных групп паразитов рыб в данном регионе показала их высокое разнообразие (Cribb et al., 2016). Основное внимание при изучении паразитов уделяется крупным видам рыб, имеющим промысловое значение, при этом указано на очень слабую изученность паразитов непромысловых видов рыб (Cribb et al., 2016). Многие маленькие коралловые рыбы ранее вообще не были объектом исследований паразитологов.

В некоторых семействах рыб, обитающих среди кораллов, имеются очень мелкие виды, ведущие скрытный образ жизни. Из скорпеновых (Scorpaenidae) к ним относятся *Scorpaenodes brocki* (Schultz, 1966) с длиной тела взрослых рыб 5 см и *Sebastapistes strongia* (Cuvier, 1829) с длиной тела 6 см. В близком семействе Caracanthidae у всех рыб рода *Caracanthus* длина тела не превышает 5 см (Kuiter, Tono-zuka, 2001a). В семействе Labridae имеются мелкие представители родов *Wetmorella*

(5–6 см), *Pseudocheilinus* – *P. hexataenia* (Bleeker, 1857) (8 см) и *Halichoeres* (10–12 см) (Kuiter, Tono-zuka, 2001b). Среди бычковых рыб (семейство Gobiidae) особую группу составляют виды, обитающие среди ветвей кораллов. По сравнению с бычками, живущими на мягких грунтах, на песке и среди камней, бычки-кораллобионты – это самые мелкие виды, длина тела которых не превышает 4 см (роды *Gobiodon*, *Paragobiodon*, *Bryaninops*, *Eviota*) (см.: Kuiter, Tono-zuka, 2001c).

Некоторые из перечисленных рыб являются облигатными симбионтами склерактиниевых кораллов родов *Acropora* и *Pocillopora*, в колониях которых эти рыбы-инбионты после оседания личинок из планктона проводят всю жизнь и живут парами. Внутри колонии кораллов они находят пищу, места для размножения и выращивания молоди, а также укрываются от хищников. Биология и экология данных видов рыб изучены слабо, а информация о паразитах практически отсутствует.

Интерес к паразитам как к фактору, который наряду с хищниками служит одним из основных регуляторов численности популяций, постоянно растет (Raffel et al., 2008). Учитывая очень низкую численность ведущих скрытный образ жизни

**Таблица 1.** Размер и общие показатели зараженности рыб-инбионтов гельминтами

Семейство	Вид рыбы	<i>N</i>	<i>SL</i> ± <i>SD</i>	<i>SL</i> (min–max)
Caracantidae	<i>Caracanthus maculatus</i> (Gray, 1831)	8	3.9 ± 0.23	3.6–4.3
Scorpaenidae	<i>Scorpaenodes</i> sp.	8	3.6 ± 0.59	3–4.7
	<i>Sebastapistes cyanostigma</i> (Bleeker, 1856)	7	3.7 ± 1.59	2.4–6.0
Gobiidae	<i>Gobiodon unicolor</i> (Castelnau, 1873)	15	2.0 ± 0.68	1.2–3.0
	<i>Paragobiodon modestus</i> (Regan, 1908)	2	3.0 ± 0	3
	<i>P. echinocephalus</i> (Rüppell, 1830)	5	2.3 ± 0.08	2.2–2.4
Labridae	<i>Pseudocheilinus hexataenia</i> (Bleeker, 1857)	12	3.76 ± 1.07	1.6–5.2
	<i>Halichoeres</i> sp.	4	3.7 ± 0.73	2.8–4.5

Примечание. *N* – выборка рыб; *SL* – стандартная длина рыб, см (среднее ± *SD*).

рыб-кораллобионтов, можно предположить, что при высокой зараженности относительная роль паразитов может быть выше, чем роль хищников. Для проверки этого предположения необходимы специальные исследования экологической роли паразитов, в первую очередь их разнообразия и обилия.

Цели настоящей работы – изучение разнообразия паразитов и оценка зараженности ими мелких рыб-кораллобионтов.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал собирали в апреле–мае 2012–2014 гг. и в декабре 2017 г. в бухте Дамбай о-ва Че (12°11'26" с.ш., 109°17'47" в.д., Южно-Китайское море, Вьетнам) с помощью легководолазного снаряжения на глубине от 3 до 8 м. Отдельно расположенные колонии кораллов *Acropora* и *Pocillopora* накрывали планктонной сетью, отламывали от субстрата и поднимали в лодку. Колонии помещали в резервуар с морской водой, разделяли на отдельные фрагменты и собирали рыб. В дальнейшем фрагменты кораллов использовали для выращивания колоний на искусственных субстратах. Всего за 5 лет было исследовано 55 колоний кораллов, в которых найден 61 экз. рыб восьми видов (семейства Caracantidae, Scorpaenidae, Gobiidae, Labridae). Небольшой объем выборки рыб обусловлен тем, что они встречались не в каждой колонии кораллов. Морфологическая идентификация рыб выполнена с использованием современной литературы (Kuitert, Tonozuka, 2001b, c). У всех рыб измеряли стандартную длину тела (*SL* ± стандартное отклонение, *SD*) (табл. 1).

На наличие паразитов исследовали поверхность тела, жабры, глаза, головной мозг, брюшную полость, пищеварительный тракт и мышцы рыб. Зараженность рыб оценивали по следующим параметрам: экстенсивность инвазии (%), индекс обилия и интенсивность инвазии. Личинок трематод фиксировали 70% этанолом, личинок нематод – 4% формалином. Трематод и цестод

окрашивали квасцовым кармином, обезвоживали в спиртах, просветляли в диметилфталате и монтировали в канадский бальзам. Нематод просветляли в глицерине для изучения на временных препаратах. Червей измеряли на тотальных и временных препаратах. Препараты хранятся в Коллекции паразитов Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Россия.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего в изученной группе рыб-инбионтов обнаружено семь таксонов гельминтов: метацеркарии трематод семейства Acanthocolpidae (*Stephanostomum* sp. 1 и *Stephanostomum* sp. 2), метацеркарии Trematoda gen. sp., нематоды *Procamallanus istiblenii*, *Ascarophis* sp., личинка III *Raphidascaris* (?) sp. и личинка цестоды *Nybelinia* sp. (табл. 2). Поскольку пойманных рыб впервые исследовали на зараженность паразитами, ниже приведено описание найденных паразитов. Идентифицировать метацеркарий Trematoda gen. sp. оказалось невозможно из-за очень мелких размеров и плохой сохранности материала.

### Класс Cestoda

#### Семейство Tentaculariidae Poche, 1926

##### *Nybelinia* sp., личинка (plerocercus) (рис. 1а, 3г)

Исследованный материал: одна инкапсулированная личинка из мезентерия *Scorpaenodes* sp. Препарат № 7/460. Сколекс удлинённый, почти прямоугольной формы, апикальная часть горизонтальная, общая длина 0.918 мм, длина без заднего отростка 0.693 мм, максимальная ширина 0.306 мм на уровне ботридий. Имеются четыре широкие ботридии в форме лепестков длиной 0.492–0.495 мм; они занимают более половины общей длины личинки. Края ботридий покрыты очень мелкими шипиками. Из сколекса выходят четыре хоботка, вооруженные крючьями; их длина 0.154–0.198 мм, ширина у основания 0.055 мм,

**Таблица 2.** Общая (2012–2017 гг.) зараженность рыб-инбионтов некоторыми видами гельминтов в бухте Дамбай о-ва Че

Вид рыбы: паразит	Локализация	ЭИ	ИО	ИИ
<i>Caracanthus maculatus</i> :				
<i>Spirocamallanus istiblenii</i>	Кишечник	1/8	0.13 ± 0.35	1
<i>Raphidascaris</i> (?) sp.	Печень	1/8	0.25 ± 0.46	1
<i>Stephanostomum</i> sp. 2	Мезентерий	1/8	0.13 ± 0.35	1
Trematoda gen. sp.	Жабры	2/8	0.25 ± 0.71	2
<i>Scorpaenodes</i> sp.:				
<i>Nybelinia</i> sp.	Мезентерий	1/8	0.13 ± 0.35	1
<i>Spirocamallanus istiblenii</i>	Кишечник	1/8	0.13 ± 0.35	1
<i>Ascarophis</i> sp.	Желудок	2/8	0.25 ± 0.46	1
Trematoda gen. sp.	Жаберная крышка	2/8	1.13 ± 2.1	4–5
<i>Sebastapistes cyanostigma</i>	–	0	0	0
<i>Gobiodon unicolor</i> :				
Trematoda gen. sp.	Жабры	7.67	0.07 ± 0.26	1
<i>Paragobiodon echinocephalus</i> :				
<i>Stephanostomum</i> sp. 1	Мезентерий	1/5	0.2 ± 0.45	1
<i>Paragobiodon modestus</i>	–	0	0	0
<i>Pseudocheilinus hexataenia</i> :				
<i>Procamallanus istiblenii</i>	Кишечник	1/12	0.08 ± 0.29	1
Trematoda gen. sp.	Мышцы, плавники, жабры	4/12	1.08 ± 2.35	1–8
<i>Halichoeres</i> sp.:				
Trematoda gen. sp.	Жабры	1/4	0.25 ± 0.5	1

Примечание. ЭИ – экстенсивность инвазии, % или количество зараженных (перед чертой) из числа исследованных; ИО – индекс обилия ± стандартное отклонение; ИИ – интенсивность инвазии.

у вершины 0.024 мм. Длина хоботковых влагалищ 0.474–0.480 мм; они прямые, не перекрещиваются и заканчиваются широкими бульбами в форме боба, 0.167–0.169 × 0.088–0.103 мм. Тело оканчивается коротким задним отростком длиной 0.225 мм; длина покрывающего паруса (velum) 0.143 мм. Длина крючков на вершине хоботка 0.011 мм, в середине хоботка 0.009 мм, у основания – 0.004 мм.

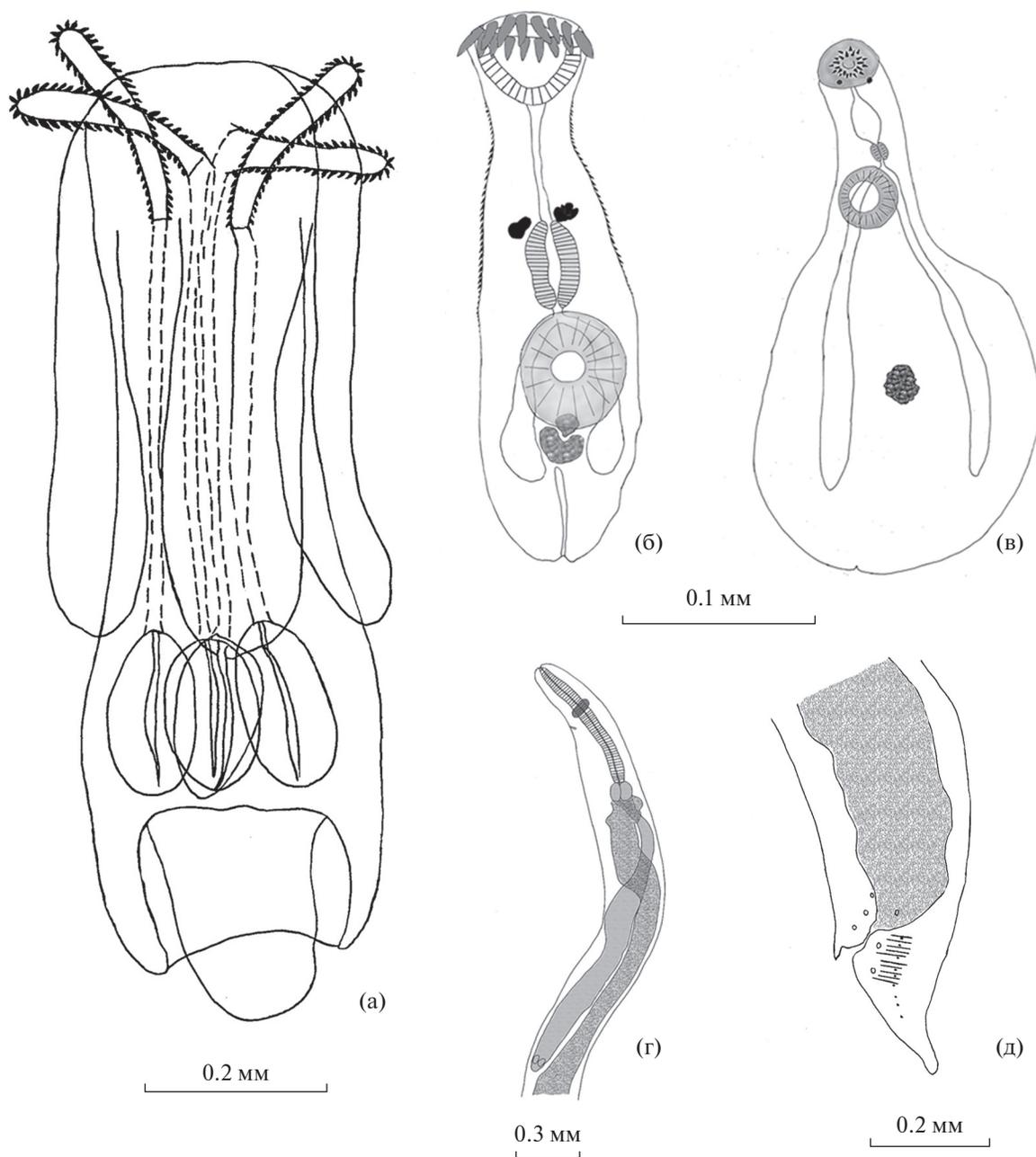
Данный экземпляр принадлежит к роду *Nybelinia* Roche, 1926, поскольку крючки на ботридиальной и антиботридиальной поверхностях хоботков по форме существенно не различаются. От описанных личинок других видов цестод этот экземпляр отличается формой сколекса и маленьким размером (Dollfus, 1960; Palm et al., 1997; Beveridge et al., 2014). У скорпеновых рыб личинки трипаноринхидных цестод встречаются редко. Личинка *Nybelinia aequidentata* (Shiple et Hornell, 1906) Dollfus, 1930 была найдена у *Dendrochirus zebra* (Cuvier, 1829) (см.: Beveridge et al., 2014).

#### Класс Trematoda

#### Семейство Acanthocolpidae Lühe, 1906

#### *Stephanostomum* sp. 1, метацеркарии (рис. 16)

Исследованный материал: одна личинка из мезентерия *Paragobiodon echinocephalus*. Препарат № 7/461. Тело удлинённое, 0.312 × 0.084 мм, покрыто мелкими шипиками, которые значительно крупнее на участке от заднего края ротовой присоски до конца глотки. На уровне середины длины предглотки тело слегка суживается. На тегументе ротовой присоски имеются крупные шипы длиной 0.013–0.015 мм, расположенные в два ряда. Ротовая присоска бокаловидная, терминальная, ее размер 0.046 × 0.059 мм. Круглая брюшная присоска находится в задней половине тела, ее диаметр 0.055 мм. Расстояние между присосками 0.117 мм. Предглотка длинная – 0.068 мм, глотка длинная и овальная размером 0.037 × 0.029 мм; пищевод отсутствует. Ветви кишечника короткие (0.077 мм), расширяются на концах и далеко не доходят до заднего конца тела. По бокам предглотки на границе с глоткой расположены два



**Рис. 1.** Паразиты рыб-кораллобионтов. а – личинка (plerocercus) *Nybelinia* sp. из *Scorpaenodes* sp.; б – метацеркария *Stephanostomum* sp. 1 из *Paragobiodon echinocephalus*; в – метацеркария *Stephanostomum* sp. 1 из *Caracanthus maculatus*; г, д – личинка III, самка *Raphidascaris* (?) sp.: передний (г) и задний (д) концы.

крупных пигментных пятна, их диаметр 0.011–0.013 мм. Экскреторный пузырь прямой, его длина 0.051 мм. Над экскреторным пузырем между ветвями кишечника расположен недифференцированный половой зачаток.

*Stephanostomum* sp. 2, метацеркарии (рис. 1в)

Исследованный материал: одна личинка из мезентерия *Caracanthus maculatus*. Препарат

№ 7/462. Форма тела в виде совка; передняя часть узкая, задняя сильно расширена, длина тела 0.9 мм, максимальная ширина 0.459 мм. Ротовая присоска овальная, субтерминальная, ее размер 0.086 × 0.117 мм; на ней в два ряда расположены очень мелкие шипы. Брюшная присоска округлая, находится в передней узкой части тела, ее размер 0.0776 × 0.084 мм. Расстояние между присосками 0.15 мм. У основания ротовой присоски расположены два пигментных пятна, их диаметр 0.011–

0.013 мм. Предглотка длинная и расширенная размером  $0.075 \times 0.042$  мм, глотка овальная размером  $0.042 \times 0.035$  мм; пищевод отсутствует. Ветви кишечника длинные, не достигают заднего конца тела. Между ветвями кишечника расположен недифференцированный половой зачаток. Экскреторный пузырь не виден.

Длинная предглотка, отсутствие пищевода и два ряда шипиков на ротовой присоске указывают на принадлежность обеих метацеркарий к роду *Stephanostomum*. Взрослые трематоды этого семейства паразитируют в пищеварительном тракте хищных рыб, первыми промежуточными хозяевами служат брюхоногие моллюски семейств Nassariidae, Naticidae и Buccinidae; метацеркарии локализуются в тканях разных видов рыб. Род *Stephanostomum* включает более 100 видов, но жизненные циклы с описанием личинок известны только для нескольких видов (Madhavi, Shameem, 1993; Barnett et al., 2008, 2010).

#### Класс Chromadorea

##### Семейство Anisakidae Railliet et Henry, 1912

*Raphidascaris* (?) sp., личинка III, самка (рис. 1г, 1д)

Исследованный материал: одна личинка из печени *Caracanthus maculatus*. Препарат № 7/463. Личинка неинкапсулирована. Длина тела 5.868 мм, максимальная ширина – 0.306 мм; кутикула тонкая и гладкая; цервикальные крылья отсутствовали. Зачатки губ хорошо развиты. Пищевод цилиндрический с несколько суженной передней частью длиной 0.708 мм. На расстоянии 0.33 мм от головного конца пищевод окружен нервным кольцом; позади него на расстоянии 0.39 мм от головного конца расположена экскреторная пора. Желудочек продольно-овальный длиной 0.12 мм. Желудочный отросток длиной 1.062 мм. Кишечник бурый, с зернистым содержимым, широкий, занимает большую часть пространства тела; он заканчивается короткой бурой прямой кишкой, окруженной несколькими одноклеточными ректальными железами. Вагина и вульва не видны. Хвост длиной 0.234 мм слегка изогнут дорсально.

Наличие одного желудочного выступа, идущего вниз, позволяет отнести обнаруженную личинку к роду *Raphidascaris*, однако у нее отсутствует характерный для личинки головной зуб. Возможно, он хорошо развит не у всех личинок этого вида. Личинок, относящихся к роду *Raphidascaris*, ранее находили у рыб в данном регионе (Douré et al., 2003; Purivirojkul, 2009).

##### Семейство Cystidicolidae Skrjabin, 1946

*Ascarophis* sp. (рис. 2а–3е, 3в)

Исследованный материал: две нематоды из желудка *Scorpaenodes* sp. Препараты № 7/464 и

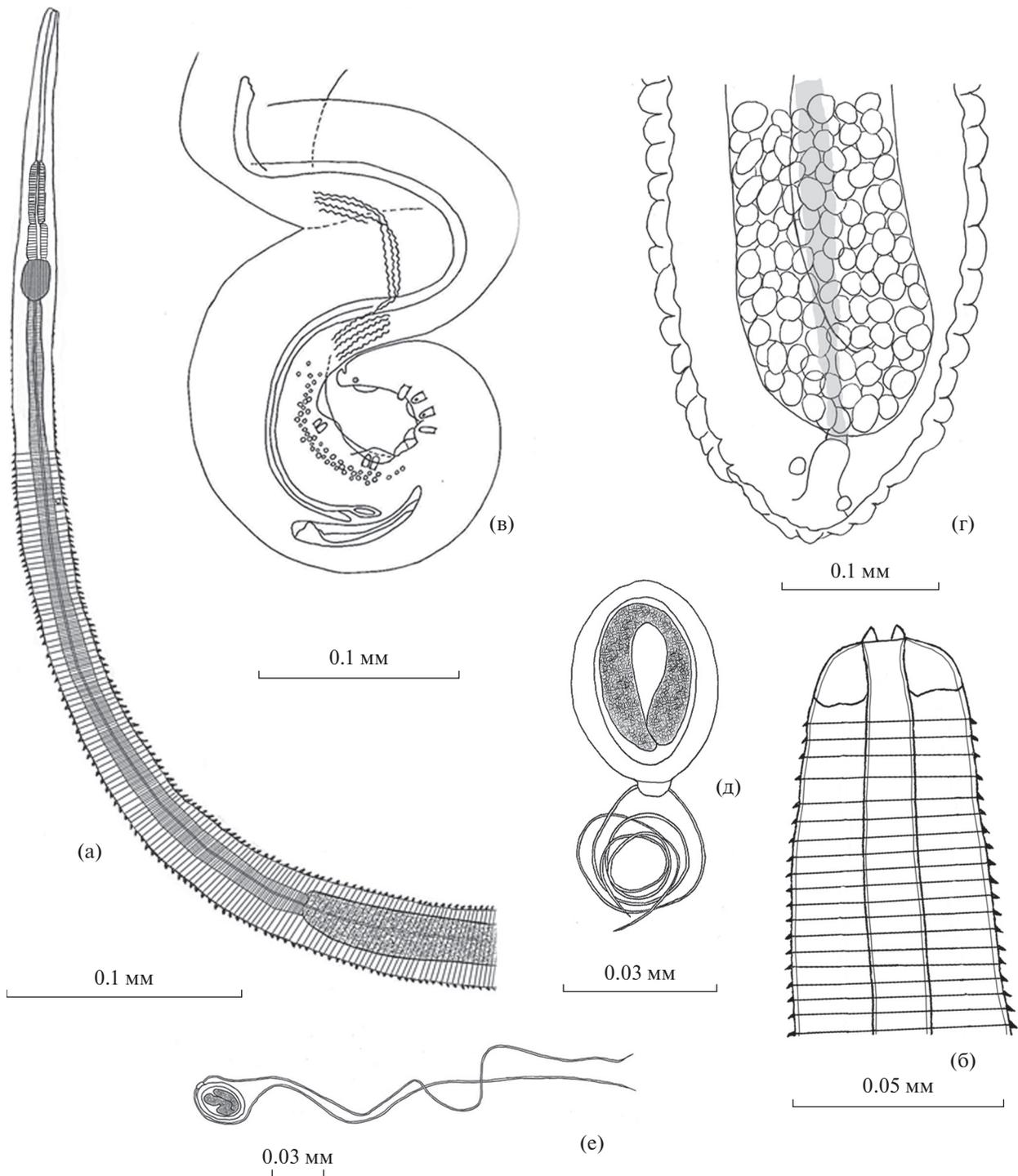
7/465. В разных рыбах найдены один самец и одна самка. Мелкие нематоды с нитевидным телом и отчетливо исчерченной кутикулой. Ротовое отверстие терминальное, окружено двумя латеральными псевдолябиями с коническими вершинами. У самца длина тела 6.24 мм, ширина тела на середине длины 0.055 мм, ширина у левой спикулы 0.079 мм. Кольцевая исчерченность кутикулы четко выражена на участке чуть ниже нервного кольца до начала железистого пищевода. Расстояние между бороздками кутикулы здесь составляет 0.0055–0.007 мм. Расстояние от переднего края тела до середины нервного кольца 0.125 мм. Нервное кольцо размером  $0.046 \times 0.024$  мм. Длина стомы 0.09 мм, мышечного отдела пищевода 0.539 мм, железистого отдела пищевода 3.96 мм. Отношение длины мышечного отдела пищевода к длине железистого отдела пищевода 1 : 14. Длина левой спикулы 0.425 мм, правой спикулы – 0.068 мм. Хвост тупоконечный длиной 0.07 мм, с хвостовыми крыльями и преклоакальными вентральными кутикулярными гребнями. Преклоакальные и постклоакальные папиллы стебельчатые, субвентральные, по четыре пары каждой. У самки (поврежденный экземпляр, сохранилась только задняя часть тела) длина сохранившейся части 4.392 мм, ширина у места разрыва 0.152 мм, ширина в области анального отверстия 0.093 мм. Хвост закругленный длиной 0.044 мм. Яйца с двумя филаментами на одном конце размером  $0.033–0.037 \times 0.024–0.026$  (среднее  $0.035 \times 0.025$ ) мм.

В рыбах из Индо-Тихоокеанского региона ранее были обнаружены нематоды *Ascarophis richeri* Moravec et Justine, 2007; *A. scatophagi* Moravec, Yooyen et Sanprick, 2018 и *A. adioryx* Machida, 1981 (Moravec, Justine, 2007, 2009; Moravec et al., 2018). Найденные нематоды отличаются от *A. richeri* меньшим расстоянием от переднего конца тела до нервного кольца у самца, меньшими размерами обеих спикул и яиц, а также наличием двух филаментов на одном конце яйца; от *A. scatophagi* – меньшим расстоянием от переднего конца тела до нервного кольца у самца, меньшими размерами обеих спикул и яиц, наличием двух филаментов на одном конце яйца; от *A. adioryx* – меньшим расстоянием от переднего конца тела до нервного кольца у самца, меньшими размерами правой спикулы и яиц, наличием двух филаментов на одном конце яйца.

##### Семейство Camallanidae Railliet et Henry, 1915

*Procamallanus istiblenii* (Noble, 1966) (рис. 3а, 3б)

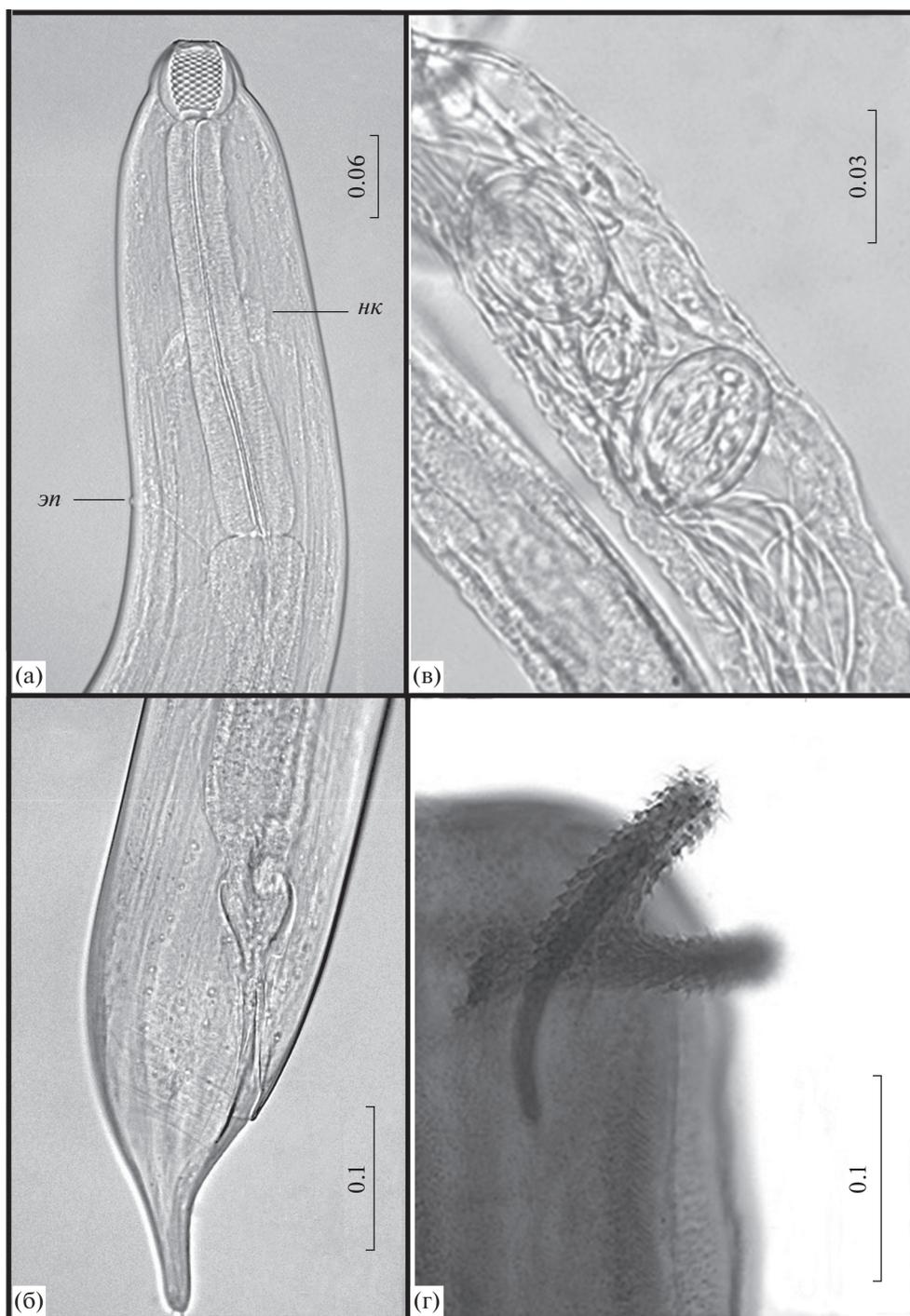
Исследованный материал: три нематоды из кишечника *Caracanthus maculatus*, *Scorpaenodes* sp. и *Pseudocheilinus hexataenia*. Препараты № 7/466 и 7/467. Две неполовозрелые самки найдены у *C. maculatus* и *P. hexataenia*. Длина самок 3.456–



**Рис. 2.** *Ascarophis* sp. из *Scorpaenodes* sp. а – передний конец тела самца; б – головной конец самца; в – задний конец тела самца; г – задний конец тела самки; д, е – яйца.

4.860 мм, ширина в середине тела 0.126–0.176 мм. Ротовая капсула светлая, неокрашенная, круглая; ее размер 0.055–0.057 × 0.055–0.057 мм; имеет 14 спиральных утолщений. Длина мышечной части пищевода (М) 0.242–0.324 мм, длина железистой части пищевода (Ж) 0.330–0.410 мм; отношение Ж/М 1.27–1.36. Нервное кольцо и экскреторная

пора на расстоянии 0.154–0.191 и 0.274–0.318 мм от головного конца соответственно. Длина хвоста 0.101–0.136 мм. Размеры самца, найденного у *Scorpaenodes* sp.: длина 7.148 мм, ширина 0.189 мм, овальная оранжево-коричневая ротовая капсула 0.077 × 0.059 мм, мышечная часть пищевода 0.360 мм, железистая часть пищевода 0.540 мм, отношение



**Рис. 3.** *Procamlanus istiblenii* из *Caracanthus maculatus*: передний (а) и задний (б) концы тела самки; *Ascarophis* sp. из *Scorpaenodes* sp., яйца в матке (в); личинка *Nybelinia* sp. из *Scorpaenodes* sp., хоботки, вооруженные крючками (г). Условные обозначения: *нк* – нервное кольцо, *эл* – экскреторная пора. Масштаб, мм: а – 0.06; б – 0.1; в – 0.03; г – 0.1.

Ж/М 1.5, нервное кольцо и экскреторная пора на расстоянии 0.240 и 0.398 мм от головного конца соответственно, правая спикула 0.396 мм, левая спикула 0.365 мм, длина хвоста 0.145 мм.

Нематода *P. istiblenii* обнаружена у многих видов коралловых рыб (Rigby, Font, 1997). Ранее в

этом же месте мы находили данную нематоду у *Amphiprion* spp. и *Dascyllus reticulatus* (Richardson, 1846) (см.: Жохов и др., 2017, 2018).

Зараженность рыб-инбионтов всеми видами паразитов была очень низкой (табл. 2). Количество видов паразитов у зараженных рыб не превы-

шало трех. В среднем на одну зараженную рыбу приходилось от 1 до 3.5 экз. гельминта (*Caracanthus maculatus* – 2.33, *Scorpaenodes* sp. – 2.6, *Pseudocheilinus hexataenia* – 3.5, *Paragobiodon echinocephalus* и *Gobiodon unicolor* – по 1). Как правило, рыбы были заражены одним видом и одним экземпляром гельминта. Исключением являлись метацеркарии трематод, которые встречались по несколько особей (максимум 8) у одной рыбы.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Все найденные таксоны гельминтов впервые обнаружены у рыб-инбионтов. *Ascarophis* sp. и *Nybelinia* sp., по-видимому, являются новыми для науки видами, но для их полноценного описания требуются сборы дополнительного материала. В целом разнообразие паразитов у данной группы рыб низкое, всего найдено семь таксонов (с учетом неидентифицированных метацеркарий их количество может быть немного больше). Особенностью паразитофауны этих рыб следует признать отсутствие эктопаразитов (моногоней и паразитических рачков). Среди эндогельминтов встречались представители трех классов: хромодореи, трематоды и цестоды, причем преобладали два первых. В целом среди гельминтов доминировали личиночные формы, в основном метацеркарии трематод. Взрослые формы были представлены только нематодами *Ascarophis* sp. и *Procamallanus istiblenii*. Самки и самец *P. istiblenii* были мелкими, неполовозрелыми, обнаружены в рыбах по одному экземпляру. Они были значительно меньше, чем нематоды, найденные в других видах рыб (Rigby, Font, 1997; Жохов и др., 2018). Можно предположить, что в этих мелких рыбах нематоды не достигают половой зрелости, а рыбы выполняют для нематод функцию резервуарных хозяев. Несмотря на общую бедность паразитофауны у данной группы рыб, среди них выделялись рыбы с относительно высоким разнообразием паразитов (у *Scorpaenodes* sp. и *Caracanthus maculatus* обнаружено по 4 вида паразитов) и рыбы без паразитов (*Sebastapistes cyanostigma*, *Paragobiodon modestus*). У остальных рыб найдено по 1–2 вида паразитов.

Мелкие рыбы-индивидуалисты – обитатели укрытий, которые успешно избегают хищников. Подобная тактика выгодна и при избавлении от эктопаразитов. Отсутствие эктопаразитов у этих рыб можно объяснить отсутствием чешуйного покрова (*Caracanthus*), наличием в коже токсичных желез (*Gobiodon*) и узкой жаберной щелью, плотно прикрываемой створкой кожи (*Gobiodon*, *Paragobiodon*). Данные приспособления препятствуют прикреплению эктопаразитов к коже и их проникновению к жабрам (Mizuno, Tominaga, 1980; Munday et al., 2003). Питаясь кровью и слизью хозяина, повреждая кожные покровы и жаб-

ры, эктопаразиты могут существенно влиять на физиологию, поведение и морфологию хозяина.

Метацеркарии трематод – это одна из доминирующих по разнообразию и обилию групп паразитов коралловых рыб (Muñoz, Cribb, 2005; Vidal-Martínez et al., 2012), но у рыб-индивидуалистов метацеркарии встречались как единичные экземпляры. Очевидно, оседлый образ жизни рыб-инбионтов в узком пространстве между ветвями кораллов ограждает их от заражения личинками трематод. При гетеротрофном питании коралловые полипы ловят зоопланктон (копепод, изопод, амфипод, личинок крабов) длиной 0.2–0.7 мм (Houlbrèque, Ferrier-Pagès, 2009). В морском зоопланктоне присутствуют свободноплавающие церкарии трематод, имеющие такие же размеры. Возможно, коралловые полипы поедают церкарий, резко снижая вероятность заражения ими рыб. Поскольку коралловые полипы питаются зоопланктоном, они конкурируют в питании с рыбами-инбионтами (Зыкова и др., 2011). По этой причине рыбы-кораллобионты имеют низкую зараженность личинками нематод, которыми заражаются в результате питания копеподами и другими планктонными беспозвоночными.

В заключение отметим, что у обитателей укрытий мелких рыб-индивидуалистов разнообразие и зараженность паразитами были невысокими, а эктопаразиты отсутствовали вовсе. Наряду с индивидуальными средствами защиты в значительной степени это может быть связано с низкой плотностью популяций рыб и их изолированностью друг от друга, что существенно затрудняет передачу паразитов между особями. Кроме этого, коралл-хозяин может защищать рыб-индивидуалистов от паразитов, поедая их свободноплавающих личинок, а также выступая конкурентом в питании и снижая вероятность заражения рыб через планктонных промежуточных хозяев. Существование паразитов в непростых для них условиях обусловлено низкой смертностью и устойчивостью популяций рыб-хозяев, приспособившихся к жизни с низкой плотностью в насыщенной экосистеме кораллового рифа.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность руководству и сотрудникам совместного Российско-вьетнамского тропического центра.

## 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 поддержана грантами РФФИ № 18-05-00459а и № 20-04-00239а.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Жохов А.Е., Пугачева М.Н., Михеев В.Н. Паразиты рыбы *Dascyllus reticulatus* (Pisces: Pomacentridae) – симбионта склерактиниевых кораллов (зал. Нячанг, Южно-Китайское море, Вьетнам) // Зоол. журн. 2017. Т. 96. № 9. С. 1060–1068.
- Жохов А.Е., Тхи Ха Во, Тхи Кьеу Оань Лэ и др. Паразиты рыб-клоунов (Pomacentridae, Amphiprioninae) в районе Нячанга, Южно-Китайское море, Вьетнам // Зоол. журн. 2018. Т. 97. № 11. С. 1350–1362.
- Зыкова А.В., Бритаев Т.А., Иваненко В.Н., Михеев В.Н. Планктонные и симбиотические организмы в питании рыб-кораллобионтов // Вопр. ихтиологии. 2011. Т. 51. № 6. С. 802–808.
- Allen G.R., Erdmann M.V. Reef fishes of the East Indies: Andaman Sea, Myanmar, Thailand, Indonesia, Christmas Island, Singapore, Malaysia, Brunei, Philippines, Papua New Guinea, Solomon Islands. Perth, Australia: Tropical Reef Research. 2012. 1292 p.
- Barnett L.J., Miller T.L., Cribb T.H. Two new *Stephanostomum*-like cercariae (Digenea: Acanthocolpidae) from *Nassarius dorsatus* and *N. olivaceus* (Gastropoda: Nassariidae) in Central Queensland, Australia // Zootaxa. 2010. V. 2445. P. 35–52.
- Barnett L.J., Smales L.R., Cribb T.H. A complex of putative acanthocolpid cercariae (Digenea) from *Nassarius olivaceus* and *N. dorsatus* (Gastropoda: Nassariidae) in Central Queensland, Australia // Zootaxa. 2008. V. 1705. P. 21–39.
- Beveridge I., Bray R.A., Cribb T.H., Justine J.-L. Diversity of trypanorhynch metacestodes in teleost fishes from coral reefs off eastern Australia and New Caledonia // Parasite. 2014. V. 21. P. 60. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014060>
- Cribb T.H., Bray R.A., Diaz P.E. et al. Trematodes of fishes of the Indo-west Pacific: told and untold richness // Syst. Parasitol. 2016. V. 93. P. 237–247.
- Dollfus R.P. Sur une collection de Tétrarhynques homeacanthes de la famille des Tentaculariidae, récoltées principalement dans la région de Dakar // Bull. Inst. Franc. Afr. Noire. Ser. A. 1960. V. 22. P. 788–852.
- Doupe R.G., Lymbery A.J., Wong S., Hobbs R.P. Larval anisakid infections of some tropical fish species from north-west Australia // J. Helminthol. 2003. V. 77. P. 363–365.
- Houlbrèque F., Ferrier-Pagès C. Heterotrophy in tropical scleractinian corals // Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. 2009. V. 84. P. 1–17.
- Kuiter R.H., Tonozuka T. Pictorial guide to Indonesian reef fishes. Part 1. Eels – Snappers, Muraenidae – Lutjanidae. Seaford, Vic., Australia: Zoonetics. 2001a. 302 p.
- Kuiter R.H., Tonozuka T. Pictorial guide to Indonesian reef fishes. Part 2. Fusiliers – Dragonets, Caesionidae – Callionymidae. Seaford, Vic., Australia: Zoonetics. 2001b. P. 304–622 p.
- Kuiter R.H., Tonozuka T. Pictorial guide to Indonesian reef fishes. Part 3. Jawfishes – Sunfishes, Opistognathidae – Molidae. Seaford, Vic., Australia: Zoonetics. 2001c. P. 623–862.
- Madhavi R., Shameem U. Cercariae and metacercariae of *Stephanostomum cloacum* (Trematoda: Acanthocolpidae) // Int. J. Parasitol. 1993. V. 23. P. 341–347.
- Mizuno S., Tominaga Y. First record of the scorpaenoid fish *Caracanthus unipinna* from Japan, with comments on the characters of the genus // Jpn. J. Ichthyol. 1980. V. 26. P. 369–372.
- Moravec F., Justine J.-L. A new species of *Ascarophis* (Nematoda, Cystidicolidae) from the stomach of the marine scorpaeniform fish *Hoplichthys citrinus* from a seamount off the Chesterfield Islands, New Caledonia // Acta Parasitol. 2007. V. 52. № 3. P. 238–246.
- Moravec F., Justine J.-L. Two cystidicolids (Nematoda, Cystidicolidae) from marine fishes off New Caledonia // Acta Parasitol. 2009. V. 54. № 4. P. 341–349.
- Moravec F., Yooyen T., Sanprick A. Two nematode species from freshwater and marine fishes in Thailand, including *Ascarophis scatophagi* sp. nov. (Cystidicolidae) from *Scatophagus argus* (Scatophagidae) // Acta Parasitol. 2018. V. 63. № 1. P. 89–98.
- Munday P.L., Schubert M., Baggio J.A. et al. Skin toxins and external parasitism of coral-dwelling gobies // J. Fish Biol. 2003. V. 62. P. 976–981.
- Muñoz G., Cribb T.H. Infracommunity structure of parasites of *Hemigymnus melapterus* (Pisces: Labridae) from Lizard Island, Australia: the importance of habitat and parasite body size // J. Parasitol. 2005. V. 91. P. 38–44.
- Palm H.W., Walter T., Schwerdtfeger G., Reimer L.W. *Nybelinia* Poche, 1926 (Cestoda: Trypanorhyncha) from the Mozambique coast, with description of *N. beveridgei* sp. nov. and systematic consideration of the genus // S. Afr. J. Mar. Sci. 1997. V. 18. P. 273–285.
- Purivirojkul W. An investigation of larval ascaridoid nematodes in some marine fish from the Gulf of Thailand // Kasetsart J.: Nat. Sci. 2009. V. 43. P. 85–92.
- Raffel T.R., Martin L.B., Rohr J.R. Parasites as predators: unifying natural enemy ecology // Trends Ecol. Evol. 2008. V. 23. № 11. P. 610–618.
- Rigby M.C., Font W.F. Redescription and range extension of *Spirocamallanus istiblenni* Noble, 1966 (Nematoda: Camallanidae) from coral reef fishes in the Pacific // J. Helminthol. Soc. Wash. 1997. V. 64. P. 227–233.
- Vidal-Martínez V.M., Aguirre-Macedo M.L., McLaughlin J.P. et al. Digenean metacercariae of fishes from the lagoon flats of Palmyra Atoll, Eastern Indo-Pacific // J. Helminthol. 2012. V. 86. P. 493–509.

## Parasites of Small Cryptic Coral Reef Fishes

A. E. Zhokhov<sup>a</sup>, M. N. Pugacheva<sup>a</sup>, Ha Vo Thi<sup>b</sup>, and V. N. Mikheev<sup>c</sup>

<sup>a</sup>*Papanin Institute of Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok 152742, Russia*

<sup>b</sup>*Russian-Vietnamese Tropical Center, Nha Trang, Vietnam*

<sup>c</sup>*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow 119071, Russia*

Parasites in 61 individuals of 8 species of coral reef fishes (*Caracanthus maculatus*, *Scorpaenodes* sp., *Sebastapistes cyanostigma*, *Gobiodon unicolor*, *Paragobiodon modestus*, *P. echinocephalus*, *Pseudocheilinus hexataenia*, and *Halichoeres* sp.) were studied in April–May 2012–2014 and November 2017. All studied fishes were symbionts of corals of the genera *Acropora* and *Pocillopora*. The parasites found were the nematodes *Spirocamallanus istiblenii*, *Raphidascaris* (?) sp., and *Ascarophis* sp., the larva of the cestode *Nybelinia* sp., as well as metacercariae of the trematodes *Stephanostomum* sp. 1, *Stephanostomum* sp. 2, and Trematoda gen. sp. Low prevalence, infection rate, and diversity of parasites could be related to low population numbers of fish hosts, their efficient individual anti-parasitic defense, as well as to predation by corals that prey on dispersal stages of parasites.

**Keywords:** parasites, *Stephanostomum*, *Nybelinia*, *Ascarophis*, fish, symbionts, scleractinian corals, South China Sea, Vietnam

УДК 577.115:593.96

**ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ  
PIWI-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК В ХОДЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ  
ПОПУЛЯЦИИ ЦЕЛОМОЦИТОВ ПОСЛЕ ЭВИСЦЕРАЦИИ У ГОЛОТУРИИ  
*EUPENTACTA FRAUDATRIX* (DJAKONOV ET BARANOVA, 1958)  
(HOLOTHUROIDEA: DENDROCHIROTA)**

© 2020 г. Е. Г. Завальная<sup>1, 2</sup>, Е. В. Шамшурина<sup>1</sup>, М. Г. Елисейкина<sup>1, \*</sup>

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

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

\*e-mail: meliseikina@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.06.2019 г.

После доработки 22.11.2019 г.

Принята к публикации 28.11.2019 г.

С использованием метода проточной цитометрии исследовали количественную динамику клеток целомической жидкости (ЦЖ) у голотурии *Eupentacta fraudatrix* (Djakonov et Baranova, 1958) в течение суток после эвисцерации. Отмечен разнонаправленный характер динамики групп низкодифференцированных ювенильных и дифференцированных клеток в регенерации: увеличение содержания ювенильных целомоцитов сопровождалось снижением содержания дифференцированных клеток и наоборот. Использование в качестве маркера плюрипотентных стволовых клеток белка PIWI позволило выявить среди ювенильных целомоцитов субпопуляцию PIWI-позитивных клеток. Их содержание в ЦЖ было максимальным на начальных этапах регенерации – через 1 и 4 ч после эвисцерации и снижалось через 24 ч после эвисцерации.

**Ключевые слова:** *Eupentacta fraudatrix*, проточная цитофотометрия, целомоциты, эвисцерация, регенерация, белок PIWI

**DOI:** 10.31857/S0134347520020114

Ген *piwi* (P-element-induced wimpy testis) был впервые обнаружен и охарактеризован как ген, необходимый для пролиферации зародышевых клеток *Drosophila melanogaster* (см.: Lin, Spradling, 1997). Он кодирует эволюционно консервативный белок PIWI, представляющий кладу семейства Argonaute (см.: Cox et al., 1998). Характерной особенностью семейства является наличие функциональных доменов: N-концевого домена, PAZ, MID и PIWI, образующих единый структурно-функциональный комплекс связывания малых некодирующих РНК и гидролиза нуклеиновых кислот посредством эндонуклеазной активности каталитического сайта PIWI домена (Cerutti et al., 2000; Song et al., 2004; Schirle, MacRae, 2012; Kuhn, Joshua-Tor, 2013).

Белки PIWI и связанный с ними особый класс малых некодирующих РНК – piРНК обнаруживаются в линии первичных половых клеток Metazoa, где необходимы для поддержания их плюрипотентности и осуществляют сайленсинг транскриптов, эпигенетическую и посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов (Vagin et al., 2006;

Brennecke et al., 2008; Kuramochi-Miyagawa et al., 2008; Thomson, Lin, 2009; Juliano et al., 2011).

У некоторых животных экспрессия гена *piwi* не ограничивается клетками зародышевой линии. Ген экспрессируется в плюрипотентных и мультипотентных соматических стволовых клетках у представителей разных типов беспозвоночных и позвоночных и, как правило, связан с регенерацией. Наличие транскриптов *piwi* характерно для необластов плоских червей (Reddien, 2005; Palakodeti et al., 2008), циркулирующих стволовых клеток оболочников (Rinkevich et al., 2010), археоцитов губок (Funayama, 2010), интерстициальных клеток книдарий (Juliano et al., 2014), мультипотентных стволовых клеток бесчерепных (Zhang et al., 2013) и гребневиков (Alié et al., 2011), а также для дедифференцированных клеток аксолотля (Zhu et al., 2012). Ингибирование экспрессии *piwi* в этих клетках приводит к дефектам регенерации или ее полной остановке и, как следствие, к гибели организма. Таким образом, присутствие белков PIWI в соматических стволовых клетках, вовлеченных в регенерацию, вероятно, характерно

для многих стволовых систем Metazoa. Этот факт в дополнение к известной эволюционной консервативности белков (Cox et al., 1998) позволяет рассматривать ген *piwi* наряду с некоторыми другими генами (*vasa*, *nanos*) как фактор, определяющий “стволовость” клетки, и применять его в качестве молекулярного маркера мульти- и плюрипотентных стволовых клеток (Seipel et al., 2004; Rosner et al., 2009; Juliano et al., 2010; Alié et al., 2011; Kawamura, Sunanaga, 2011; Plickert et al., 2012).

Использование белка PIWI как молекулярного маркера плюрипотентности может способствовать решению вопроса о наличии стволовых клеток-предшественников иммуноцитов у голотурии *Eupentacta fraudatrix*. Этот представитель иглокожих, способный к эвисцерации и последующему восстановлению комплекса внутренних органов, является перспективным модельным объектом для исследования процессов регенерации и клеточной дифференцировки (Долматов, Машанов, 2007). Восстановление клеточного состава целомической жидкости (ЦЖ) после эвисцерации происходит при отсутствии пролиферации оставшейся части целомацитов, что позволяет предположить наличие у *E. fraudatrix* внешней резервной субпопуляции клеток-предшественниц целомацитов. Использование белка PIWI позволит идентифицировать и всесторонне охарактеризовать данные клетки у голотурии *E. fraudatrix*.

Выявление иммунопозитивных по отношению к белку PIWI клеток в ЦЖ у голотурии *E. fraudatrix*, определение их морфотипической принадлежности и исследование количественной динамики в ходе восстановления ЦЖ после эвисцерации является целью настоящей работы.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования послужила голотурия *Eupentacta fraudatrix* (Holothuroidea: Dendrochirota). Животных отлавливали в Амурском заливе Японского моря и содержали в аквариумах с охлажденной до 15°C аэрируемой проточной морской водой.

Поликлональные кроличьи анти-PIWI антитела получали путем иммунизации пептидом, который включал высоко консервативный участок, отвечающий за связывание 5'-конца рРНК, расположенный в MID домене (VATKVMQLNCKLGG). Последовательность пептида получена на основании данных транскриптного анализа (ncbi tsa GHCL00000000), проведенного ранее (Boyko et al., в печати). Синтез пептида и получение к нему первичных антител осуществляли в компании АЛМАБИОН (Россия).

Детекцию PIWI-позитивных клеток и анализ их количественной динамики проводили на мазках клеток ЦЖ. В эксперименте использовали пять голотурий массой от 4.5 до 5.5 г. Эвисцерацию у голотурий стимулировали введением в целомическую полость подопытным животным 0.5 мл 1% KCl. Для приготовления мазков шприцем отбирали по 200 мкл ЦЖ у каждого животного на разных этапах эксперимента: интактные животные (0), 1, 4 и 24 ч после эвисцерации. ЦЖ помещали на стекла, обработанные полилизинном, и инкубировали 15 мин во влажной камере при температуре 18°C, после этого препарат фиксировали в течение 15 мин 4% параформальдегидом, приготовленным на фосфатно-солевом буфере (PBS), pH 7.4 (AMRESCO, USA), и промывали в трех порциях PBS в течение суток. Для предотвращения неспецифического связывания первичных антител мазки обрабатывали 2 ч блокирующим буфером (3% рыбный желатин – Teleostean gelatin, SIGMA; 0.3 М глицин; 0.5% Тритон X 100 на PBS), инкубировали с первичными иммунными анти-PIWI антителами, разведенными 1% БСА на PBS в соотношении 1 : 300 в течение суток при температуре 4°C, затем промывали 1% БСА на PBS, содержащем 0.02% TWEEN 20 (3 раза по 10 мин), инкубировали 1 ч при комнатной температуре со вторичными антикроличьими антителами, меченными Alexa 546 (Molecular Probs), разведенными 1% БСА на PBS в соотношении 1 : 750. После промывки в трех порциях PBS препараты заключали в специальную среду, содержащую DAPI для окраски ядерной ДНК (Vectashield, Vector Laboratories). Материал анализировали с использованием лазерного конфокального сканирующего микроскопа LSM 780 (Carl Zeiss, Германия). Подсчитывали количество меченных антителами клеток на 1000 целомацитов; полученные данные выражали в процентах.

Количественную динамику целомацитов анализировали с использованием проточного цитометра Cytoflex (Beckman Coulter, USA). У пяти подопытных животных перед эвисцерацией и через 1, 4 и 24 ч после начала эксперимента шприцем отбирали по 300 мкл ЦЖ. Для предотвращения образования агрегатов в образцы добавляли по 10 мкл 0.3 М ЭДТА. Образцы фиксировали в течение 1 ч добавлением в ЦЖ 25% глутарового альдегида, чтобы конечная концентрация фиксатора в образце составляла 2.5%. После этого их центрифугировали до образования осадка клеток, удаляли фиксатор и промывали в 1 мл PBS, затем добавляли 0.5 мл PBS и ресуспендировали осадок. Для окраски ядерной ДНК использовали DAPI в соотношении 1 : 4000. В каждом образце оценивали не менее 30 тыс. событий. Позитивные по DAPI клетки детектировали при экстинкции 405 нм, эмиссию измеряли с помощью полосового фильтра 450/45 ВР. Приблизительный размер клеток в образцах определяли с использованием калибровочных частиц для проточной цитофотометрии размером 2, 4, 6, 10 и 15 мкм на FSC-A графике (F13838, Molecular Probes, Eugene, OR, USA). Па-

раллельно на этих же образцах ЦЖ исследовали микроморфологию целомоцитов, размеры которых соответствовали размерам использованных калибровочных частиц. По 100 мкл суспензии клеток анализировали с использованием лазерного конфокального микроскопа LSM 780 (Carl Zeiss). Размеры клеток определяли в программе ZEN.

Статистический анализ проводили при помощи программы Statistica 6.0. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Полученные данные подвергали дисперсионному анализу (ANOVA) с последующим использованием LSD теста; статистически достоверными отличиями считались значения при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Клеточный состав трех групп целомоцитов*

На основании показателей прямого и бокового светорассеяния среди клеток целомиической жидкости выделены три основные группы, которые различались по степени структурированности цитоплазмы и линейным размерам: 2–6, 6–10, 10 мкм и более. По данным микроструктурного анализа охарактеризован клеточный состав выделенных нами групп.

Клетки диаметром 2–6 мкм с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением и неразвитой цитоплазмой считали низкокодифференцированными ювенильными клетками (рис. 1а), клетки диаметром 6–10 мкм с увеличенным объемом цитоплазмы – среднкодифференцированными. Обнаружены клетки с цитоплазмой, содержащей немногочисленные секреторные гранулы, что указывает на начальные этапы дифференцировки морулоподобных клеток, а также клетки, способные формировать небольшие псевдоподии, – признак, характерный для амебоцитарного пути дифференцировки (рис. 1б). Дифференцированные клетки диаметром 10–20 мкм (рис. 1в–1д) были представлены либо округлыми клетками с развитой цитоплазмой, заполненной секреторными гранулами (морулоподобные целомоциты), либо полиморфными клетками, способными образовывать псевдоподии разной формы (петаллоидные и филоподиальные амебоциты). Наряду с преобладающими в ЦЖ амебоцитами и морулоподобными целомоцитами среди дифференцированных клеток обнаружены гемоциты, содержавшие дыхательный пигмент гемоглобин (рис. 1е), а также редко встречавшиеся кристаллические клетки (не представлены).

### *Количественная динамика клеток ЦЖ после эвисцерации*

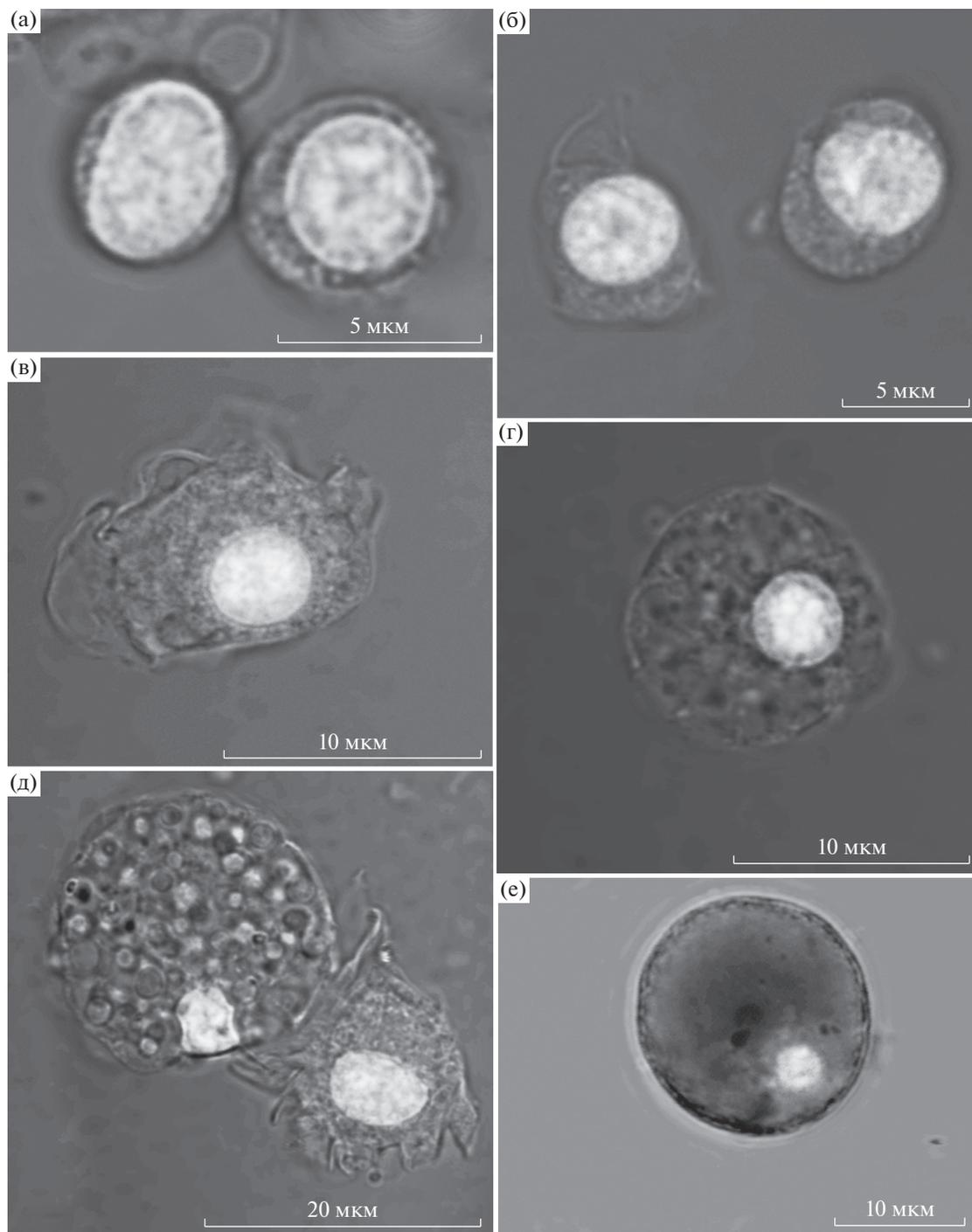
Количество целомоцитов в ЦЖ у интактных животных составляло  $7.5 \times 10^6 \pm 1.5 \times 10^6$  кл./мл. После эвисцерации оно резко и статистически достоверно снижалось и через 1 ч составляло  $0.87 \times 10^6 \pm 0.22 \times 10^6$  кл./мл, а через 4 ч –  $0.32 \times 10^6 \pm 0.57 \times 10^5$  кл./мл. Через 24 ч после начала эксперимента количество целомоцитов в ЦЖ возрастало до  $2.5 \times 10^6 \pm 2.9 \times 10^5$  кл./мл (рис. 2).

В ходе регенерации изменялось не только суммарное количество целомоцитов в ЦЖ, но и соотношение содержащихся в ней размерно-функциональных групп клеток (рис. 3). У интактных животных наиболее многочисленными были дифференцированные клетки диаметром 10–20 мкм ( $58.2 \pm 7.4\%$ ). Вторыми по представленности были среднкодифференцированные клетки диаметром 6–10 мкм ( $40.7 \pm 7.04\%$ ). “Минорную” группу формировали низкокодифференцированные ювенильные клетки диаметром 2–6 мкм ( $1.09 \pm 0.37\%$ ). Через 1 ч после эвисцерации в ЦЖ увеличивалась доля ювенильных клеток ( $14.6 \pm 6\%$ ), а содержание дифференцированных клеток снижалось до  $32.5 \pm 4.3\%$ . Через 4 ч после эвисцерации содержание ювенильных клеток снижалось до  $3.7 \pm 2.1\%$ , а доля дифференцированных клеток, напротив, возрастала до  $53.3 \pm 7.5\%$  и приближалась к значениям, характерным для интактных животных. Через 24 ч после начала эксперимента отмечена тенденция к увеличению доли ювенильных клеток ( $9.5 \pm 4\%$ ) и к снижению содержания дифференцированных целомоцитов ( $41.8 \pm 7.1\%$ ). Содержание среднкодифференцированных клеток во время эксперимента изменялось незначительно; эти изменения статистически недостоверны.

### *Иммуноцитохимическая идентификация и анализ численности PIWI-позитивных клеток в ЦЖ Eupentacta fraudatrix в ходе регенерации*

При иммуноцитохимическом окрашивании целомоцитов поликлональными кроличьими антителами на белок PIWI выявлено наличие меченых клеток в ЦЖ у интактных животных (рис. 4а) и у животных на разных сроках регенерации после эвисцерации (рис. 4б–4г).

Диаметр клеток, содержавших белок PIWI, как правило, составлял около 5 мкм; они характеризовались высоким ядерно-цитоплазматическим отношением и относились к группе низкокодифференцированных ювенильных клеток. Очень редко встречались клетки с более развитой цитоплазмой, попадавшие в группу среднкодифференцированных (рис. 4а). Ядра меченых клеток округлой формы содержали глыбки гетерохроматина. Иммунопозитивные структуры располагались преимущественно в цитоплазме – диффузно либо в

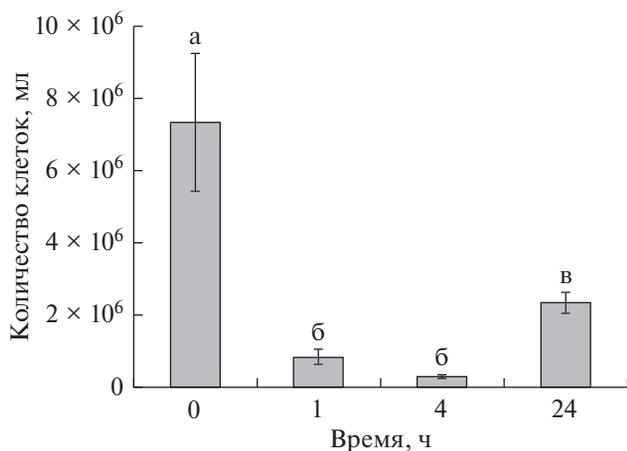


**Рис. 1.** Морфология целомицитов основных размерных групп голотурии *Eupentacta fraudatrix*. а – ювенильные клетки диаметром 3–5 мкм; б – среднедифференцированные клетки диаметром 6–10 мкм; в, г, д – дифференцированные клетки диаметром от 11 до 20 мкм: амёбоциты (в, д) и морулоподобные клетки (г, д); е – гемоциты.

виде гранул. Редко встречались слабо меченные ядра.

У интактных животных в ЦЖ обнаружены лишь единичные меченые клетки ( $0.3 \pm 0.3\%$ ). После эвисцерации через 1 и 4 ч их содержание в

ЦЖ резко возрастало и достигало максимальных за весь период наблюдений значений (соответственно  $20 \pm 8$  и  $17 \pm 8\%$  от общего числа целомицитов); через 24 ч этот показатель снижлся до  $3 \pm 2\%$  (рис. 5).

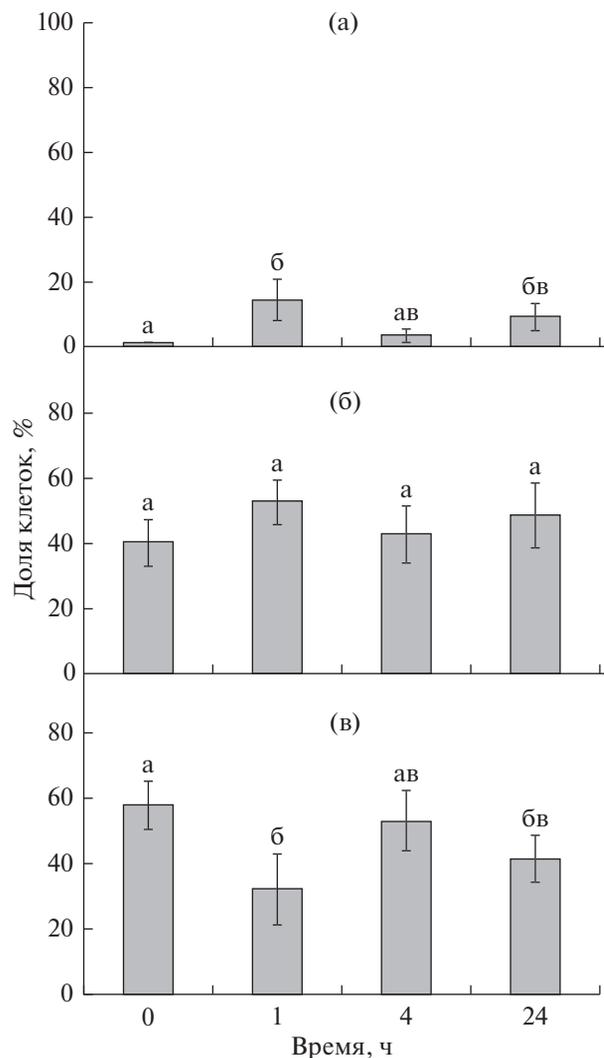


**Рис 2.** Количество клеток в целомической жидкости (ЦЖ) *Eupentacta fraudatrix* у интактных животных и после эвисцерации. Одинаковые буквенные индексы над столбцами показывают отсутствие статистически значимых различий между значениями при  $p < 0.05$  и  $n = 5$ . По оси абсцисс – время после эвисцерации (0 – интактные животные; 1, 4 и 24 ч); по оси ординат – количество клеток в 1 мл ЦЖ.

## ОБСУЖДЕНИЕ

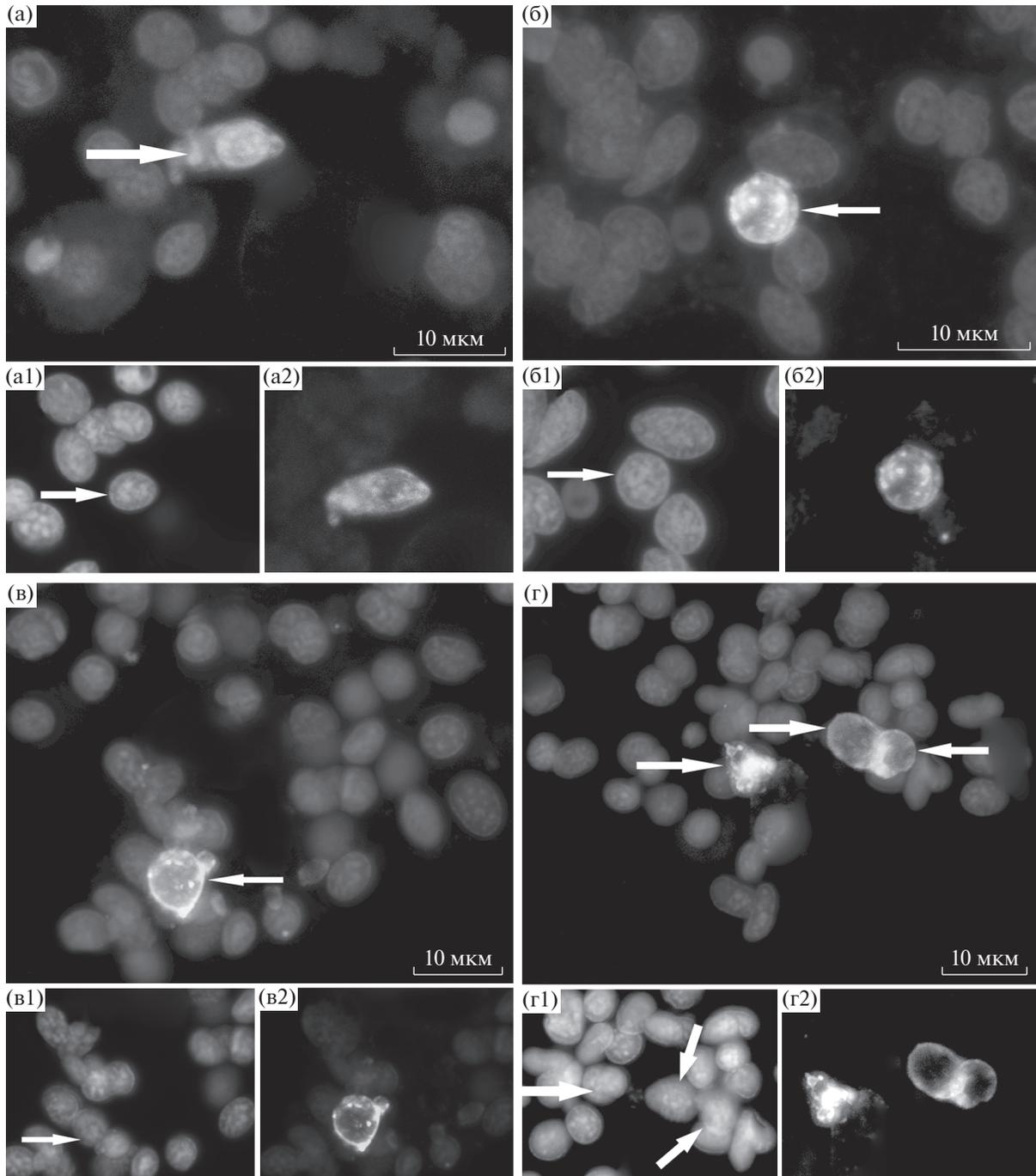
Клетки ЦЖ иглокожих – это гетерогенная и многофункциональная популяция свободноподвижных клеток, присутствующих во всех целомических полостях (Smith et al., 2010). Несмотря на то, что клеточный состав ЦЖ существенно варьирует у разных систематических групп, у всех представителей иглокожих имеются иммунокомпетентные целомоциты – фагоцитирующие амёбоциты и гранулосодержащие морулоподобные клетки, ответственные за выработку гуморальных факторов иммунитета. Кроме этого, в ЦЖ могут присутствовать жгутиковые клетки, участвующие в тромбообразовании и создающие ток целомической жидкости, а также кристаллические клетки, осуществляющие осморегуляцию, и гемоциты, содержащие гемоглобин (Chia, Xing, 1996; Елисейкина, Магарламов, 2002; Ramírez-Gómez, García-Arriaga, 2010). Помимо перечисленных типов клеток в ЦЖ иглокожих выделяется субпопуляция мелких лимфоцитоподобных или ювенильных клеток, которые рассматриваются как низкодифференцированные предшественники остальных типов целомоцитов (Rinkevich, Matranga, 2009).

Хорошие способности к регенерации позволяют широко использовать иглокожих для исследования восстановительных морфогенезов (Долматов, 1999; Candia Carnevali, 2006), в частности, для изучения источников и механизмов восстановления целомоцитов после эвисцерации или экспериментального удаления части ЦЖ. Процесс восстановления клеточного состава ЦЖ не сопровождается ростом пролиферативной активности



**Рис 3.** Изменение содержания целомоцитов трех размерных групп в целомической жидкости *Eupentacta fraudatrix* после эвисцерации. а – ювенильные клетки, б – среднедифференцированные клетки, в – дифференцированные клетки. По оси абсцисс – время после эвисцерации (0 – интактные животные; 1, 4 и 24 ч); по оси ординат – доля клеток каждой группы (%) от общего количества целомоцитов. Одинаковые буквенные индексы над столбцами показывают отсутствие статистически значимых различий между значениями при  $p < 0.05$  и  $n = 5$ .

оставшейся части целомоцитов, таким образом, можно предположить, что на первых этапах регенерации происходит выселение клеток-предшественниц из внешних депо (Козлова и др., 2006; Sharlaimova et al., 2010; Li et al., 2018). Однако отсутствие морфологических признаков, отличающих плюрипотентные клетки от ювенильных целомоцитов, обуславливает необходимость поиска маркеров, позволяющих детектировать данные клетки. Использование белка PIWI – молекулярного маркера стволовых клеток, может способствовать



**Рис. 4.** Иммунофлуоресцентное окрашивание PIWI-позитивных клеток в целомической жидкости голотурии *Eupentacta fraudatrix*. а – интактные животные, б – 1 ч после эвисцерации, в – 4 ч после эвисцерации, г – 24 ч после эвисцерации. Иммуноцитохимическое окрашивание антителами к белку PIWI – выделенный канал а2, б2, в2, г2; ядерная ДНК окрашена DAPI – выделенный канал а1, б1, в1, г1.

решению вопроса об источниках и механизмах восстановления пула клеток ЦЖ у представителей иглокожих в условиях стресса.

Голотурия *Eupentacta fraudatrix*, обладающая способностью к эвисцерации и последующему восстановлению комплекса внутренних органов,

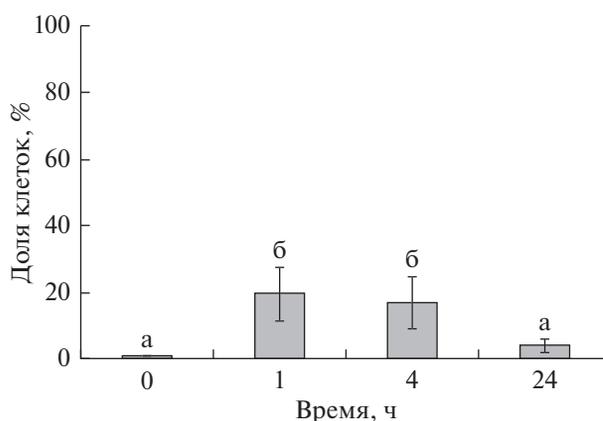
активно используется для исследования механизмов восстановительных морфогенезов (Долматов, Машанов, 2007). В настоящее время накоплена обширная информация о клеточных и молекулярных механизмах восстановления тканей и органов у *E. fraudatrix*. Транскриптомный анализ показал наличие экспрессии гена *piwi* в регенери-

рующих тканях этого вида голотурий, что позволяет использовать белок PIWI для идентификации клеток-предшественниц целомочитов (Boyko et al., 2020).

Клеточный состав ЦЖ *E. fraudatrix* охарактеризован ранее с привлечением данных ультраструктурного анализа (Долматов, Машанов, 2007; Eliseikina et al., 2010). Среди целомочитов выделены следующие типы: амебоциты, морулоподобные клетки, гемоциты, кристаллические клетки, а также ювенильные клетки с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением и неразвитым гетеросинтетическим аппаратом. Таким образом, целомочиты *E. fraudatrix* различаются не только функционально, но и по степени дифференцированности, что выражено, в частности, в изменении их линейных размеров и структуры цитоплазмы. На основании этих показателей среди клеток ЦЖ нами выделены три группы целомочитов: низкодифференцированные ювенильные клетки, средне- и высокодифференцированные целомочиты — амебоциты, морулоподобные клетки, гемоциты и кристаллические клетки.

При эвисцерации комплекса внутренних органов у *E. fraudatrix* содержание целомочитов в ЦЖ снижалось на порядок по сравнению с интактными животными. Это обусловлено потерей значительного объема ЦЖ, а также участием оставшихся в ЦЖ клеток в защитных реакциях — тромбообразовании и удалении клеточных остатков в области повреждения тканей после эвисцерации (Долматов, Машанов, 2007). Восстановление численности клеток в ЦЖ *E. fraudatrix* до значений, близких к таковым у интактных животных, происходило в течение первых суток после эвисцерации. При этом, как показано ранее, пролиферативная активность оставшейся части целомочитов не усиливалась (см.: Долматов, Машанов, 2007; Eliseikina et al., 2010). Сходная динамика описана при восстановлении состава ЦЖ у голотурии *Apostichopus japonicus* после эвисцерации (Li et al., 2018) и у морской звезды *Asterias rubens* после удаления существенной части ЦЖ (Козлова и др., 2006). На примере *A. japonicus* показано, что на более поздних этапах регенерации вплоть до завершения органогенеза колебание численности клеток ЦЖ происходило уже за счет пролиферации и последующей дифференцировки циркулирующих целомочитов (Li et al., 2018).

Анализ изменений соотношения дифференцированных и ювенильных групп клеток в ходе регенерации клеточного состава ЦЖ у *E. fraudatrix* показал, что снижение доли дифференцированных целомочитов через 1 ч после эвисцерации и в меньшей степени через 24 ч после начала эксперимента сопровождалось увеличением содержания ювенильных клеток. Напротив, снижение



**Рис. 5.** Содержание PIWI-позитивных клеток в целомочитовой жидкости голотурии *Eupentactia fraudatrix* в норме и после эвисцерации. По оси абсцисс — время после эвисцерации (0 — интактные животные; 1, 4 и 24 ч), по оси ординат — доля иммунопозитивных клеток, %. Одинаковые буквенные индексы над столбцами показывают отсутствие статистически значимых различий между значениями при  $p < 0.05$  и  $n = 5$ .

доли ювенильных клеток в ЦЖ через 4 ч после эвисцерации сопровождалось ростом содержания в ней дифференцированных форм. Отмеченная разнонаправленная динамика целомочитов разных размерно-функциональных групп свидетельствует в пользу идущих в ЦЖ процессов дифференцировки ювенильных клеток в функционально активные целомочиты. Отсутствие пролиферации целомочитов на начальных этапах регенерации предполагает наличие внешней резервной субпопуляции клеток-предшественниц, ответственных за быстрое восстановление клеточного состава ЦЖ.

Обнаружение среди целомочитов у *E. fraudatrix* клеток, содержащих белок PIWI, подтверждает это предположение. Причем, если у интактных животных в ЦЖ PIWI-позитивные клетки были крайне редки, то через 1 и 4 ч после эвисцерации их количество значительно возросло, что, вероятно, связано с выселением пула резервных клеток из тканей стенки тела или других соматических тканей. Предполагается, что “нишами” стволовых клеток у иглокожих могут являться эпителиальные, соединительные и нервные ткани (Chia, Xing, 1996; Morrison, Spradling, 2008; Rinkevich, Matriga, 2009). Однако отсутствие специфических для стволовых клеток морфологических маркеров не позволяет идентифицировать и проследить их цикл в ходе морфогенезов. На примере процесса восстановления клеточного состава ЦЖ *E. fraudatrix* в течение первых суток после эвисцерации показано, что использование белка PIWI для детекции резервных плюрипотентных клеток может способствовать решению этой задачи. В частности, идентификация PIWI-по-

зитивных клеток в ЦЖ и динамика их численности на начальных этапах регенерации могут рассматриваться как свидетельство участия плюрипотентных клеток в восстановлении популяции клеток ЦЖ у голотурии *E. fraudatrix*.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование поддержано грантом РФФИ (№ 17-04-01334).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Долматов И.Ю. Регенерация у иглокожих // Биол. моря. 1999. Т. 25. № 3. С. 191–200.
- Долматов И.Ю., Машанов В.С. Регенерация у голотурий. Владивосток: Дальнаука. 2007. 206 с.
- Елисейкина М.Г., Магарламов Т.Ю. Морфология целомитов голотурий *Apostichopus japonicus* (Aspidochirota: Stichopodiidae) и *Cicumaria japonica* (Dendrochirota: Cucumariidae) // Биол. моря. 2002. Т. 28. № 3. С. 214–219.
- Козлова А.Б., Петухова О.А., Пинаев Г.П. Анализ клеточных элементов целомической жидкости на ранних сроках регенерации морской звезды *Asterias rubens* L. // Цитология. 2006. Т. 48. № 3. С. 175–183.
- Alié A., Leclère L., Jager M. et al. Somatic stem cells express Piwi and Vasa genes in an adult ctenophore: ancient association of “germline genes” with stemness // Dev. Biol. 2011. V. 350. № 1. P. 183–197.
- Boyko A.V., Girich A.S., Tkacheva E.S., Dolmatov I.Yu. The Eupentacta fraudatrix transcriptome provides insights into regulation of cell transdifferentiation // Sci. Rep. 2020. V. 10. 1522. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58470-0>
- Brennecke J., Malone C.D., Aravin A.A. et al. An epigenetic role for maternally inherited piRNAs in transposon silencing // Science. 2008. V. 322. P. 1387–1392.
- Candia Carnevali M.D. Regeneration in echinoderms: repair, regrowth, cloning // Invertebr. Survival J. 2006. V. 3. P. 64–76.
- Cerutti L., Mian N., Bateman A. Domains in gene silencing and cell differentiation proteins: the novel PAZ domain and redefinition of the Piwi domain // Trends Biochem. Sci. 2000. V. 25. № 10. P. 481–482.
- Chia F.-S., Xing J. Echinoderm coelomocytes // Zool. Stud. 1996. V. 35. № 4. P. 231–254.
- Cox D.N., Chao A., Baker J. et al. A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal // Genes Dev. 1998. V. 12. № 23. P. 3715–3727.
- Eliseikina M.G., Magarlamov T.Yu., Dolmatov I.Yu. Stem cells of holothuroid coelomocytes // Echinoderms: Durham. Proc. 12th Int. Echinoderm Conf. Boca Raton: CRC Press. 2010. P. 163–166.
- Funayama N. The stem cell system in demosponges: insights into the origin of somatic stem cells // Dev. Growth Differ. 2010. V. 52. № 1. P. 1–14.
- Juliano C.E., Reich A., Liu N. et al. PIWI proteins and PIWI-interacting RNAs function in *Hydra* somatic stem cells // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2014. V. 111. № 1. P. 337–342.
- Juliano C.E., Swartz S.Z., Wessel G.M. A conserved germline multipotency program // Development. 2010. V. 137. P. 4113–4126.
- Juliano C., Wang J., Lin H. Uniting germline and stem cells: the function of piwi proteins and the piRNA pathway in diverse organisms // Annu. Rev. Genet. 2011. V. 45. P. 447–469.
- Kawamura K., Sunanaga T. Role of Vasa, Piwi, and Myc-expressing coelomic cells in gonad regeneration of the colonial tunicate, *Botryllus primigenus* // Mech. Dev. 2011. V. 128. P. 457–470.
- Kuhn C.-D., Joshua-Tor L. Eukaryotic Argonautes come into focus // Trends Biochem. Sci. 2013. V. 38. № 5. P. 263–271.
- Kuramochi-Miyagawa S., Watanabe T., Gotoh K. et al. DNA methylation of retrotransposon genes is regulated by Piwi family members MILI and MIWI2 in murine fetal testes // Genes Dev. 2008. V. 22. P. 908–917.
- Li Q., Ren Y., Liang C. et al. Regeneration of coelomocytes after evisceration in the sea cucumber, *Apostichopus japonicus* // Fish Shellfish Immunol. 2018. V. 76. P. 266–271.
- Lin H., Spradling A.C. A novel group of pumilio mutations affects the asymmetric division of germline stem cells in the *Drosophila* ovary // Development. 1997. V. 124. № 12. P. 2463–2476.
- Morrison S.J., Spradling A.C. Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life // Cell. 2008. V. 132. № 4. P. 598–611.
- Palakodeti D., Smielewska M., Lu Y.-C. et al. The PIWI proteins SMEDWI-2 and SMEDWI-3 are required for stem cell function and piRNA expression in planarians // RNA. 2008. V. 14. № 6. P. 1174–1186.
- Plickert G., Frank U., Müller W.A. *Hydractinia*, a pioneering model for stem cell biology and reprogramming somatic cells to pluripotency // Dev. Biol. 2012. V. 56. P. 519–534.
- Ramírez-Gómez F., García-Arrarás J.E. Echinoderm immunity // Invertebr. Survival J. 2010. V. 7. P. 211–220.
- Reddien P.W., Oviedo N.J., Jennings J.R. et al. SMEDWI-2 is a PIWI-like protein that regulates planarian stem cells // Science. 2005. V. 310. № 5752. P. 1327–1330.
- Rinkevich B., Matranga V. Stem cells in marine organisms. London: Springer-Verlag. 2009. 367 p.
- Rinkevich Y., Rosner A., Rabinowitz C. et al. Piwi positive cells that line the vasculature epithelium, underlie whole body regeneration in a basal chordate // Dev. Biol. 2010. V. 345. № 1. P. 94–104.
- Rosner A., Moiseeva E., Rinkevich Y. et al. Vasa and the germ line lineage in a colonial urochordate // Dev. Biol. 2009. V. 331. P. 113–128.

- Schirle N.T., MacRae I.J. Structure and mechanism of Argonaute proteins // *Enzymes*. 2012. V. 32. P. 83–100.
- Seipel K., Yanze N., Schmid V. The germ line and somatic stem cell gene Cniwi in the jellyfish *Podocoryne carnea* // *Int. J. Dev. Biol.* 2004. V. 48. P. 1–7.
- Sharlaimova N.S., Pinaev G.P., Petukhova O.A. Comparative analysis of behavior and proliferative activity in culture of cells of coelomic fluid and of cells of various tissues of the sea star *Asterias rubens* L. isolated from normal and injured animals // *Cell Tissue Biol.* 2010. V. 4. № 3. P. 280–288.
- Smith L. C., Ghosh J., Buckley K.M. et al. Echinoderm immunity // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010. P. 260–301.
- Song J.-J., Smith S.K., Hannon G.J., Joshua-Tor L. Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity // *Science*. 2004. V. 305. № 5689. P. 1434–1437.
- Thomson T., Lin H. The biogenesis and function of PIWI proteins and piRNAs: progress and prospect // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2009. V. 25. P. 355–376.
- Vagin V.V., Sigova A., Li C. et al. A distinct small RNA pathway silences selfish genetic elements in the germline // *Science*. 2006. V. 313. № 5785. P. 320–324.
- Zhang Q.J., Luo Y.J., Wu H.R. et al. Expression of germline markers in three species of amphioxus supports a preformation mechanism of germ cell development in cephalochordates // *EvoDevo*. 2013. V. 4. № 1. P. 17.
- Zhu W., Pao G.M., Satoh A. et al. Activation of germline-specific genes is required for limb regeneration in the Mexican axolotl // *Dev. Biol.* 2012. V. 370. № 1. P. 42–51.

## The Immunocytochemical Identification of PIWI-Positive Cells During the Recovery of a Coelomocyte Population in the Holothurian *Eupentacta fraudatrix* (Djakonov et Baranova, 1958) (Holothuroidea: Dendrochirota) After Evisceration

E. G. Zavalnaya<sup>a, b</sup>, E. V. Shamshurina<sup>a</sup>, and M. G. Eliseikina<sup>a</sup>

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

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

The quantitative dynamics of coelomic fluid (CF) cells of *Eupentacta fraudatrix* (Djakonov et Baranova, 1958) were studied by flow cytometry within a day after evisceration. A differently directed dynamics pattern was noted among groups of low differentiated juvenile cells and differentiated cells during regeneration. The juvenile coelomocyte fraction increased, while the content of differentiated cells decreased and vice versa. The use of PIWI protein as a pluripotent stem cell marker allowed us to distinguish a PIWI-positive cell subset among juvenile coelomocytes. Their content in the CF was highest during early regeneration at 1 and 4 h after evisceration and decreased at 24 h after evisceration.

**Keywords:** *Eupentacta fraudatrix*, flow cytometry, coelomocytes, evisceration, regeneration, PIWI protein

УДК 58.02

## ВЛИЯНИЕ СВЕТА РАЗНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ С-ФИКОЦИАНИНСОДЕРЖАЮЩЕЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCOCCUS* SP. WH5701

© 2020 г. Т. В. Ефимова<sup>1</sup> \*, Т. Я. Чурилова<sup>1</sup>, В. С. Муханов<sup>1</sup>

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

\*e-mail: tatyana-iefimova@yandex.ru

Поступила в редакцию 12.03.2019 г.

После доработки 09.07.2019 г.

Принята к публикации 03.10.2019 г.

Объемы клеток штамма цианобактерии *Synechococcus* sp. WH5701, а также внутриклеточное содержание хлорофилла *a* и С-фикоцианина не зависели от спектрального состава света. Удельные (нормированные на содержание хлорофилла *a*) показатели поглощения света пигментами на длинах волн 438 и 678 нм у клеток, адаптированных к синему свету, были выше, чем у клеток, адаптированных к белому свету, на 20 и 50% соответственно. Установлена зависимость квантового выхода и скорости роста клеток *Synechococcus* sp. WH5701 от спектрального состава света. Максимальный квантовый выход роста был наименьшим при адаптации к синему свету и наибольшим при адаптации к красному свету. Выявлена обратная связь между удельным поглощением света пигментами клеток и квантовым выходом роста, обусловленная тем, что у цианобактерий в отличие от эукариотических микроводорослей фотосинтез и рост зависят от квантов, поглощенных только фикобилиновыми пигментами, а не всеми пигментами. Это связано с особенностью строения и функционирования фотосинтетического аппарата цианобактерий.

**Ключевые слова:** *Synechococcus* sp. WH5701, цианобактерии, поглощение света, скорость роста, квантовый выход роста, пигменты

**DOI:** 10.31857/S0134347520020047

Цианобактерии обладают способностью к комплементарной хроматической адаптации (КХА), которая заключается в увеличении в клетках водорослей количества фикобилипротеинов (ФБП), полоса поглощения которых совпадает со спектром света в среде, и в уменьшении количества ФБП, не поглощающих свет в заданном волновом диапазоне (Kirk, 2011). По современной классификации различают четыре группы цианобактерий в зависимости от изменений в пигментном составе при адаптации к свету разного спектрального состава (СРСС) (Everroad et al., 2006). В первую группу входят цианобактерии, не обладающие способностью к КХА – это цианобактерии, фикобилисомы (ФБС) которых содержат С-фикоцианин (ФЦ), но не содержат С-фикоэритрин (ФЭ), и некоторые ФЭ-содержащие цианобактерии. Ко второй группе относят цианобактерии, у которых при адаптации к зеленому свету увеличивается доля ФЭ в ФБС, а количество ФЦ не изменяется. В третью группу объединены цианобактерии, у которых увеличивается доля ФЭ в ФБС при адаптации к зеленому свету или доля ФЦ при

адаптации к красному свету. Цианобактерии четвертой группы способны изменять отношение между хромофорами фикоэритробилином (ФЭБ) и фикоуробилином (ФУБ) в ФЭ в зависимости от спектрального состава света (Everroad et al., 2006).

В Мировом океане пикоцианобактерии *Synechococcus* spp. встречаются почти повсеместно и являются доминирующими фотоавтотрофами, на долю которых приходится значительная часть первичной продукции (Waterbury et al., 1986). Штаммы *Synechococcus* spp. по составу ФБП разделяют на три основных типа (Six et al., 2007). Представители типа 1 содержат только ФЦ (не способны к КХА), а пигментный комплекс видов, отнесенных к типам 2 и 3, включает ФЦ и ФЭ. В олиготрофных водах океана в нижнюю часть освещенного слоя проникает в основном синяя часть видимого излучения. В этих световых условиях в большом количестве развиваются ФЭ-содержащие штаммы *Synechococcus*, содержащие в основном ФУБ. В мезотрофных и прибрежных водах с преимущественным проникновением синезеленого и зеленого света доминируют штаммы, со-

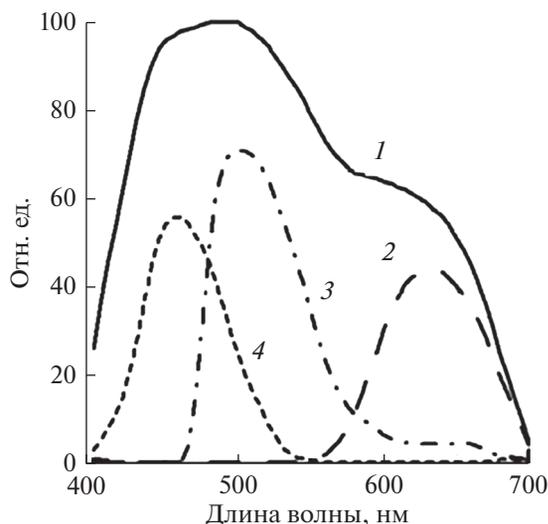


Рис. 1. Спектральная характеристика источников освещения. 1 — белый свет, 2 — красный свет, 3 — зеленый свет, 4 — синий свет.

держат в основном ФЭБ (Waterbury et al., 1986; Six et al., 2004). Штаммы *Synechococcus* типа 1 (ФЦ-содержащие) доминируют в мутных поверхностных водах и/или в акваториях, подверженных влиянию стока рек (Uysal, 2000; Jiang et al., 2016; Xia et al., 2017), что, вероятно, связано с влиянием спектрального состава света. В отличие от прозрачных вод, в нижнюю часть освещенного слоя которых проникает синий или сине-зеленый свет, в более мутные водоемы проникает красное излучение (~600 нм), комплементарное полосе поглощения ФЦ. Из-за низкой прозрачности таких вод и более интенсивного поглощения света взвешенным и растворенным органическим веществом в коротковолновой части спектра (Kirg, 2011) фитопланктон уже в подповерхностном слое существует при доминирующем красном излучении.

В прибрежные воды Мирового океана в связи с изменением климата и усилением антропогенного воздействия увеличивается поступление взвешенного и растворенного неорганического и органического вещества терригенной природы (Oguz, 2008; Патин, 2015). Вследствие этого повышается их трофность и снижается прозрачность, соответственно, изменяется спектральный состав света (максимум проникающего излучения смещается в более длинноволновую область). Такие изменения в среде могут приводить к изменению видового состава фитопланктона и “цветению” воды, вызванному развитием нетипичных видов. В условиях высокой трофности/мутности часто наблюдается “цветение” ФЦ-содержащих цианобактерий (Александров и др., 2012; Карабашев, Евдошенко, 2015). Для понимания и прогнозирования последствий повышения мутности прибрежных вод

на уровне первично-продукционного звена необходимы сведения о фотосинтетических и ростовых характеристиках ФЦ-содержащих цианобактерий.

В связи с этим определена цель настоящей работы — изучение влияния света разного спектрального состава (синего, зеленого, красного, белого) на фотосинтетические характеристики С-фикоцианинсодержащей цианобактерии *Synechococcus* sp. WH5701, по составу ФБП относящейся к типу 1 (Six et al., 2007).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования послужил С-фикоцианинсодержащий штамм морской цианобактерии *Synechococcus* sp. WH5701, полученный из коллекции Отдела экологической физиологии водорослей ФГБУН ФИЦ Института биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН.

*Synechococcus* sp. WH5701 выращивали на питательной среде f/2 (Andersen, 2005) при температуре 18–20°C и постоянном освещении, используя лампы дневного света ЛДЦ-30 (Айзенберг, 1995) и цветные фильтры (красный, зеленый, синий) (рис. 1). Культуру *Synechococcus* sp. WH5701 адаптировали к СРСС с одинаковым количеством квантов света, поглощенных пигментами клеток в расчете на единичную концентрацию хлорофилла *a* (Хл *a*) (PUR\*). В экспериментах использовали PUR\*, равную 0.050 мкмоль фотонов/(мг Хл *a* с). Такое количество квантов должно поглощаться клетками при облучении белым светом с плотностью потока квантов 3 мкмоль/(м<sup>2</sup> с). Выбор данной плотности светового потока обусловлен тем, что на участке лимитирующих интенсивностей света скорость роста и фотосинтез зависит только от скорости световых реакций. В условиях светового лимитирования все физиологические процессы в клетках микроводорослей направлены на повышение способности клеток поглощать кванты энергии и на увеличение квантовой эффективности использования поглощенной энергии в процессе синтеза органического вещества. В условиях светового лимитирования квантовый выход роста является максимальным и характеризует способность клеток использовать поглощенные кванты света на рост. При этом необходимо иметь в виду, что квантовый выход роста при интенсивности света выше насыщающей будет зависеть от максимального (потенциального) квантового выхода и величины облученности. Таким образом, различия в квантовой эффективности роста можно выявить только при освещенности ниже насыщающей.

Световые условия измеряли непосредственно в экспериментальной емкости с помощью лабораторного квантометра QSL2101 (Biospherical In-

struments Inc) с погружным сенсором сферической формы (4π). Адаптацию клеток считали завершенной, когда внутриклеточное содержание пигментов переставало изменяться и выходило на постоянный уровень (“плато”).

Численность клеток *Synechococcus* sp., их линейный размер и содержание Хл *a* ( $C_a$ ) в клетках определяли с помощью проточного цитометра “Cytomics™FC 500” (Beckman Coulter, США), оборудованного 488-нанометровым однофазным аргоновым лазером, и программного обеспечения СХР. Качество измерений контролировали с помощью калибровочных флуоросфер “Flow-Check™” (Beckman Coulter) с известными размерами и концентрацией в пробе. Цитометрические данные обрабатывали с помощью программы “Flowing Software v. 2.5.0” (Perttu Terho, Turku Centre for Biotechnology, University of Turku, Finland, www.flowingsoftware.com).

Концентрацию клеток ( $N$ ) определяли в неокрашенных пробах с помощью выделения популяции клеток на 2-параметрических цитограммах показателя рассеяния света клетками вперед (FS) и измерения автофлуоресценции Хл *a* (FL4) в красной (675 нм) области спектра. Концентрацию клеток рассчитывали по скорости потока пробы и количеству клеток (более 10 тыс. клеток), зарегистрированных в определенный промежуток времени.

Скорость деления клеток рассчитывали по общепринятой формуле Андерсена (Andersen, 2005):

$$\mu = \frac{\log_2 N_t - \log_2 N_0}{t},$$

где  $\mu$  – количество делений клеток в сутки;  $t$  – время между измерениями, сут;  $N_0$  и  $N_t$  – концентрация клеток в культуре в начальный момент времени и через  $t$  сут.

Линейный размер клеток ( $L$ , мкм) оценивали на основе данных канала FS как величину диаметра эквивалентной сферы (ДЭС), объем которой равен объему клетки независимо от ее морфологии.

$C_a$  и содержание суммарных каротиноидов (КР) в клетках определяли спектрофотометрическим методом (Strickland, Parsons, 1972; ГОСТ 17.1.4.02-90).

Спектры показателей поглощения света пигментами культуры измеряли по методике “количественного определения на увлажненных фильтрах” (Mitchell, Kiefer, 1988). Клетки *Synechococcus* sp. WH5701 собирали на стекловолоконистые фильтры (Whatman GF/F) путем фильтрации аликвоты культуры при вакууме не более 0.2 атм. Оптические измерения проводили на двулучевом спектрофотометре “Specord UV-VIS” (Karl Zeiss Jena, ГДР) при длине волны 400–750 нм. Общее

поглощение света взвешенным веществом ( $a_p(\lambda)$ ) разделяли на поглощение света пигментами клеток ( $a_{ph}(\lambda)$ ) и обесцвеченными клетками ( $a_{NAP}(\lambda)$ ) (Tassan, Ferrari, 1995). Была выполнена поправка ( $\beta$ -коррекция) на изменение показателей поглощения света при концентрации взвеси на фильтре по сравнению с показателями для частиц во взвешенном состоянии (Moore et al., 1995).

Квантовый выход роста ( $\phi$ ) определяли на основе  $\mu$  и PUR\* по формуле (Nielsen, 1993):

$$\phi = 3.47 \times 10^{-6} \left( \frac{C}{\text{Хл}a} \right) \mu / \text{PUR}^*,$$

где  $C/\text{Хл}a$  – соотношение между органическим углеродом (C) и Хл *a* в клетках цианобактерий, мг/мг.

Величину C рассчитывали по формуле (Menden-Deuer, Lessard, 2000):  $C = 0.216V^{0.939}$ , где  $V$  – объем клеток.

Величину PUR\* рассчитывали по формуле:

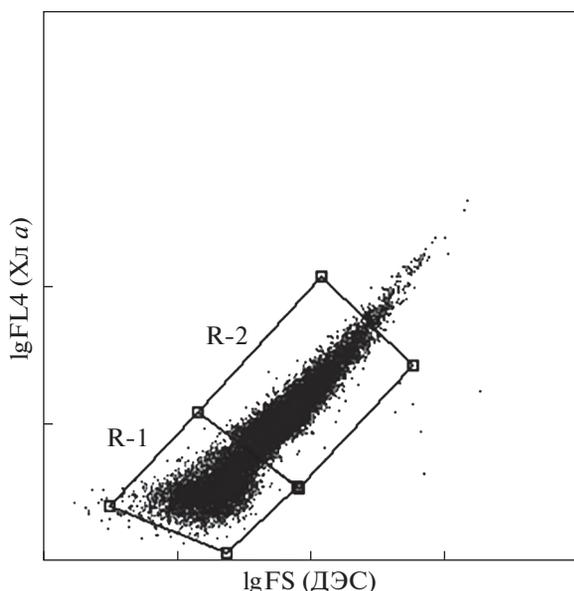
$\text{PUR}^* = a_{ph/chl}^* \times \text{PAR}$ , где  $a_{ph/chl}^*$  – эффективность поглощения света пигментами микроводорослей в расчете на единичную концентрацию Хл *a*,  $\text{м}^2/\text{мг}$  Хл *a*; PAR – фотосинтетически активная радиация,  $\text{мкмоль}/(\text{м}^2 \text{с})$ . Параметр  $a_{ph/chl}^*$ , учитывающий спектральные характеристики фотосинтетически активной радиации в диапазоне длин волн ( $\lambda$ ) от 400 до 700 нм ( $E(\lambda)$ ), а также величину удельного [нормированного на содержание Хл *a* ( $C_a$ )] показателя поглощения света пигментами фитопланктона ( $a_{ph/chl}(\lambda)$ ), рассчитан по формуле:

$$a_{ph/chl}^* = \frac{\int_{400}^{700} a_{ph/chl}(\lambda) E(\lambda) d\lambda}{\int_{400}^{700} E(\lambda) d\lambda}.$$

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На цитограмме штамма *Synechococcus* sp. WH5701 (рис. 2) кластер имеет вытянутую форму, что, вероятно, связано с присутствием в культуре как одиночных клеток, так и групп преимущественно парных клеток. Кластер, представленный одиночными клетками, можно условно выделить в область данных R-1, а кластер парных клеток – в область данных R-2 (рис. 2). Анализ численности клеток для областей данных R-1 и R-2 проводили отдельно. Причем значения, полученные для кластера R-2, удваивали для оценки общего количества одиночных клеток и скорости их деления. Отмечено однотипное изменение концентрации одиночных и удвоенных клеток в зависимости от условий адаптации (рис. 3).

Максимальная величина  $\mu$  зарегистрирована при адаптации к красному свету, комплементарному полюсу поглощения вспомогательного пигмента С-фикоцианина. При красном свете  $\mu$  была



**Рис. 2.** Зависимость автофлуоресценции хлорофилла *a* (FL4) в красной области спектра (675 нм) от светорассеяния вперед (FS) клетками цианобактерии *Synechococcus* sp. WH5701, адаптированной к белому свету. Выделенные области данных R-1 и R-2 соответствуют одиночным и парным клеткам.

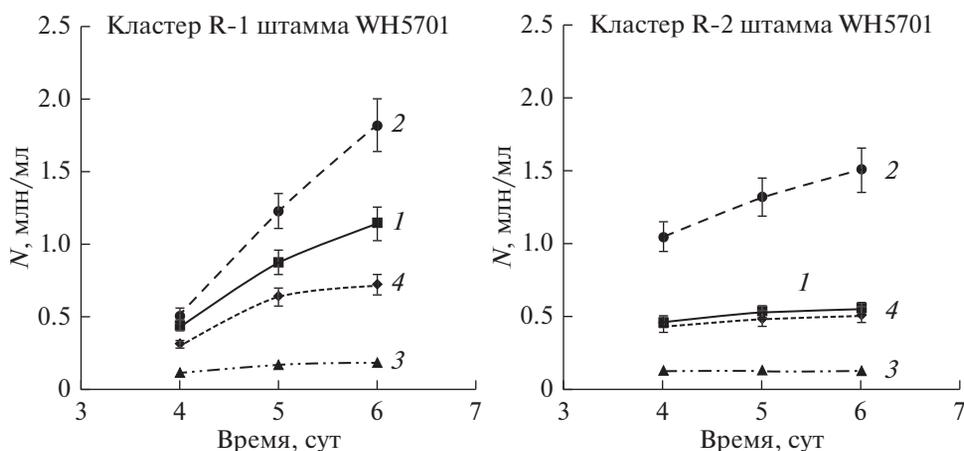
приблизительно на 30% больше, чем при белом (табл. 1). Медленнее всего клетки росли при синем свете: величина  $\mu$  была на 40–50% меньше значений, полученных при белом свете. При зеленом свете клетки делились со скоростью, незначительно отличающейся от  $\mu$ , отмеченной при белом свете (табл. 1).

Несмотря на различия в скорости роста, зависимости внутриклеточного  $C_a$  от СРСС не наблюдалось. Так, величина оцениваемого по уровню автофлуоресценции внутриклеточного  $C_a$  на 6-е

сут адаптации в среднем составляла  $36 \pm 2$  отн. ед. (рис. 4). При этом внутриклеточное  $C_a$ , определенное спектрофотометрическим методом, составляло  $(4.2 \pm 0.31) \times 10^{-14}$  г/кл. В отличие от внутриклеточного  $C_a$ , содержание каротиноидов (КР) в клетках изменялось в зависимости от СРСС. Концентрация КР в клетках, адаптированных к белому, красному и зеленому свету, составляла  $(1.8 \pm 0.14) \times 10^{-14}$  г/кл, что практически в 2 раза меньше величин, полученных при адаптации к синему свету ( $3.1 \times 10^{-14}$  г/кл).

Изменение внутриклеточного содержания пигментов проявилось на спектрах оптической плотности (OD) ацетоновых экстрактов пигментов, нормированных на величину OD на длине волны 664 нм, соответствующей полосе поглощения света Хл *a* (рис. 5). Величина отношения OD на длинах волн ~430 и 664 нм, соответствующих максимумам спектра ( $R_{ac}$ ), увеличилась на 20% при адаптации клеток к синему свету по сравнению с таковой при адаптации к белому свету (рис. 5). Величина  $R_{ac}$  отражает изменение соотношения между количеством Хл *a* и КР, так как пик на длине волны ~430 нм связан с поглощением света Хл *a* и КР, а пик на длине волны 664 нм — лишь Хл *a*.

Объемы клеток не изменялись и составляли  $1.3 \pm 0.081$  мкм<sup>3</sup>. Рассчитанное на основании объема клеток содержание углерода составляло  $(2.7 \pm 0.093) \times 10^{-13}$  г/кл. Таким образом, отношение  $C/Хл a$  в клетках, адаптированных к разному спектральному составу света, составляло  $6.5 \pm 0.44$ , что соответствует значениям, полученным для адаптированных к темноте клеток (Finenko et al., 2003). Однако светопоглощающие характеристики *Synechococcus* sp. различались. Так, для клеток, адаптированных к красному свету, были получены наибольшие показатели поглощения света пигментами ( $a_{ph}(\lambda)$ ), а для клеток, адаптирован-



**Рис. 3.** Динамика концентрации клеток ( $N$ ) в культуре *Synechococcus* sp. WH5701 (на 4–6-е сут хроматической адаптации) при свете разного спектрального состава. 1 – белый свет, 2 – красный свет, 3 – синий свет, 4 – зеленый свет.

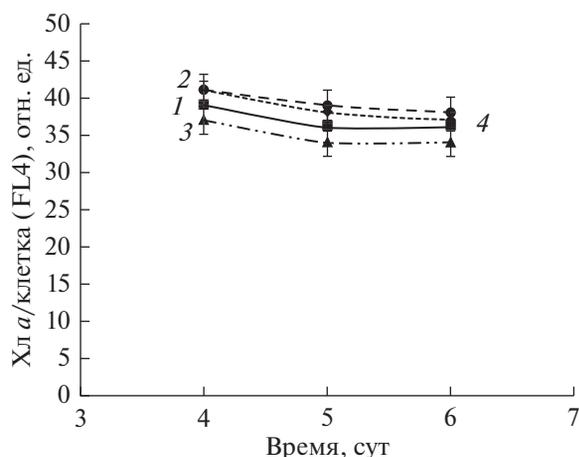
**Таблица 1.** Скорость деления клеток ( $\mu$ , число делений/сутки) цианобактерии *Synechococcus* sp. WH5701 при адаптации к свету разного спектрального состава

Длительность адаптации, сут	Свет			
	белый	красный	синий	зеленый
Область данных R-1				
5	$1.0 \pm 0.1$	$1.3 \pm 0.1$	$0.5 \pm 0.05$	$1.0 \pm 0.1$
6	$0.4 \pm 0.04$	$0.6 \pm 0.1$	$0.1 \pm 0.01$	$0.2 \pm 0.02$
Область данных R-2				
5	$0.2 \pm 0.02$	$0.3 \pm 0.03$	0	$0.2 \pm 0.02$
6	$0.1 \pm 0.01$	$0.2 \pm 0.02$	0	0

Примечание. Приведено среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 3$ ).

ных к синему свету, — наименьшие (рис. 6а). Для клеток, адаптированных к зеленому и белому свету, получены приблизительно одинаковые величины  $a_{ph}(\lambda)$  — промежуточные между значениями, полученными при адаптации к красному и синему свету.

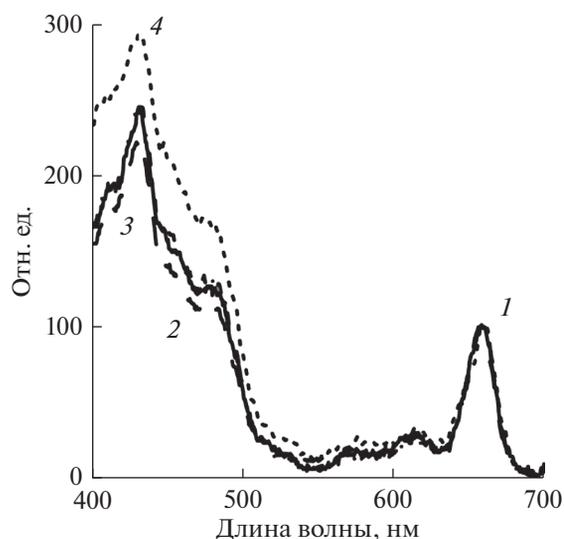
При этом концентрация Хл *a* в культуре клеток, адаптированных к красному свету, составляла  $190 \text{ мг/м}^3$ , к синему —  $20 \text{ мг/м}^3$ , к зеленому —  $67 \text{ мг/м}^3$ , к белому —  $95 \text{ мг/м}^3$ . В результате для клеток, адаптированных к синему свету, были получены наибольшие значения  $a_{ph/chl}(\lambda)$  на длинах волн  $\sim 438, 620$  и  $678 \text{ нм}$ , соответствующих основным пикам поглощения света пигментами КР ( $438 \text{ нм}$ ), ФЦ ( $620 \text{ нм}$ ) и Хл *a* ( $678 \text{ нм}$ ), по сравнению с клетками, адаптированными к свету другого спектрального состава (табл. 2). При этом фактическая величина  $PUR^*$  [мкмоль фотонов/(мг Хл *a* с)] для белого света составила  $0.039$ , для зеленого —  $0.044$ , для красного —  $0.036$  и для синего —  $0.073$ .



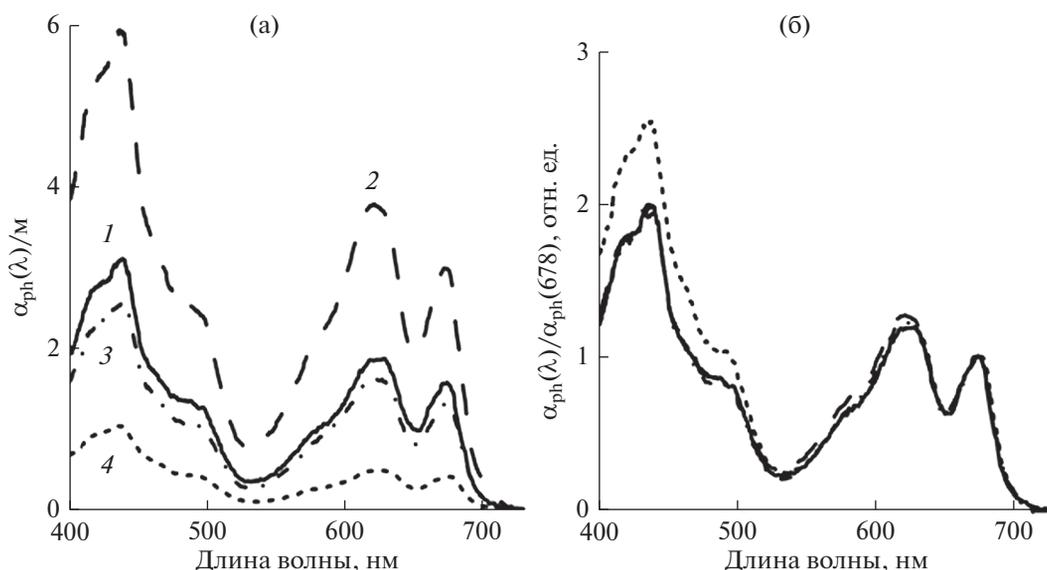
**Рис. 4.** Динамика содержания хлорофилла *a* (Хл *a*) (в относительных единицах автофлуоресценции, отн. ед.) в клетках *Synechococcus* sp. WH5701 при адаптации к свету разного спектрального состава. 1 — белый свет, 2 — красный свет, 3 — синий свет, 4 — зеленый свет.

Таким образом, величина  $\phi$  при адаптации *Synechococcus* sp. WH5701 к синему свету была наименьшей ( $0.012$  моль С/моль квантов), а при адаптации клеток к красному свету — наибольшей ( $0.11$  моль С/моль квантов). При адаптации этой цианобактерии к зеленому и белому свету величина  $\phi$  составляла  $0.025$  и  $0.059$  моль С/моль квантов соответственно.

Чтобы оценить изменение формы спектров в результате адаптации к СРСС, спектры  $a_{ph}(\lambda)$  были нормированы на величину показателя на длине волны  $678 \text{ нм}$  ( $a_{ph}(\lambda)/a_{ph}(678)$ ) (рис. 6б). В качестве показателей формы спектра можно рассматривать соотношение на отдельных длинах волн. Соотношение показателей поглощения света в синем и красном максимумах спектра  $a_{ph}(438)/a_{ph}(678)$  при белом, зеленом и красном



**Рис. 5.** Спектры поглощения света пигментами культуры *Synechococcus* sp. WH5701 в ацетоновом экстракте ( $OD(\lambda)$ ), нормированные к  $OD(\lambda)$  на  $664 \text{ нм}$  ( $OD(664)$ ), при адаптации к свету разного спектрального состава. Обозначения, как на рис. 1.



**Рис. 6.** Спектры поглощения света пигментами ( $a_{ph}(\lambda)$ ) *Synechococcus* sp. WH5701: а – при адаптации к свету разного спектрального состава; б – нормированные на поглощение света на длине волны 678 нм ( $a_{ph}(\lambda)/a_{ph}(678)$ ). Обозначения, как на рис. 1.

свете в среднем составляло 2.0, а при синем свете – 2.6, что связано с увеличением внутриклеточного содержания КР при синем освещении (табл. 2). В пиках, соответствующих поглощению света ФЦ и Хл *a*, соотношение показателей поглощения света ( $a_{ph}(620)/a_{ph}(678)$ ) составляло 1.2, что отражает неизменность содержания ФЦ в клетках. Таким образом, отмечено увеличение внутриклеточного содержания КР при адаптации к синему свету при отсутствии влияния СРСС на содержание ФЦ.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

В результате проведенного исследования установлено, что штамм цианобактерии *Synechococcus* sp. WH5701 быстрее рос при красном свете, комплексном в полосе поглощения ФЦ, и мед-

леннее при синем свете, который не поглощается ФЦ, несмотря на увеличение концентрации КР в клетках при адаптации к синему свету. Следует отметить, что литературные данные по влиянию СРСС на скорость роста ФЦ-содержащих цианобактерий неоднозначны. Так, в экспериментах с пресноводными *Oscillatoria bourrellyi* (Ojala, 1993) и *Synechocystis* sp. (Hauschild et al., 1991) величина  $\mu$  не зависела от СРСС. Более низкие значения  $\mu$  при адаптации к синему свету, чем при адаптации к белому, были получены для *Oscillatoria agardhii* (см.: Millie et al., 1990). В опытах на культуре *Synechococcus leopoliensis* получены минимальные значения  $\mu$  при освещении зеленым светом (Hauschild et al., 1991). В нашем исследовании показано, что скорость роста цианобактерий зависела от спектральных условий освещения. Отмеченное нами влияние спектрального состава света на скорость роста *Synechococcus* sp. WH5701

**Таблица 2.** Показатели поглощения света пигментами цианобактерии *Synechococcus* sp. WH5701, нормированные на содержание хлорофилла *a* (Хл *a*), при адаптации к свету разного спектрального состава

Параметр	Свет			
	белый	красный	синий	зеленый
$a_{ph}/chl(438), m^2/mg \text{ Хл } a$	$0.033 \pm 0.003$	$0.031 \pm 0.002$	$0.052 \pm 0.005$	$0.035 \pm 0.003$
$a_{ph}/chl(678), m^2/mg \text{ Хл } a$	$0.017 \pm 0.002$	$0.016 \pm 0.002$	$0.020 \pm 0.002$	$0.018 \pm 0.002$
$a_{ph}(438)/a_{ph}(678)$	$2.0 \pm 0.2$	$2.0 \pm 0.1$	$2.6 \pm 0.2$	$2.0 \pm 0.1$
$a_{ph}/chl(620), m^2/mg \text{ Хл } a$	$0.020 \pm 0.002$	$0.020 \pm 0.002$	$0.024 \pm 0.002$	$0.022 \pm 0.002$
$a_{ph}(620)/a_{ph}(678)$	$1.2 \pm 0.1$	$1.3 \pm 0.1$	$1.2 \pm 0.1$	$1.2 \pm 0.1$

Примечание. Приведено среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 3$ ).

согласуется с результатами ранее проведенного исследования (Hauschild et al., 1991), в котором показано, что скорость роста клеток морского штамма *Synechococcus* sp. WH5701 снижалась при зеленом свете и увеличивалась при красном свете.

Скорость роста клеток пропорциональна  $S_a$  в клетках, удельному показателю поглощения света  $a_{ph/chl}(\lambda)$  и максимальному квантовому выходу роста (Kirk, 2011). В эксперименте величина  $a_{ph/chl}(\lambda)$  увеличилась примерно на 50% при выращивании культуры при синем свете по сравнению с таковой культуры, содержащейся при белом свете, но скорость роста при этом изменялась в обратном направлении (табл. 2). Следовательно, отмеченное увеличение (уменьшение) скорости роста клеток *Synechococcus* sp. WH5701 обусловлено увеличением (уменьшением) квантового выхода роста клеток. Причем степень изменчивости квантового выхода превышала степень изменчивости  $a_{ph/chl}(\lambda)$ , это и обусловило изменение скорости роста клеток. Следует отметить, что в условиях светового лимитирования величина квантового выхода максимальна (MacIntyre et al., 2002).

В настоящем исследовании отмечено снижение  $\phi$  с 0.11 моль С/моль квантов при красном свете до 0.012 моль С/моль квантов при синем свете. Это связано с тем, что в спектральной области, где большая часть падающего света поглощается ФЦ (красный свет), энергия возбуждения используется на фотосинтез и скорость роста с наибольшим квантовым выходом, который снижается с уменьшением доли поглощения света ФЦ в общем поглощении света всеми пигментами (от белого к синему свету) (рис. 7).

Полученные результаты согласуются с литературными данными о влиянии типа пигмента (ФЭ или ФЦ) на избирательность *Synechococcus* к качеству света (Stomp et al., 2004). При выращивании в хемостате смеси штаммов цианобактерий *Synechococcus* с разным набором пигментов фикобилинов результат конкуренции определялся спектральным составом используемого света: при освещении красным светом доминировал штамм с ФЦ, зеленым — штамм с ФЭ, а при освещении белым светом эти штаммы росли примерно с одинаковой скоростью (Stomp et al., 2004).

Изменение скорости роста клеток С-фикоцианинсодержащего штамма *Synechococcus* sp. WH5701 в зависимости от спектральных условий освещения связано с особенностью строения и функционирования фотосинтетического аппарата цианобактерий. Известно, что в растительных клетках ФС II, окисляя воду, поставляет электроны в электрон-транспортную цепь хлоропласта, откуда они затем используются ФС I. Каждая ФС включает внутренние (коровые) и внешние светособирающие комплексы (ССК), а также фотохимический реакционный центр (РЦ) (Kirk,

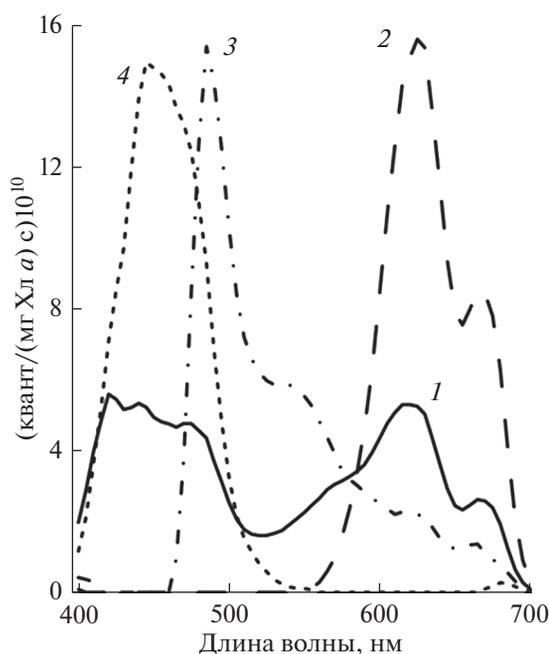


Рис. 7. Спектры поглощения квантов света пигмента *Synechococcus* sp. WH5701 при адаптации к свету разного спектрального состава. Обозначения, как на рис. 1.

2011). ССК высших растений и водорослей (эукариотов) расположены в мембранах тилакоидов и содержат ХЛ и КР. Внешние антенны поглощают кванты света и передают энергию возбуждения к внутренним кор-комплексам, которые затем передают ее специальным хлорофиллам РЦ, непосредственно включенным в фотосинтетический транспорт электронов. У цианобактерий в отличие от эукариотов весь Хл а сосредоточен в кор-комплексах (Golbeck, 1994), а роль основного светосборщика выполняют ФБС, примыкающие к комплексам ФС и находящиеся на поверхности тилакоидной мембраны. Общее число ФБС хромофоров в несколько раз превышает количество молекул Хл.

В настоящем исследовании при выращивании клеток цианобактерии при синем свете фикобилиновые пигменты не участвовали в его поглощении. В диапазоне синего излучения (рис. 6) доступные кванты света поглощались КР и хлорофиллами. В связи с тем, что у ФБП-содержащих водорослей Хл а сосредоточен в основном в фотосистеме ФС I (Стадничук и др., 2015), а фикобилины являются светособирающими пигментами для обеих фотосистем (Rakhimberdieva et al., 2001), на синем свете, где фикобилины не работают, возникает дефицит энергии, передаваемой на реакционный центр ФС II. В результате этого уменьшается линейный транспорт электронов от ФС II к ФС I, что лимитирует эффективность использования поглощенных синих квантов в фотосинтезе и ро-

сте цианобактерий, и, как следствие, приводит к снижению квантового выхода при синем свете. Ранее было показано, что квантовый выход фотосинтеза ФЭ- и ФЦ-содержащих цианобактерий WH7803 и WH5701 снижался на свету, поглощаемом только ФС I (<525 нм, >625 нм) (Lewis et al., 1986). Это видно по спектрам действия фотосинтеза [спектры, полученные в результате умножения  $a_{ph}(\lambda)$  на квантовый выход фотосинтеза] цианобактерий WH7803 и WH5701, отражающим слабую или полностью отсутствующую фотосинтетическую активность Хл *a*, несмотря на поглощение света Хл *a* (Lewis et al., 1986).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлена зависимость квантового выхода и скорости роста клеток *Synechococcus* sp. WH5701 от спектрального состава света. Выявлена обратная связь между удельным поглощением света пигментами клеток и квантовым выходом роста, обусловленная тем, что у цианобактерий в отличие от эукариотических микроводорослей фотосинтез и рост зависят от квантов, поглощенных только фикобилиновыми пигментами, а не от общего количества квантов, поглощенных всеми пигментами. Это связано с особенностью строения и функционирования фотосинтетического аппарата цианобактерий. Низкая эффективность использования ФЦ-содержащими цианобактериями при фотосинтезе квантов синего света, недоступных для поглощения ФЦ, возможно, определяет их слабую конкурентную способность к росту в воде с преимущественным проникновением синего или сине-зеленого излучения.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность научному сотруднику Отдела экологической физиологии водорослей ФИЦ ИнБЮМ А.И. Акимову за помощь в планировании и подготовке эксперимента, а также лаборанту Отдела экологической физиологии водорослей ФИЦ ИнБЮМ О.Р. Солонициной за предоставленные культуры для исследований.

#### 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 по теме государственного задания «Изучение пространственно-временной организации водных и сухопутных экосистем с целью развития си-

стемы оперативного мониторинга на основе данных дистанционного зондирования и ГИС-технологий» (регистрационный номер НИОКТР АААА-А19-119061190081-9).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Айзенберг Ю.Б. Справочная книга по светотехнике / 2-е изд., перераб. и доп. М.: Энергоатомиздат. 1995. 526 с.
- Александров Б.Г., Теренько Л.М., Нестерова Д.А. Первый случай «цветения» воды в Черном море водорослью *Nodularia spumigena* Mert. ex Bornet et Flahault (Суанопрокaryota) // Альгология. 2012. Т. 22. Вып. 2. С. 152–165.
- ГОСТ 17.1.4.02-90. Вода. Методика спектрофотометрического определения хлорофилла *a*. М.: ИПК Издательство стандартов. 1999. 14 с.
- Карабашев Г.С., Евдошенко М.А. Спектральные признаки цветения цианобактерий в Балтийском море по данным сканера MODIS // Соврем. пробл. дистанционного зондирования Земли из космоса. 2015. Т. 12. Вып. 3. С. 158–170.
- Патин С.А. Антропогенное воздействие на морские экосистемы и биоресурсы: источники, последствия, проблемы // Тр. ВНИРО. 2015. Т. 154. С. 85–104.
- Стадничук И.Н., Красильников П.М., Зленко Д.В. Фикобилисомы и фикобилипротеины цианобактерий // Микробиология. 2015. Т. 84. Вып. 2. С. 131–143.
- Andersen R.A. Algal culturing techniques. Burlington, Mass.: Elsevier Academic Press. 2005. 578 p.
- Everroad C., Six C., Partensky F. et al. Biochemical bases of type IV chromatic adaptation in marine *Synechococcus* spp. // J. Bacteriol. 2006. V. 188. P. 3345–3356.
- Finenko Z.Z., Hoepffner N., Williams R., Piontkovski S.A. Phytoplankton carbon to chlorophyll *a* ratio: response to light, temperature and nutrient limitation // Morsk. Ekol. Zh. 2003. Т. 2. № 2. С. 40–64.
- Golbeck J.H. Photosystem I in cyanobacteria // The Molecular Biology of Cyanobacteria / Eds. Bryant D.A. Dordrecht: Springer-Verlag. 1994. Ch. 10. P. 319–360.
- Hauschild C.A., McMurter H.J.G., Pick F.R. Effect of spectral quality on growth and pigmentation of picocyanobacteria // J. Phycol. 1991. V. 27. P. 698–702.
- Jiang T., Chai C., Wang J. et al. Temporal and spatial variations of abundance of phycocyanin- and phycoerythrin-rich *Synechococcus* in Pearl River Estuary and adjacent coastal area // J. Ocean Univ. China. 2016. V. 15. P. 897–904.
- Kirk J.T.O. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. 3rd edition. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2011. 649 p.
- Lewis M.R., Warnock R.E., Platt T. Photosynthetic Response of Marine Picoplankton at Low Photon Flux // Photosynthetic Picoplankton / Eds. Platt T., Li W.K.W. Ottawa: Can. Dep. Fish. Oceans. 1986. P. 235–250.
- MacIntyre H.L., Kana T.M., Anning T., Geider R.J. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria // J. Phycol. 2002. V. 38. P. 17–38.

- Menden-Deuer S., Lessard E.J.* Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms and other protist plankton // *Limnol. Oceanogr.* 2000. V. 45. № 3. P. 569–579.
- Millie D.F., Ingram D.A., Dionigi C.P.* Pigment and photosynthetic responses of *Oscillatoria agardhii* (Cyanophyta) to photon flux density and spectral quality // *J. Phycol.* 1990. V. 26. P. 660–666.
- Mitchell B.G., Kiefer D.A.* Chlorophyll *a* specific absorption and fluorescence excitation spectra for light-limited phytoplankton // *Deep-Sea Res.* 1988. V. 35. № 5. P. 639–663.
- Moore L.R., Goericke R., Chisholm S.W.* Comparative physiology of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*: influence of light and temperature on growth, pigments, fluorescence and absorptive properties // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 1995. V. 116. P. 259–275.
- Nielsen M.V.* Photobiological studies of *Skeletonema costatum* adapted to spectrally different light regimes // *Limnol. Oceanogr.* 1993. V. 38. № 7. P. 1576–1581.
- Oguz T.* State of the Environment of the Black Sea (2001–2006/7) / Publications of the Commission on the Protection of the Black Sea against Pollution (BSC). № 2008-3. Istanbul: Referans Çeviri Hizmetleri. 2008. 448 p.
- Ojala A.* The influence of light quality on growth and phycobiliprotein/chlorophyll *a* fluorescence quotients of some species of freshwater algae in culture // *Phycologia.* 1993. V. 32. № 1. P. 22–28.
- Rakhimberdieva M.G., Boichenko V.A., Karapetyan N.V., Stadnichuk I.N.* Interaction of phycobilisomes with photosystem II dimers and photosystem I monomers and trimers in the cyanobacterium *Spirulina platensis* // *Biochemistry.* 2001. V. 40. № 51. P. 15780–15788.
- Six C., Thomas J.-C., Brahmsha B. et al.* Photophysiology of the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. WH8102, a new model organism // *Aquat. Microb. Ecol.* 2004. V. 35. P. 17–29.
- Six C., Thomas J.-C., Garczarek L. et al.* Diversity and evolution of phycobilisomes in marine *Synechococcus* spp.: a comparative genomics study // *Genome Biol.* 2007. V. 8. № 12. Art. ID R259. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-12-r259>
- Stomp M., Huisman J., de Jong F. et al.* Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity // *Nature.* 2004. V. 432. P. 104–107.
- Strickland J.D.H., Parsons T.R.* Pigment analysis: spectrophotometric determination of chlorophylls and total carotenoids // *A Practical Handbook of Seawater Analysis / 2nd edition.* Fisheries Research Board of Canada Bulletin 167. Ottawa: Fish. Res. Board Can. 1972. Part IV. Section 3.1.
- Tassan S., Ferrari G.M.* An alternative approach to absorption measurements of aquatic particles retained on filters // *Limnol. Oceanogr.* 1995. V. 40. № 8. P. 1358–1368.
- Uysal Z.* Pigments, size and distribution of *Synechococcus* spp. in the Black Sea // *J. Mar. Syst.* 2000. V. 24. № 3–4. P. 313–326.
- Waterbury J.B., Watson F.W., Valois F.W., Franks D.G.* Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus* // In T. Platt and W.K.W. Li (ed.) / *Photosynthetic Picoplankton.* Ottawa: Can. Dep. Fish. Oceans. 1986. P. 71–120.
- Xia X., Guo W., Tan S., Liu H.* *Synechococcus* assemblages across the salinity gradient in a salt wedge estuary // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. Art. ID 1254. <https://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.01254>

## Influence of Light of Different Spectral Qualities on the Photosynthetic Characteristics of C-Phycocyanine-Containing Cyanobacteria *Synechococcus* sp. WH5701

T. V. Efimova<sup>a</sup>, T. Ya. Churilova<sup>a</sup>, and V. S. Mukhanov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Kovalevsky Institute of Marine Biological Research, Russian Academy of Sciences, Sevastopol 299011, Russia*

Cell volumes of the strain of cyanobacteria *Synechococcus* sp. WH5701, as well as the intracellular content of chlorophyll *a* and C-phycocyanin, did not depend of the spectral quality of light. Chlorophyll *a* specific light absorption coefficients by pigments at wavelengths of 438 and 678 nm in cells adapted to blue light were higher than in cells adapted to white light by 20 and 50%, respectively. It was found that the quantum yield and the cell growth rate of *Synechococcus* sp. WH5701 depended on the spectral composition of light. The value of maximum quantum yield was minimal at blue light adaptation and maximal – under the red light adaptation. An inverse relationship was revealed between the chlorophyll *a* specific light absorption coefficients and the quantum yield of growth, because in cyanobacteria, unlike eukaryotic microalgae, photosynthesis and growth depend on quanta absorbed only by phycobilin pigments, but not by all pigments. This peculiarity depends on the specific structure and function of the photosynthetic apparatus of cyanobacteria.

**Keywords:** *Synechococcus* sp. WH5701, cyanobacteria, light absorption, growth rate, quantum yield of growth, pigments

УДК 57.014+574.24+574.632+579.68+581.1

## ПОГЛОЩЕНИЕ И ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА ВОДОРОСЛЮ *PALMARIA PALMATA* (LINNAEUS) F. WEBER ET D. MOHR, 1805 (RHODORHYZA) И ЕЕ ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В БИОРЕМЕДИАЦИИ МОРСКОЙ ВОДЫ

© 2020 г. Г. М. Воскобойников<sup>1</sup>\*, И. В. Рыжик<sup>1</sup>, Д. О. Салахов<sup>1</sup>, Л. О. Метелькова<sup>2</sup>,  
З. А. Жаковская<sup>2</sup>, Е. М. Лопушанская<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН,  
Мурманск 183010, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН,  
Санкт-Петербург 197110, Россия

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева,  
Санкт-Петербург 190005, Россия

\*e-mail: grvosk@mail.ru

Поступила в редакцию 12.08.2019 г.

После доработки 21.10.2019 г.

Принята к публикации 28.11.2019 г.

Впервые показано, что красная водоросль *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber et D. Mohr, 1805 в условиях умеренного загрязнения дизельным топливом (ДТ) морской воды не только сохраняла физиологическую активность, но и проявляла выраженную способность к сорбции и деструкции нефтепродуктов (НП). Установлено, что содержание компонентов ДТ в воде снижалось одновременно с их накоплением в водоросли. По-видимому, весь таллом пальмарии способствовал деструкции ДТ, которая начиналась на поверхности водоросли в результате деятельности эпифитных углеводородокисляющих бактерий, обеспечивающих перевод НП в доступную для макрофитов форму. В дальнейшем НП нейтрализовались клетками водоросли. Сохранение жизнеспособности водоросли *P. palmata* под влиянием ДТ на протяжении всего эксперимента (21 сут) подтверждено стабильно высокой метаболической активностью клеток. Участие макроводоросли в биоремедиации, очевидно, обусловлено возможностью образовывать симбиотические ассоциации с углеводородокисляющими микроорганизмами.

**Ключевые слова:** водоросли-макрофиты, биоремедиация морской воды, дизельное топливо, симбиотическая ассоциация

**DOI:** 10.31857/S0134347520020102

В арктической зоне существует проблема хронического загрязнения прибрежных акваторий нефтепродуктами (НП). Это связано с увеличением объема транспортировки углеводородов от мест добычи на шельфе, со строительством на побережье предприятий по их перегрузке и переработке, а также с замедленными процессами деградации нефти и НП в условиях низких температур.

В литературе рассмотрены варианты решения проблемы ремедиации морской среды от НП с помощью диспергентов, сорбентов или путем размещения в зонах постоянного загрязнения искусственных рифов. К сожалению, диспергенты токсичны и наносят биоте больший вред, чем НП. Сорбенты в арктических морях сложны в использовании из-за частых штормов, а постоян-

ные искусственные рифы осложняют мореплавание в прибрежной зоне. В последние годы высказывалось предположение о возможности применения для очистки моря от НП морских водорослей-макрофитов (Семенов и др., 2014; Пуговкин и др., 2016; Воскобойников и др., 2017; Wrabel, Pechkol, 2000). Наиболее часто на морском транспорте используется дизельное топливо (ДТ). У макроводорослей *Fucus vesiculosus* (Phaeophyta) и *Ulvaria obscura* (Chlorophyta) выявлена сорбционная способность в отношении данного НП (Pilatti et al., 2016; Воскобойников и др., 2017, 2018). Экспериментально было показано, что уменьшение содержания ДТ в морской воде происходило одновременно с его накоплением в растениях. При этом в деструкции НП у ульварии и фукуса был задействован весь

таллом; она начиналась на поверхности водоросли с помощью эпифитных углеводородокисляющих бактерий (УОБ), что обеспечивало поглощение и нейтрализацию НП клетками макрофитов (Воскобойников и др., 2017, 2018). Известно, что УОБ, образующие с водорослями-макрофитами взаимовыгодную симбиотическую ассоциацию, способны окислять почти все нефтепродукты (Atlas et al., 1978; Семенова и др., 2009). Эти сведения подтвердили высказанные ранее предположения о том, что водоросли не только служат субстратом для УОБ, но с их помощью могут осуществлять деструкцию НП, поглощать и включать в метаболизм компоненты НП (Семенов и др., 2014; Воскобойников и др., 2017, 2018).

Цель данного исследования – определить, обладают ли такой способностью водоросли, отличающиеся от изученных ранее систематической принадлежностью и морфологией. В настоящей работе проанализированы морфофункциональные изменения под влиянием НП у широко распространенной на литорали арктических морей красной водоросли *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber et D. Mohr, 1805 (Rhodophyta), а также определена ее роль в очистке морской среды от НП.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Вегетативные талломы *Palmaria palmata*, приблизительно равные по размеру и массе, отбирали на побережье губы Зеленецкая Баренцева моря (69°07'09" с.ш., 36°05'35" в.д.), очищали от обрастателей и помещали в стеклянные емкости с морской водой объемом 1.3 л.

Морскую воду соленостью 33‰ предварительно фильтровали через ватно-марлевый фильтр и добавляли в нее летнее ДТ в количестве 1 мг/л, что составляет 20 ПДК для воды по валовому содержанию НП. Морскую воду и ДТ не стерилизовали.

Опыт проводили в термостатируемом боксе при температуре 7–8°C, освещении 16–18 Вт/м<sup>2</sup> и постоянной аэрации воды. Общая продолжительность эксперимента составила 21 сут. Каждые 7 сут образцы воды и водоросли отбирали и анализировали. У водоросли исследовали изменение морфологии и фотосинтеза; в воде и в талломах определяли содержание 17 индивидуальных алканов ДТ (включая изопреноиды пристан и фитан) и валовое содержание НП. В течение опыта изменение состояния и морфологии таллома пальмарии контролировали визуально и с помощью светооптических методов с использованием микроскопа МИКМЕД-6.

Интенсивность видимого фотосинтеза (ИФ) пальмарии определяли по изменению содержа-

ния кислорода в воде до и после инкубации талломов с помощью оксиметра HANNA HI 9141 (Германия) и йодометрическим методом Винклера. Интенсивность фотосинтеза рассчитывали в микрограммах O<sub>2</sub> на 1 г сырой массы таллома в час (Вознесенский и др., 1965). Активность фермента каталазы (АК) анализировали с помощью спектрофотометрического метода (Королюк, 1988). Измерения проводили на спектрофотометре JENWAY 6305 UV/VIS.

Фотосинтетические пигменты экстрагировали по общепринятым методикам (Ли, 1978). Спектры поглощения экстрактов регистрировали спектрофотометрически; концентрации пигментов рассчитывали по формулам (Seely et al., 1972; Rosenberg, 1981).

Валовое содержание НП и концентрации алканов в воде и в талломах определяли методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии (ГХ/МС).

Пробоподготовку и инструментальный анализ выполняли на основе методики EPA 8270 (Semi-volatile Organic Compounds by GC/MS). Для подготовки проб воды применяли жидкостно-жидкостную экстракцию при нейтральном значении показателя кислотности среды. Образцы водоросли экстрагировали в ультразвуковой установке. Раствор внутреннего стандарта (2-фторнафталин) вводили в пробы воды и водоросли непосредственно перед экстракцией. Экстракты анализировали с использованием хроматомасс-спектрометра единичного разрешения DSQII фирмы "Thermo Finnigan" (Германия). Массовую долю содержания компонентов ДТ рассчитывали с помощью метода внутреннего стандарта. Результаты представлены в микрограммах на литр (мкг/л) для воды и в микрограммах на грамм (мкг/г) сухой массы для водорослей. При расчете концентрации учитывали коэффициент чувствительности масс-спектрометрического детектора в парах 2-фторнафталин/дейтерированный пентадекан (D<sub>32</sub>) и 2-фторнафталин/дейтерированный эйкозан (D<sub>42</sub>).

Для оценки фонового уровня НП анализировали пробы воды и *P. palmata* из губы Зеленецкая.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В течение эксперимента морфологических различий у контрольных и опытных растений не наблюдали. Интенсивность фотосинтеза (ИФ) у контрольных растений в течение всего эксперимента сохранялась приблизительно на одном уровне и составляла 0.09–0.13 мкг O<sub>2</sub>/г сыр. массы/ч. У опытных растений после 7 сут воздействия ДТ зарегистрировано значительное повышение ИФ,

которая снижалась к 21 сут эксперимента (рис. 1). За время исследования концентрация хлорофилла *a* и каротиноидов у *Palmaria palmata* снизилась с 0.15 до 0.04 и с 0.05 до 0.01 мкг/г сыр. массы соответственно.

Активность каталазы у контрольных образцов пальмариин в течение опыта изменялась незначительно: отмечено ее постепенное повышение до 14 сут эксперимента, но на 21-е сут она снизилась до начального уровня. У опытных образцов активность каталазы не изменялась и была выше начального уровня (рис. 2).

Валовое содержание НП в природной воде губы Зеленецкая составляло 192 мкг/л (около 4 ПДК), т.е. анализируемые нами водоросли обитали в слабо загрязненной НП среде. Качественный состав НП был представлен в основном *n*-алканами C<sub>11</sub>–C<sub>25</sub>, концентрация которых составляла 0.1–5.3 мкг/л. Углевodородная “гребенка” на хроматограммах при этом характеризовалась монотонным распределением гомологов. Дополнительно для выявления их генезиса использовали следующие соотношения: C<sub>17</sub>/C<sub>18</sub>, пристан/фитан (Pr/Ph), CPI (отношение нечетных к четным гомологам) в области C<sub>13</sub>–C<sub>22</sub>, а также показатель биогенности (C<sub>15</sub> + C<sub>17</sub>)/2C<sub>16</sub> (Немировская, 2013). Расчетные данные показали низкие значения (<1) соотношений C<sub>17</sub>/C<sub>18</sub>, Pr/Ph и CPI (C<sub>13</sub>–C<sub>22</sub>). После внесения в морскую воду 1 мг/л ДТ (0 сут, начало эксперимента) валовое содержание НП составило 1049 мкг/л, а сумма 17 алканов достигла 386 мкг/л. В присутствии пальмариин валовое содержание НП и сумма алканов в воде на 21-е сут эксперимента снизились в несколько раз по сравнению с таковыми в начале опыта и составили соответственно 226 и 35 мкг/л, что практически соответствует показателям контрольного образца до внесения ДТ (рис. 3).

Результаты исследования индивидуальных соединений в образцах воды демонстрировали активный процесс трансформации алканов при увеличении времени. На хроматограммах наблюдалось постепенное смещение максимума углеводородного “горба” в сторону более “легких” соединений, а также увеличение относительного содержания разветвленных алканов (рис. 4). Результаты анализа также показали отсутствие в воде и в талломах окисленных структур (альдегидов, кетонов); это позволяет предположить, что деструкция внесенных НП происходила преимущественно за счет уменьшения длины алкильной цепочки.

В контрольном образце водоросли (без внесения ДТ) валовое содержание НП составляло 124 мкг/г, а сумма 17 алканов не превышала 30 мкг/г. В экспе-

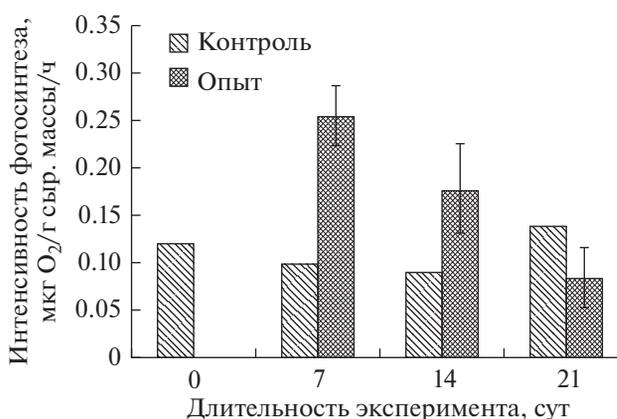


Рис. 1. Изменение интенсивности фотосинтеза у *Palmaria palmata* в течение эксперимента. Вертикальные линии – границы стандартного отклонения.

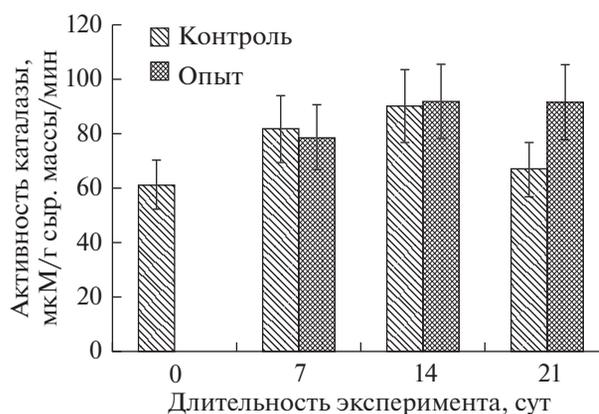


Рис. 2. Изменение активности каталазы в клетках *Palmaria palmata* в течение эксперимента.

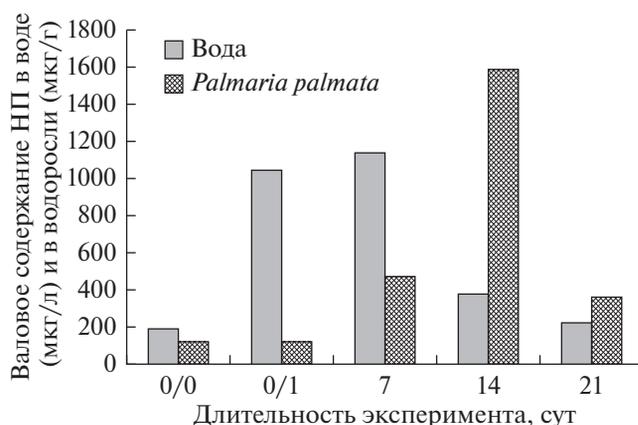


Рис. 3. Изменение валового содержания нефтепродуктов (НП) в воде и в *Palmaria palmata* в течение эксперимента. Длительность эксперимента, сут: 0/0 – образцы до внесения дизельного топлива (ДТ); 0/1 – начало эксперимента, внесение ДТ в воду; 7, 14 и 21 сут – время от начала эксперимента.

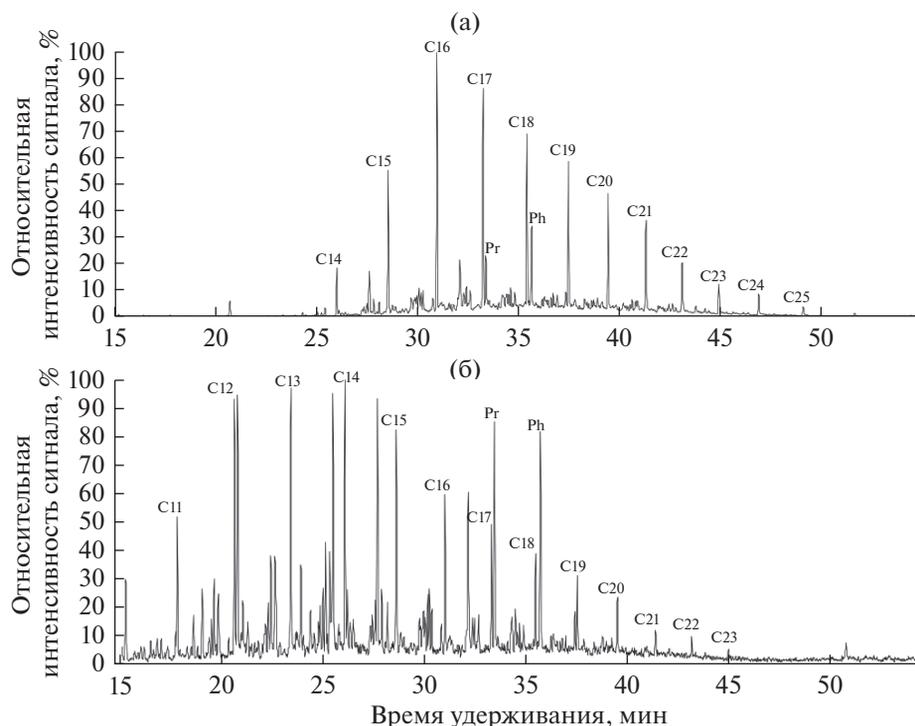


Рис. 4. Масс-хроматограммы проб воды на начальной 0 сут (а) и конечной 21 сут (б) стадиях эксперимента в режиме регистрации характеристичного для алканов иона.

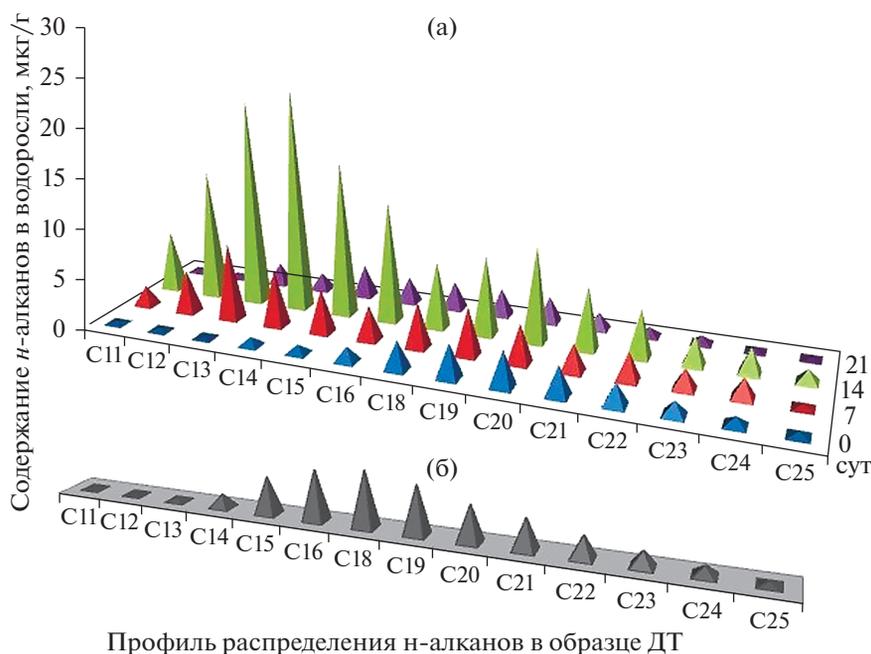
рименте максимальные значения валового содержания НП и суммы алканов в водоросли отмечены на 14-е сут – 1586 и 249 мкг/г соответственно. На 21-е сут концентрации анализируемых показателей в *P. palmata* значительно снизились (рис. 3–5). Исключение составлял н-гептадекан, который, будучи эндогенным соединением, накапливался в тканях водоросли. В ходе эксперимента наряду с изменением концентрации н-алканов изменялся профиль их распределения (рис. 5; для сравнения отдельно приведен характерный профиль распределения алканов ДТ). Это может свидетельствовать не только о накоплении НП таллом водоросли, но и об их деструкции.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Обитание *Palmaria palmata* в природной среде (губа Зеленецкая) с незначительным загрязнением (4 ПДК), по-видимому, способствовало выработке у водоросли определенного диапазона толерантности к НП. Именно этим можно объяснить сохранение функциональной активности у пальмариид в течение всего эксперимента при концентрации НП 20 ПДК. При длительном пребывании (21 сут) водоросли под влиянием НП отмечено незначительное снижение фотосинтеза. У “контрольных” растений, которые

росли в воде без добавления НП, интенсивность фотосинтеза к концу опыта повысилась, что свидетельствует о влиянии на их функциональное состояние именно НП. Аналогичный эффект наблюдался в опытах на ульвари (Воскобойников и др., 2018). Полученные результаты согласуются с опубликованными данными (Степаньян, 2008) о возможном стимулирующем действии низких концентраций ДТ на фотосинтез морских макрофитов. Повышение содержания кислорода в воде, отмеченное на 7-е сут опыта (рис. 1), по-видимому, обеспечивали и цианобактерии. Увеличение выделяемого ими кислорода в ответ на повышение в воде содержания НП наблюдали и ранее (Гусев и др., 1981).

В исследованиях, посвященных определению активности каталазы у водорослей-макрофитов, отмечено, что этот фермент реагирует на комплексное загрязнение, в том числе органикой (Мильчакова, Шахматова, 2007). Его активность выше в условиях загрязнения. В экспериментах на микроводорослях было показано, что каталаза реагирует на более высокие концентрации дизельного топлива в среде по сравнению с другими ферментами антиоксидантной системы, например, с супероксиддисмутазой (Ramadass et al., 2017).



**Рис. 5.** (а) — содержание индивидуальных алканов в *Palmaria palmata* на разных стадиях эксперимента: 0, 7, 14, 21 сут (исключены изопреноиды пристан и фитан), а также н-гептадекан С<sub>17</sub> как эндогенный компонент. (б) — профиль распределения н-алканов в образце дизельного топлива (ДТ).

Можно предположить, что используемая в эксперименте добавка ДТ вызывала окислительный стресс в клетках водорослей, что подтверждено повышением активности каталазы. Однако значительного усиления/подавления активности фермента не происходило, что также свидетельствует о толерантности пальмарии к содержанию НП в воде на уровне 20 ПДК. Синтез антиоксидантных ферментов находится в обратной зависимости от концентрации хлорофиллов. Такие данные получены для микроводорослей (Ramadass et al., 2017). В нашей работе под действием ДТ концентрации хлорофилла *a* и каротиноидов снизились в 3–4 раза по сравнению с контролем. Это может свидетельствовать о более активной выработке антиоксидантных ферментов, в частности супероксиддисмутазы, у растений в опыте.

Установлено, что у пальмарии, так же как у фукуса и ульварии (Воскобойников и др., 2017, 2018), накопление НП происходило одновременно с уменьшением их содержания в воде (рис. 3). Проведенный качественный анализ выявленных НП в морской воде показал преимущественно нефтяной источник поступления алканов. Можно предположить, что превышение ПДК по содержанию НП в воде в губе Зеленецкая связано с работой в июле–августе маломерного флота, используемого дайвинг-клубом, расположенным на побережье губы. Однако было показано, что часть

алканов имеет биогенную природу. Анализ углеводородов, содержащихся в пальмарии, указал на нефтяное происхождение алканов, сорбированных водорослью из водной среды. Выявленный н-гептадекан (С<sub>17</sub>), по-видимому, продуцируется самой водорослью (Миронов, 1985; Немировская, 2013). Повышенное содержание н-С<sub>17</sub> типично для природных сред с автохтонным (морским) биогенным составом углеводородов (Немировская, 2013).

Таким образом, в эксперименте *P. palmata* продемонстрировала выраженную способность к постепенной очистке воды от внесенных НП. В условиях умеренного загрязнения нефтепродуктами пальмария сохраняла физиологическую активность, проявляла выраженную способность к сорбции и деструкции НП. При этом уменьшение содержания компонентов ДТ в воде происходило одновременно с их накоплением в талломах водоросли. В деструкции ДТ у пальмарии, как и у исследованных ранее водорослей (ульварии и фукуса), по-видимому, задействован весь таллом. Она начинается на поверхности водоросли с помощью эпифитных УОБ, что обеспечивает поглощение и нейтрализацию НП клетками растения. Об этом свидетельствовала стабильная метаболическая активность клеток *P. palmata* под влиянием ДТ в течение всего эксперимента (21 сут). Данное предположение подтверждено увеличением

численности эпифитных УОБ на поверхности нескольких видов водорослей в условиях загрязнения НП среды обитания (Пуговкин и др., 2016; Воскобойников и др., 2017). Результаты проведенного исследования и полученные ранее данные позволяют говорить о способности большой группы макроводорослей к очистке морской среды от НП независимо от строения и систематической принадлежности водорослей. Предполагается, что основным фактором участия макроводорослей в биоремедиации является возможность образовывать симбиотические ассоциации с углекислородокисляющими микроорганизмами.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 18-05-80058, программа “Опасные явления”.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вознесенский В.Л., Заленский О.В., Семихатова О.А.* Методы исследования фотосинтеза и дыхания растений. Л.: Наука. 1965. 305 с.
- Воскобойников Г.М., Ильинский В.В., Лопушанская Е.М. и др.* Санитарная водорослевая плантация для очистки прибрежных акваторий от нефтепродуктов: от теории к практике // *Вопр. соврем. альгологии*. 2017. № 3 (15). <http://algology.ru/1184>
- Воскобойников Г.М., Матишов Г.Г., Метелькова Л.О. и др.* Об участии зеленой водоросли *Ulvaria obscura* в биоремедиации морской среды от нефтепродуктов // *Докл. РАН*. 2018. Т. 481. № 1. С. 139–141.
- Гусев М.В., Коронелли Т.В., Линькова М.А., Ильинский В.В.* Изучение ассоциации цианобактерий и нефтеокисляющих бактерий в условиях нефтяного загрязнения // *Микробиология*. 1981. Т. 50. № 6. С. 1092–1097.
- Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
- Ли Б.Д.* Разделение, идентификация и количественное определение фотосинтетических пигментов макробентосных водорослей // *Экологические аспекты фотосинтеза морских макроводорослей*. Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР. 1978. С. 38–54.
- Мильчакова Н.А., Шахматова О.А.* Каталазная активность наиболее массовых видов черноморских водорослей-макрофитов в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения // *Мор. экол. журн.* 2007. Т. 6. № 2. С. 44–57.
- Миронов О.Г.* Взаимодействие организмов с нефтяными углеводородами. Л.: Гидрометеиздат. 1985. 127 с.
- Немировская И.А.* Нефть в океане (загрязнение и природные потоки). М.: Научный мир. 2013. 432 с.
- Пуговкин Д.В., Ляймер А.В., Йенсен Дж.Б.* Эпифитные бактериальные сообщества водорослей *Fucus vesiculosus* в разных по степени загрязнения нефтепродуктами акваториях Баренцева моря // *Докл. РАН*. 2016. Т. 471. № 3. С. 371–373.
- Семенов А.М., Федоренко В.Н., Семенова Е.В.* Микроорганизмы на поверхности морских макрофитов в северных морях России и их возможное практическое использование // *Биосфера*. 2014. Т. 6. № 1. С. 60–76.
- Семенова Е.В., Семенов А.М., Иванов М.Н. и др.* Роль микроорганизмов – эпифитов фукусовых водорослей в деградации углеводородных загрязнений акваторий северных морей // *Экология и пром-ть*. 2009. № 3. С. 16–18.
- Степаньян О.В.* Влияние сырой нефти на основные функциональные параметры макроводорослей Баренцева моря // *Биол. моря*. 2008. Т. 34. № 2. С. 144–147.
- Atlas R.M., Horowitz A., Busdosh M.* Prudhoe crude oil in Arctic marine ice, water and sediment ecosystems: Degradation and interaction with microbial and benthic communities // *J. Fish. Res. Board Can.* 1978. V. 35. № 5. P. 585–590.
- Pilatti F.K., Ramlo F., Schmidt E.C. et al.* In vitro exposure of *Ulva lactuca* Linnaeus (Chlorophyta) to gasoline – Biochemical and morphological alterations // *Chemosphere*. 2016. № 156. P. 428–437.
- Ramadass K., Megharaj M., Venkateswarlu K., Naidu R.* Toxicity of diesel water accommodated fraction toward microalgae, *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorella* sp. MM3 // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2017. V. 142. P. 538–543.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.052>
- Rosenberg G.* Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria folifera* (Rhodophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae) // *PhD Thesis*, New Haven, Connecticut: Yale University. 1981. 163 p.
- Seely G.R., Duncan M.J., Vidaver W.E.* Preparation and analytical extraction of pigments from brown algae with dimethyl sulfoxide // *Mar. Biol.* 1972. V. 12. P. 184–188.
- Wrabel M.L., Peckol P.* Effects of bioremediation on toxicity and chemical composition of № 2 fuel oil: growth responses of the brown alga *Fucus vesiculosus* // *Mar. Pollut. Bull.* 2000. V. 40. № 2. P. 135–139.

## **Absorption and Conversion of the Diesel Fuel by the Red Alga *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber et D. Mohr, 1805 (Rhodophyta): the Potential Role of the Alga in Bioremediation of Sea Water**

**G. M. Voskoboinikov<sup>a</sup>, I. V. Ryzhik<sup>a</sup>, D. O. Salakhov<sup>a</sup>, L. O. Metelkova<sup>b</sup>,  
Z. A. Zhakovskaya<sup>b</sup>, and E. M. Lopushanskaya<sup>c</sup>**

<sup>a</sup>*Murmansk Marine Biological Institute of Kola Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Murmansk 183010, Russia*

<sup>b</sup>*Saint-Petersburg Scientific-Research Centre for Ecological Safety of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg 197110, Russia*

<sup>c</sup>*Mendeleyev Research Institute for Metrology, Saint-Petersburg 190005, Russia*

For the first time, it was shown that the red alga *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber et D. Mohr, 1805 not only retained its physiological activity under the conditions of moderate pollution of the seawater with diesel fuel (DF), but also exhibited a pronounced ability for sorption and destruction of petroleum products (PPs). The content of DF components in seawater decreased simultaneously with their accumulation in the algae. Apparently, the entire thallus of *P. palmata* participated in destruction of DF: this process began on the algal surface owing to the activity of epiphytic hydrocarbon-oxidizing bacteria (HOB) that ensure the conversion of PPs into a plant-accessible form available for macrophytes. Subsequently, the PPs were neutralized by algal cells. The resilience of *P. palmata* under the DF influence was confirmed by a consistently high metabolic activity of *P. palmata* cells throughout the 21-day experiment. It is assumed that the ability of macroalgae to form symbiotic associations with hydrocarbon-oxidizing microorganisms is the main factor in the bioremediation activity.

*Keywords:* algae-macrophytes, bioremediation of marine water, diesel fuel, symbiotic association

УДК 581.96

## **ASTEROCOLAX DENTICULATUS (TOKIDA) FELDMANN ET G. FELDMANN, 1951 – НОВЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ ДЕЛЕССЕРИЕВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ (CERAMIALES: RHODOPHYTA) У БЕРЕГОВ КАМЧАТКИ**

© 2020 г. О. Н. Селиванова<sup>1</sup>, \*, Г. Г. Жигадлова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Камчатский филиал Тихоокеанского института географии ДВО РАН,  
Петропавловск-Камчатский 683000, Россия

\*e-mail: oselivanova@mail.ru

Поступила в редакцию 12.08.2019 г.

После доработки 21.10.2019 г.

Принята к публикации 28.11.2019 г.

В ходе флористических исследований в прикамчатских водах Тихого океана впервые удалось обнаружить *Asterocolax denticulatus* (Tokida) Feldmann et G. Feldmann, 1951 – делессериевую водоросль из порядка Ceramiales (Rhodophyta), которая является адельфопаразитом, поселяющимся на других водорослях семейства Delesseriaceae. В работе дана краткая характеристика и приведено изображение изученной водоросли. Уточнен ареал вида.

**Ключевые слова:** адельфопаразит, растение-хозяин, ареал, Delesseriaceae, Ceramiales, Rhodophyta, Камчатка

**DOI:** 10.31857/S0134347520020096

Делессериевые водоросли – самые красивые среди морских красных водорослей со сложной морфологией и с богатой цветовой гаммой окраски слоевищ. В изучаемой нами прикамчатской акватории Тихого океана они немногочисленны. К настоящему времени обнаружено 19 видов делессериевых водорослей, относящихся к 12 родам, но этот список продолжает пополняться. Так, относительно недавно были описаны новый род и вид из семейства Delesseriaceae – *Flabellina avachensis* Selivanova et Zhigadlova (см.: Селиванова, Жигадлова, 2016).

В ходе флористических исследований нам впервые удалось обнаружить у побережья Камчатки еще одного представителя семейства Delesseriaceae – *Asterocolax denticulatus* (Tokida) Feldmann et G. Feldmann, 1951 (рис. 1), ранее отмеченного у о-ва Сахалин (Перестенко, 1994). Этот вид был описан Токидой (Tokida, 1934) под названием *Polycoryne denticulata* из акватории острова, ныне известного как о-в Тюлений (восточный Сахалин). В пределах российской акватории до настоящего времени *A. denticulatus* более нигде не указывался. Возможно, данный вид распространен в российских водах Тихого океана более широко, однако этот вопрос недостаточно изучен в связи с мелкими размерами объекта и со сложностью его видовой идентификации.

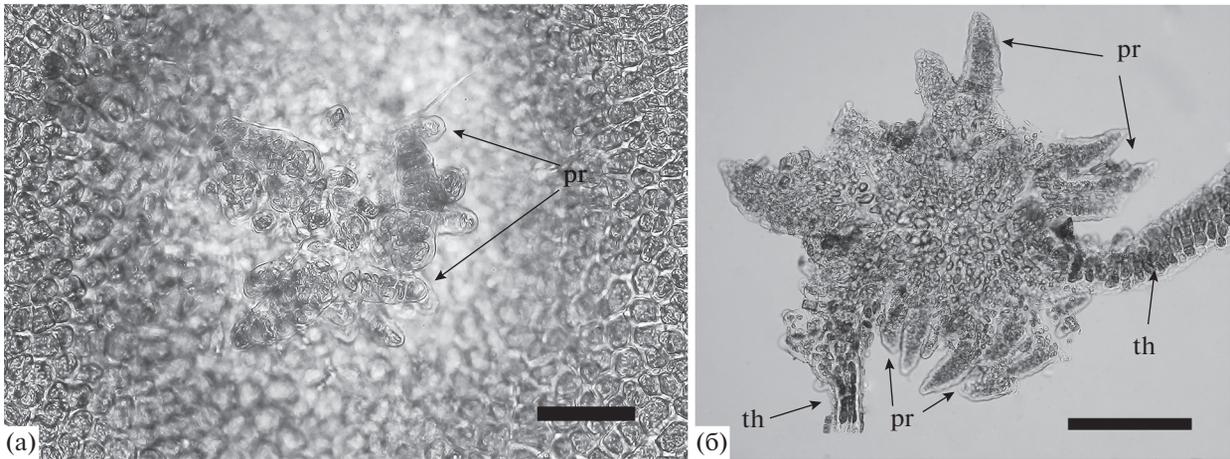
### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Альгологический материал собирали летом 2011 г. в Авачинском заливе с борта маломерного судна с использованием легководолазной техники. Видовую принадлежность водорослей определяли при изучении гистологических срезов в световом биологическом микроскопе Olympus CX-31. Изображения внешнего вида растений получены с помощью цифровой фотокамеры Olympus SZ-20. Образцы изученных водорослей хранятся в гербарии Камчатского филиала Тихоокеанского института географии ДВО РАН (Петропавловск-Камчатский).

Исследованный образец: № 5427 – 27.07.2011; восточная Камчатка, Авачинский залив, б. Гротовая; на слоевище *Phycodrys riggii* N.L. Gardner, 1927 с глубины 5 м; собран А.В. Скрипцовой.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Asterocolax denticulatus* представляет собой паразитическую водоросль, поселяющуюся на других делессериевых водорослях, т.е. является адельфопаразитом. В качестве растения-хозяина данный вид использует виды рода *Phycodrys* Kützting, 1843 (см.: Перестенко, 1994). В нашем случае это был *P. riggii*, в свою очередь оказавшийся эпифитом *Ptilota asplenioides* (Esper) C. Agardh, 1822, произрастающей на глубине 5 м на валунах сублиторали.



**Рис. 1.** *Asterocolax denticulatus* из Авачинского залива (б. Гротовая). а – вид с поверхности пластины *Phycodrys riggii* с паразитирующим *A. denticulatus*; б – срез через *A. denticulatus*. Масштаб: а – 160; б – 200 мкм. Условные обозначения: пр – веточки паразита; th – ткань растения-хозяина.

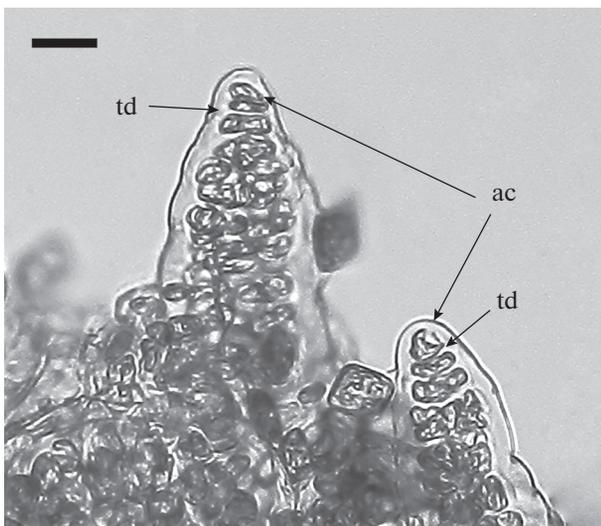
Обнаруженный нами паразит *A. denticulatus* был в вегетативном состоянии, органов размножения не имел.

В настоящее время таксономически признаны четыре рода адельфопаразитических делессериевых водорослей: *Gonimophyllum* Batters, 1892; *Gonimocolax* Kylin, 1924; *Polycoryne* Scottsberg, 1919 и *Asterocolax* Feldmann et G. Feldmann, 1951 (см.: AlgaeBase, 2019). *Gonimophyllum* – единственный из четырех родов с одиночными терминальными карпоспорами; у остальных родов они собраны в цепочки. У вегетативных слоевищ *Gonimophyllum* и *Gonimocolax* апикальный рост пленчатых пластинок отсутствует, за исключением молодых

стадий; у *Polycoryne* и *Asterocolax* он происходит постоянно путем деления апикальной клетки у *Polycoryne* косою перегородкой, а у *Asterocolax* – поперечной (рис. 2).

В состав рода *Asterocolax* входят четыре вида. Кроме упомянутого *A. denticulatus*, это *A. erythroglossii* Feldmann et G. Feldmann, 1951; *A. gardneri* (Setchell) Feldmann et G. Feldmann, 1958 и *A. hypophyllophilus* M.J. Wynne, 1970. Главные отличия *A. denticulatus* от остальных видов – развитие и прорастание слоевища на обе стороны пластины растения-хозяина, мелкие размеры (1.5–3.0 мм) и слоевище в виде пучков цилиндрических веточек с зубчатыми краями. *A. gardneri* характеризуется разрастанием слоевища на одной стороне пластины растения-хозяина, несколько более крупными размерами (2–3 мм), а также слоевищем в виде скопления булавовидных и заостренных пластин с гладкими краями. *A. hypophyllophilus*, как и *A. gardneri*, отличается разрастанием слоевища на одной стороне пластины растения-хозяина, но имеет значительно более крупные размеры (2–6 мм) и многочисленные сильно зазубренные ветви. Для *A. erythroglossii* характерна гладкая поверхность ветвей, которые собраны в кластеры в небольшом количестве.

Эти виды различаются не только морфологическими признаками, но и географическим распространением. В частности, *A. erythroglossii* отмечен у Атлантического побережья Франции (Burel et al., 2019), Великобритании (Brodie et al., 2016) и Ирландии (Guiry, 2012); *A. gardneri* – у тихоокеанского побережья США и Канады от Британской Колумбии до Калифорнии (Abbott, Hollenberg, 1976; Scagel et al., 1989; Hansen, 1997; Miller, 2012); *A. hypophyllophilus* – у Аляски и Алеутских островов (Wynne, 1970, 2014); *A. denticulatus* кроме



**Рис. 2.** Апикальная клетка *Asterocolax denticulatus*, отделяющая сегмент поперечной перегородкой. Масштаб: 20 мкм. Условные обозначения: ac – апикальные клетки; td – поперечные деления.

прибрежья о-ва Сахалин найден у Японии (Yoshida et al., 2015).

До настоящего времени *A. denticulatus* считали низкобореальным пацифическим приазиатским видом (Перестенко, 1994). Однако мы обнаружили этот вид в Авачинском заливе у восточного побережья Камчатки (52°49' с.ш.). Данная находка уточняет ареал *A. denticulatus*, поскольку его уже нельзя рассматривать как низкобореальный. Ареал низкобореального приазиатского вида включает Японское море и южную часть Охотского моря, тихоокеанское побережье Японии, а также воды Тихого океана между 40° и 47° с.ш. Нахождение *A. denticulatus* значительно севернее (52° с.ш.) расширяет его ареал. Очевидно, этот вид следует признать широкобореальным пацифическим приазиатским видом.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем глубокую признательность кандидату биологических наук, руководителю лаборатории автотрофных организмов Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН А.В. Скрипцовой за сбор альгологического материала, использованного в данном исследовании.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Перестенко Л.П. Красные водоросли дальневосточных морей России. СПб.: Ольга. 1994. 331 с.

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.

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

AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland. Galway. 2019. <http://www.algae-base.org>; searched on 21 October 2019.

Brodie J., Wilbraham J., Potts J., Guiry M.D. A revised check-list of British seaweeds // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2016. V. 96. № 5. P. 1005–1029.

Burel T., Le Duff M., Ar Gall E. Updated check-list of the seaweeds of the French coasts, Channel and Atlantic Ocean // An aod-Cah. Nat. Obs. Mar. 2019. V. VII. № 1. P. 1–38.

Guiry M.D. A catalogue of Irish seaweeds. Ruggell, Liechtenstein: Gantner Verlag. 2012. 250 p.

Hansen G.I. A revised checklist and preliminary assessment of the macrobenthic marine algae and seagrasses of Oregon // Conservation and management of native flora and fungi. Corvallis: Native Plant Society of Oregon. 1997. P. 175–200.

Miller K.A. Seaweeds of California. Updates of California seaweed species list. Berkeley: University of California Jepson Herbarium. 2012. P. 1–59.

Scagel R.F., Gabrielson P.W., Garbary D.J. et al. A synopsis of the benthic marine algae of British Columbia, southeast Alaska, Washington and Oregon. University of British Columbia. 1989. P. 1–532. (Phycological Contribution; № 3).

Tokida J. Phycological observations. I // Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc. 1934. V. 13. P. 196–202.

Wynne M.J. Marine algae of Amchitka Island (Aleutian Islands). I. Delesseriaceae // Syesis. 1970. V. 3. P. 95–144.

Wynne M.J. The red algal families Delesseriaceae and Sarcoceniaceae. Königstein: Koeltz Scientific Books. 2014. 326 p.

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

## ***Asterocolax denticulatus* (Tokida) Feldmann et G. Feldmann, 1951, a New Representative of Delesseriacean Algae (Ceramiaceae: Rhodophyta) in Coastal Waters of Kamchatka**

**O. N. Selivanova<sup>a</sup> and G. G. Zhigadlova<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Kamchatka Branch of the Pacific Geographical Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Petropavlovsk-Kamchatski 683000, Russia*

In the course of floristic studies, we succeeded, for the first time, in finding *Asterocolax denticulatus* (Delesseriaceae: Ceramiaceae: Rhodophyta) in the Pacific waters near the coast of Kamchatka. This alga is an adelphoparasite that colonizes other algae of the family Delesseriaceae. The studied species is briefly characterized and illustrated, its distribution range is ascertained.

**Keywords:** adelphoparasite, plant host, geographical distribution range, Delesseriaceae, Ceramiaceae, Rhodophyta, Kamchatka