

ISSN 0134-3475

Том 49, Номер 2

Март - Апрель 2023



# БИОЛОГИЯ МОРЯ

[www.sciencejournals.ru](http://www.sciencejournals.ru)



# СОДЕРЖАНИЕ

Том 49, номер 2, 2023

## Оригинальные статьи

- Находки погонофор (Annelida: Siboglinidae) в Карском море, приуроченные к районам диссоциации придонных и криогенных газогидратов  
*В. В. Малахов, Н. Н. Римская-Корсакова, А. А. Осадчиев, И. П. Семилетов, Н. П. Карасева, М. М. Ганцевич* 75
- Диатомовые водоросли поверхностных осадков залива Академии Охотского моря  
*И. Б. Цой, И. А. Прушковская* 82
- Сравнительный морфометрический анализ азовского (*Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, 1926) и черноморского (*E. encrasicolus ponticus* Alexandrov, 1927) анчоусов по форме тела  
*М. В. Чесалин, В. Н. Никольский* 94
- Долговременный мониторинг загрязнения прибрежной акватории Уссурийского залива металлами на примере “зеленых” устриц *Magallana gigas* (= *Crassostrea gigas*) (Thunberg, 1793)  
*В. М. Шулькин, В. Я. Кавун* 105
- Возрастная и сезонная динамика клеточной популяции гемоцитов у двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853)  
*А. А. Анисимова, М. Н. Дягилева, А. В. Синенко, И. А. Дмитриева* 114
- Модель стохастического роста минтая *Gadus chalcogrammus* (Pallas, 1814)  
*В. В. Суханов* 127
- Сравнительный филогеографический анализ изменчивости митохондриальной ДНК четырех видов рыб (Salmonidae и Cyprinidae) в Северо-Западной Пацифике  
*Вл. А. Брыков, В. В. Маляр* 135

## Краткие сообщения

- Первое обнаружение кладок икры промежуточного шлемоносца *Gymnocanthus intermedius* (Temminck et Schlegel, 1843) (Cottidae) в заливе Петра Великого (Японское море)  
*В. В. Панченко, А. А. Баланов* 143

# Contents

---

Volume 49, No 2, 2023

---

## Original papers

- Findings of Pogonophores (Annelida: Siboglinidae) in the Kara Sea Associated with the Regions of Dissociation of Seafloor and Cryogenic Gas Hydrates  
*V. V. Malakhov, N. N. Rimskaya-Korsakova, A. A. Osadchiov, I. P. Semiletov, N. P. Karaseva, and M. M. Gantsevich* 75
- Diatoms in Surface Sediments of the Academy Bay of the Sea of Okhotsk  
*I. B. Tsoy and I. A. Prushkovskaya* 82
- Comparative Morphometric Analysis of the Azov Anchovy (*Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, 1926) and the Black Sea Anchovy (*E. encrasicolus ponticus* Alexandrov, 1927) Based on the Body Shape  
*M. V. Chesalin and V. N. Nikolsky* 94
- Long-term Monitoring of Pollution of the Coastal Water Area of Ussuriysk Bay with Metals: Case Study of “Green” Oysters *Magallana gigas* (= *Crassostrea gigas*) (Thunberg, 1793)  
*V. M. Shulkin and V. Ya. Kavun* 105
- Age-Related and Seasonal Dynamics of Hemocyte Population in the Mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853)  
*A. A. Anisimova, M. N. Diagileva, A. V. Sinenko, and I. A. Dmitrieva* 114
- Stochastic Growth Model of Pollack *Gadus chalcogrammus* (Pallas, 1814)  
*V. V. Sukhanov* 127
- Comparative Phylogeographic Analysis of Mitochondrial DNA Variability in Four Fish Species (Salmonidae and Cyprinidae) in the Northwest Pacific  
*Vi. A. Brykov and V. V. Malyar* 135

---

## Brief notes

- First Finding of Egg Masses of the Whip Sculpin *Gymnocanthus intermedius* (Temminck et Schlegel, 1843) (Cottidae) in Peter the Great Bay (Sea of Japan)  
*V. V. Panchenko and A. A. Balanov* 143
-

УДК 591.4.

## НАХОДКИ ПОГОНОФОР (ANNELIDA: SIBOGLINIDAE) В КАРСКОМ МОРЕ, ПРИУРОЧЕННЫЕ К РАЙОНАМ ДИССОЦИАЦИИ ПРИДОННЫХ И КРИОГЕННЫХ ГАЗОГИДРАТОВ

© 2023 г. В. В. Малахов<sup>1</sup>, Н. Н. Римская-Корсакова<sup>1</sup>, А. А. Осадчиев<sup>2</sup>, И. П. Семилетов<sup>3</sup>,  
Н. П. Карасева<sup>1</sup>, М. М. Ганцевич<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (МГУ),  
Москва 119234, Россия

<sup>2</sup>Институт океанологии им. П.П. Шишова РАН,  
Москва 117997, Россия

<sup>3</sup>Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,  
Владивосток 690041, Россия

\*e-mail: mgantsevich@gmail.com

Поступила в редакцию 14.09.2022 г.

После доработки 24.11.2022 г.

Принята к публикации 24.11.2022 г.

Описаны находки погонофор *Siboglinum* sp. и *Nereilinum* sp. на северо-западе Карского моря в желобе Святой Анны. Предыдущие находки погонофор (*Crispabrachia yenisey* и *Galathealinum karaense*) в Карском море были сделаны в его южной части, в эстуарии р. Енисей. Два района находок погонофор в Карском море совпадают с областями распространения двух типов газогидратов — донных океанических и связанных с вечно-мерзлотными толщами. Залежи газогидратов в толще вечной мерзлоты приурочены к прибрежным районам Карского моря. В районах диссоциации газогидратов под влиянием стока рек формируется поток метана, необходимый для обеспечения жизнедеятельности погонофор. Обитание погонофор в желобе Святой Анны свидетельствует о наличии потока метана, который может быть связан с поступлением атлантической воды, вызывающей диссоциацию донных газогидратов. Указано на возможную роль потепления Арктики в обоих процессах.

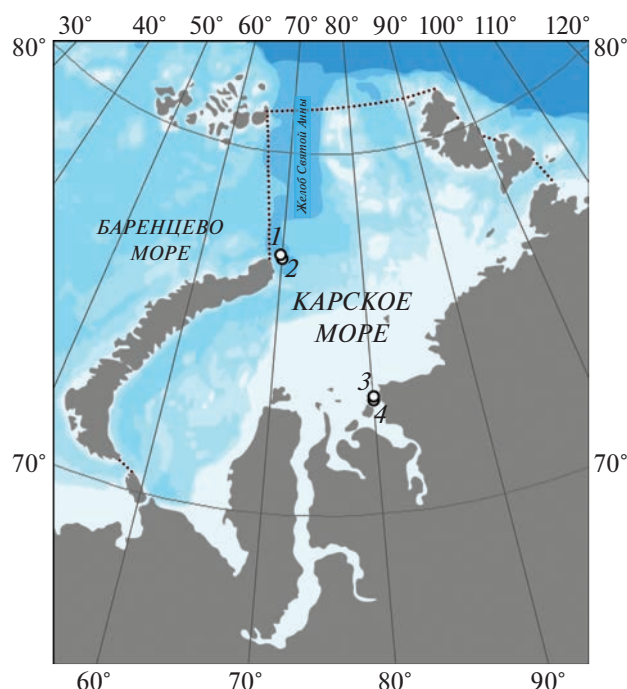
**Ключевые слова:** погонофоры, газогидраты, вечная мерзлота, Карское море, желоб Святой Анны, потепление Арктики, Siboglinidae

**DOI:** 10.31857/S0134347523020055, **EDN:** DVRNNM

Сибоглиниды (Siboglinidae) — семейство седентарных кольчатых червей, все представители которого лишены пищеварительного тракта. Жизнедеятельность сибоглинид обеспечивается симбиотическими бактериями. В пределах Siboglinidae выделяют 4 группы организмов, различающихся по местам обитания и типу симбиотических бактерий (Hilario et al., 2011). Симбионты сибоглинид рода *Osedax* — гетеротрофные бактерии, которые получают энергию за счет расщепления липидов, содержащихся в костях китообразных и крупных рыб (Goffredi et al., 2007). Вестиментиферы (Vestimentifera) имеют сульфидоокисляющих симбионтов (Cavanaugh et al., 1981; Felbeck, 1981). У Monilifera присутствуют метаноокисляющие или сульфидоокисляющие симбионты (Xu et al., 2022). У видов группы Frenulata (Pogonophora sensu stricto) известны как метаноокисляющие, так и сульфидоокисляющие симбионты (Southward et al., 1986; Schmaljohann, Flügel, 1987). Следует отметить, что

свободноживущие прокариоты обеспечивают окисление метана с использованием сульфатов в толще осадка в восстановительных условиях, в результате чего создаются высокие концентрации сероводорода, который служит источником энергии для сульфид-окисляющих симбионтов (Aharon, Fu, 2000, 2003; Voetius et al., 2000; Hu et al., 2015). Вот почему сибоглиниды с хемоавтотрофными симбионтами (кроме вестиментифер гидротермальных очагов), как правило, связаны с районами углеводородных просачиваний в Мировом океане независимо от того, содержат они метаноокисляющие или сульфидоокисляющие бактерии.

Карское море долгое время оставалось водоемом, в котором находки погонофор не были известны. Лишь в 2020 г. в Енисейском заливе Карского моря найдены два вида погонофор, причем оба оказались новыми для науки (Smirnov et al., 2020; Karaseva et al., 2021). Последние находки погонофор в Карском море дают возможность про-



**Рис. 1.** Находки погонофоров в Карском море: 1, 2 — в желобе Святой Анны; 3, 4 — в Енисейском заливе. Пунктиром показаны географические границы Карского моря.

анализировать приуроченность сибоглинид к районам газогидратных залежей различного генезиса.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В ходе гидробиологических работ 86-го рейса научно-исследовательского судна “Академик Мстислав Келдыш” (2021 г.) сибоглиниды обнаружены на двух станциях в северо-западной части Карского моря к северу от мыса Желания в желобе Святой Анны (рис. 1). Координаты станций, глубины и дата сбора приведены в табл. 1. Данные по температуре и солености получены с помощью термосалинографа SBE 21 SEACAT (Sea-Bird Electronics, Inc.). Методика обработки данных по глубине, температуре и солености в ходе 86-го рейса научно-исследовательского судна “Академик Мстислав Келдыш” изложена в специальной работе (Osadchiev et al., 2022). Пробы донных осадков отбирали с помощью дночерпателя

“Океан” с площадью раскрытия 0.25 м<sup>2</sup>. После поднятия дночерпателя на палубу, пробы осадков промывали через сито с размером ячеек 0.15 мм. Разбор проб выполняли с применением биноклярных микроскопов Микмед (Россия), Olympus SZX (Япония). Фотографировали живые организмы с помощью окулярной насадки LabCam (iDuOptics, США) для iPhone6S (Apple, США). Материал фиксировали в 96%-ном этаноле. На станции 7249 на глубине 550.5 м обнаружены 3 трубки сибоглинид, в двух из которых найдены живые черви. На станции 7250 на глубине 437 м обнаружены 2 пустые трубки сибоглинид. В настоящее время не представляется возможным провести надежную видовую идентификацию найденных червей из-за недостаточности материала, поэтому мы ограничиваемся определением родовой принадлежности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Найденные экземпляры принадлежат к двум видам, относящимся к родам *Siboglinum* и *Nereilinum*.

*Siboglinum* sp. Единственный экземпляр найден в пробе, взятой на станции 7249. Трубка длиной 18 см и диаметром около 0.2 мм полупрозрачная, белесо-желтого цвета, лишена кольчатости по всей длине (рис. 2, *tu*). В трубке находится фрагмент червя длиной 6 см. Головная лопасть коническая (рис. 2, *cl*). Имеется единственное щупальце (рис. 2, *te*). Позади уздечки отчетливо виден белый железистый пояс (рис. 2, *gp*). Метамерная часть преаннулярного отдела туловища несет два ряда дорсальных папилл (рис. 2, *pa*). По особенностям морфологии найденный экземпляр отличается от большинства известных видов рода *Siboglinum* строением трубки, полностью лишенной кольчатости.

*Nereilinum* sp. Материал включает две трубки в пробе, взятой на станции 7249, и две трубки в пробе со станции 7250. Трубки длиной до 17 см, диаметром 0.15–0.2 мм. Трубки с явственной кольчатостью (рис. 3, *tu*). В одной из трубок из пробы со станции 7249 обнаружен фрагмент червя длиной 5 см. Головная лопасть короткая, остроконическая (рис. 3, *cl*). Имеются два щупальца (рис. 3, *te*). Перед уздечкой расположена борозда, соприкасающаяся с ней на вентральной стороне. Уздечка явственная; ниже уздечки на дорсальной

**Таблица 1.** Станции, на которых были обнаружены погонофоры в желобе Святой Анны

| № станции | Северная широта | Восточная долгота | Глубина, м | Температура, °C | Соленость, ‰ | Дата сбора |
|-----------|-----------------|-------------------|------------|-----------------|--------------|------------|
| 7249      | 77.0001         | 70.0021           | 535.50     | −0.9402         | 34.8310      | 22.10.2021 |
| 7250      | 77.4999         | 68.9953           | 428.96     | −1.0171         | 34.8299      | 22.10.2021 |

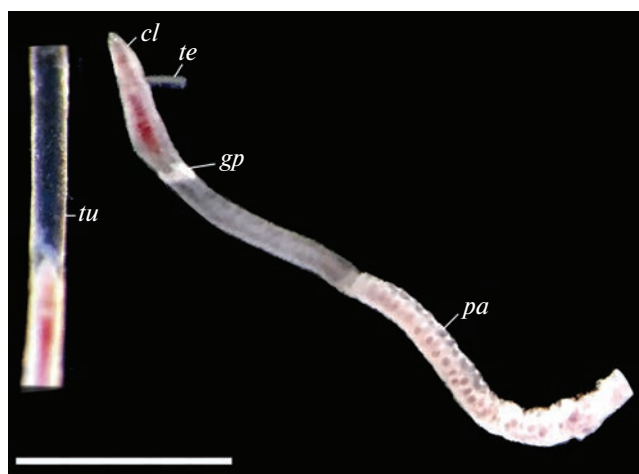


Рис. 2. Погонофора *Siboglinum* sp. из желоба Святой Анны. Обозначения: *cl* — головная лопасть, *gp* — железистые пятна, *pa* — папиллы, *te* — щупальце, *tu* — трубка. Масштаб: 1 мм.

стороне имеется железистый пояс, разделенный с вентральной стороны (рис. 3, *br*, *gp*). На спинной стороне метамерного отдела туловища на слабо обособленных папиллах с каждой стороны дорсального желобка расположены отверстия тубипарных желез (рис. 3, *pa*). В трубке обнаружены две личинки.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Сибоглиниды обнаружены пока только в двух районах Карского моря. Один из них — это район Енисейского залива в южной части моря (Римская-Корсакова и др., 2020; Smirnov et al., 2020; Karaseva et al., 2021). Находка сибоглинид в этом районе — между о-вом Сибирикова и западным берегом п-ва Таймыр — представляет интерес в нескольких аспектах. Подавляющее большинство видов семейства Siboglinidae — глубоководные организмы, но в Енисейском заливе обе находки сделаны на рекордно малых для сибоглинид глубинах. *Crispabrachia yenisey* обнаружена на глубине 28 м (Римская-Корсакова и др., 2020; Karaseva et al., 2021), тогда как *Galathealinum karaense* — на глубине 25 м (Smirnov et al., 2020). Такие небольшие глубины не характерны для сибоглинид. Сибоглиниды — стеногалинные организмы, они не встречаются в эстуариях и опресненных районах Мирового океана (Иванов, 1960). Для Енисейского залива характерна сильная вертикальная стратификация вод по солености (Долгополова, 2015; Harms et al., 2003; Gebhardt et al., 2005). Поверхностная средняя многолетняя соленость между о-вом Сибирикова и западным берегом п-ва Таймыр (как раз в районе находок *C. yenisey* и *G. karaense*) составляет менее 5‰ (Harms et al., 2003). В то же время, несмотря на

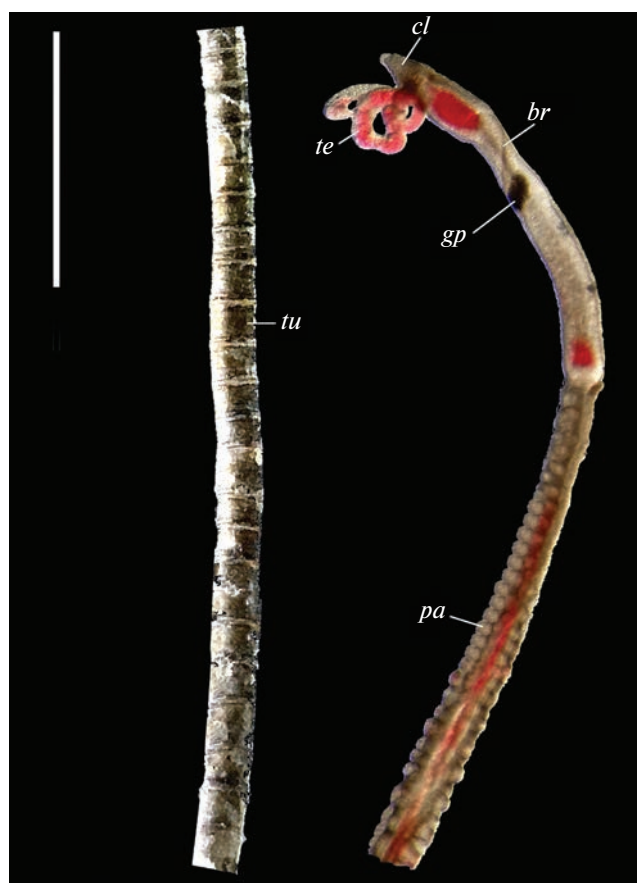


Рис. 3. Погонофора *Nereilinum* sp. из желоба Святой Анны. Обозначения: *br* — уздечка, остальные обозначения как на рис. 2. Масштаб: 1 мм.

сильное распреснение поверхностных вод, уже на глубине 10 м средняя многолетняя соленость приближается к 30‰ (Долгополова, 2015; Gebhardt et al., 2005).. Придонная соленость в этом районе составляет от 30 до 32.5‰ (Harms et al., 2003). Таким образом, хотя чисто географически район находок *C. yenisey* и *G. karaense* относится к зоне эстуария р. Енисей, на самом деле погонофоры здесь обитают при солености, близкой к океанической. Место находки *C. yenisey* и *G. karaense* находится в районе, где концентрация метана в поверхностном слое воды достигает 130 нМ, что является максимальным значением для южной части Карского моря (Шахова и др., 2007). Высокие концентрации метана в данном случае возникают как результат деградации газогидратов вечной мерзлоты под влиянием речного стока (Шахова и др., 2007; Collet, Dallimore, 2003; Guo et al., 2004). Этот процесс интенсивно протекает на фоне общего потепления Арктики в эстуариях Оби, Енисея, Лены и других крупных рек российской Арктики и обеспечивает не только высокие концентрации метана в воде, но и выход этого парникового газа из воды в атмосферу (Сергиенко и др.,

2012; Анисимов и др., 2014; Shakhova et al., 2005, 2010; Ruppel, Kessler, 2017).

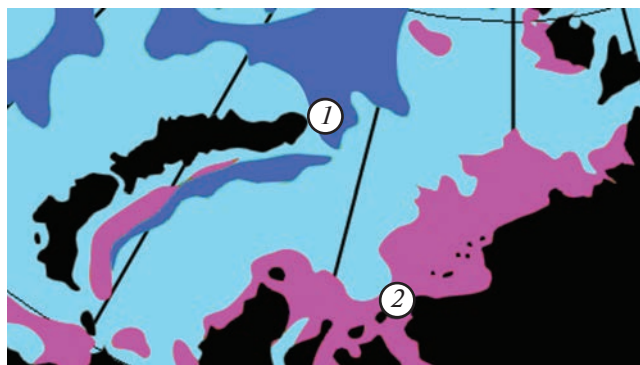
Интересно, что в канадской Арктике сходные условия имеются в дельте реки Маккензи, колоссальный сток которой вызывает сильнейшее опреснение поверхностных слоев воды моря Бофорта (Macdonald, Yu, 2006). Так же, как в Енисейском заливе, в приустьевых районах р. Маккензи отмечена сильная соленостная стратификация: если в поверхностном слое соленость колеблется от 1 до 10‰, то на глубине 20 м соленость во все сезоны года превышает 31‰ (Macdonald, Yu, 2006). Близкий к *G. karaense* вид погонофор *Galathealinum arcticum* Southward, 1962 был найден в приустьевом районе р. Маккензи на глубине 36 м (Southward, 1962). В то же время дельта р. Маккензи и прилегающие районы шельфа моря Бофорта характеризуются крупными залежами газогидратов в толще вечной мерзлоты, диссоциация которых под влиянием речного стока в условиях потепления Арктики порождает мощные потоки метана (Bily, Dick, 1974; Majorowicz, Hannigan, 2000; Osadetz et al., 2005; Bellefleur et al., 2007; Osadetz, Chen, 2010).

Моря российской Арктики рассматриваются как регион с огромными ресурсами углеводородов, которые превосходят потенциальные запасы всех других арктических стран (Gautier et al., 2009; Spencer et al., 2011; Max et al., 2013; Dmitrieva, Romanova, 2020). При этом Карское море превосходит другие моря российской Арктики по ресурсам углеводородов (Bird et al., 2008; Каминский и др., 2020). Известно, что основные запасы углеводородов в Мировом океане сосредоточены в виде газогидратов метана (Трофимук и др., 1981; Черский и др., 1983; Гинзбург и др., 1984; Макагон, 2003; Panayev, 1987; Kvenvolden, 1988; Kvenvolden et al., 1993; Dillon, Max, 2003; Klauda, Sandler,

2005; Max et al., 2013; Gaidukova et al., 2022). Залежи газогидратов в российской Арктике подразделяются на два типа. Один из них — это донные газогидраты, встречающиеся на больших глубинах в разных районах Мирового океана, а другой — залежи газогидратов в толще вечной мерзлоты, которые характерны для окраинных морей российской Арктики. Донные газогидраты занимают глубоководные районы Северного Ледовитого океана, тогда как залежи газогидратов в толще вечной мерзлоты находятся на небольших глубинах в относительной близости к российскому арктическому побережью (Черский и др., 1983; Соловьёв и др., 1987; Соловьёв, Гинзбург, 2003; Хименков и др., 2020; Dillon, Max, 2003; Romanovskii et al., 2005; Shakhova et al., 2005; Max et al., 2013). При этом области залежей донных и вечномерзлотных газогидратов в арктических морях разделены обширными зонами, где газогидраты отсутствуют либо из-за недостатка метана, либо из-за отсутствия термобарических условий, необходимых для формирования клатратов (Соловьёв и др., 1987; Соловьёв, Гинзбург, 2003; Хименков и др., 2020; Romanovskii et al., 2005; Shakhova et al., 2010).

Находка погонофор *Siboglinum* sp. и *Nereilinum* sp. в желобе Святой Анны на глубине более 400 м при солености более 34‰ вполне типична для большинства погонофор. Район находки соответствует самому южному участку распространения газогидратов в желобе Святой Анны (Соловьёв и др., 1987; Соловьёв, Гинзбург, 2003; Хименков и др., 2020). Известно, что потепление климата Арктики приводит к диссоциации газогидратов не только в прибрежной зоне, но и в глубоководных впадинах (Reagan et al., 2011; Max et al., 2013; Giustiniani et al., 2013). Согласно результатам моделирования, почти полная диссоциация газогидратов в районе желоба Святой Анны возможна при повышении температуры воды всего на 2 градуса (Giustiniani et al., 2013, fig.5). Теплая и соленая атлантическая вода поступает через прол. Фрама в центральную впадину Северного Ледовитого океана и далее вдоль желоба Святой Анны проникает в Карское море (Schauer et al., 2002; Lien et al., 2013; Dmitrenko et al., 2015; Osadchiv et al., 2022). Существующие модели (Giustiniani et al., 2013) предсказывают диссоциацию донных газогидратов в этом районе, и образующийся поток метана служит источником, обеспечивающим жизнедеятельность симбионтов, обитающих в желобе Святой Анны.

Те два района, в которых в Карском море найдены погонофоры, — это как раз области распространения двух основных форм газогидратов, известных в Арктике (рис. 4). Фауна симбионтов арктических морей исследована очень слабо, однако можно предположить, что в ней могут существовать две группы видов погонофор, одна из которых обитает на небольших глубинах и связа-



**Рис. 4.** Распространение газогидратов (по: Гинзбург, Соловьёв, 2003) и находки погонофор в Карском море: 1 — место обнаружения погонофор в желобе Святой Анны; 2 — в Енисейском заливе. Розовым цветом показана область залежей газогидратов в толще вечной мерзлоты на шельфе, синим — область донных газогидратов.

на с газогидратами в толще вечной мерзлоты в приустьевых районах крупных рек и прилежащих участках шельфа, а другая — на типичных для погонофор батимальных и абиссальных глубинах и связана с районами диссоциации донных газогидратов. Разумеется, эту гипотезу следует рассматривать как сугубо предварительную, которую необходимо проверить в дальнейших исследованиях.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 18-14-00141П.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анисимов О.А., Забойкина Ю.Г., Кокорев В.А., Юрганов Л.Н. Возможные причины эмиссии метана на шельфе морей Восточной Арктики // Лёд и Снег. 2014. № 2(126). С. 69–81.
- Гинзбург Г.Д., Иванов В.Л., Соловьёв В.А. Гидраты природного газа в недрах Мирового океана. В кн.: Нефтегазоносность Мирового океана. Л. 1984. С. 141–158.
- Долгополова Е.Н. Закономерности движения вод и наносов в устье реки эстуарно-дельтового типа на примере р. Енисей // Водные Ресурсы. 2015. Т. 42. № 2. С. 175–185.
- Иванов А.В. Погонофоры // Фауна СССР. Новая сер. № 75. М., Л.: Изд-во АН СССР. 1960. 271 с.
- Каминский В.Д., Черных А.А., Медведева Т.Ю. и др. Карское море — перспективный полигон для изучения и освоения углеводородных ресурсов // NefteGaz.RU. Offshore. 2020. № 5(101). С. 82–89.
- Макагон Ю.Ф. Природные газовые гидраты: распространение, модели образования, ресурсы // Рос. хим. журн. 2003. Т. 47. № 3. С. 70–79.
- Римская-Корсакова Н.Н., Карасева Н.П., Кокорев В.Н. и др. Первая находка погонофор (Annelida, Siboglinidae) в Карском море совпадает с районом высокой концентрации метана // Докл. Российской академии наук. 2020. Т. 490. С. 101–104.
- Сергиенко В.И., Дударев О.В., Дмитриевский Н.Н. и др. Деградация подводной мерзлоты и разрушение гидратов шельфа морей Восточной Арктики как возможная причина “метановой катастрофы”: некоторые результаты комплексных исследований 2011 года // Докл. Академии наук. 2012. Т. 445. № 3. С. 330–335.
- Соловьёв В.А., Гинзбург Г.Д. Арктические моря России. Условия газогидратоносности и потенциально газогидратоносные акватории // Геология и полезные ископаемые шельфов России. Атлас. М.: Научный мир. 2003. Лист 1–31, 1–32.
- Соловьёв В.А., Гинзбург Г.Д., Теленев Е.В., Михалюк Ю.Н. Криотермия и гидраты природного газа в недрах Северного Ледовитого океана. Л.: ПНО “Севморпуть”. 1987. 150 с.
- Трофимук А.А., Макогон Ю.Ф., Толкачев М.В. Газогидратные залежи — новый резерв энергетических ресурсов // Геология нефти и газа. 1981. № 10. С. 15–22.
- Хименков А.Н., Кошурников А.В., Станиславская Ю.В. Геосистемы газонасыщенных многолетнемерзлых пород // Арктика и Антарктика. 2020. № 2. С. 65–105.
- Черский Н.В., Царев В.П., Никитин С.П. Исследование и прогнозирование условий накопления ресурсов газа в газогидратных залежах. Якутск: Якутский филиал СО АН СССР. 1983. 156 с.
- Шахова Н.Е., Семилетов И.П., Бельчева Н.Н. Великие сибирские реки как источники метана на арктическом шельфе // Докл. Академии наук. 2007. Т. 414. № 5. С. 683–685.
- Aharon P., Fu B. Microbial sulfate reduction rates and sulfur and oxygen isotope fractionations at oil and gas seeps in deepwater Gulf of Mexico // Geochimica et Cosmochimica Acta. 2000. V. 64. № 2. P. 233–246.
- Aharon P., Fu B. Sulfur and oxygen isotopes of coeval sulfate–sulfide in pore fluids of cold seep sediments with sharp redox gradients // Chem. Geol. 2003. V. 195. P. 201–218.
- Bellefleur G., Riedel M., Brent T. et al. Implication of seismic attenuation for gas hydrate resource characterization, Mallik, Mackenzie Delta, Canada // J. Geophys. Res. 2007. V. 112. B10311. <https://doi.org/10.1029/2007JB004976>
- Bily C., Dick J.W.L. Naturally occurring gas hydrates in the Mackenzie delta, N.W.T.1 // Bull. Can. Petrol. Geol. 1974. V. 22. № 3. P. 340–352.
- Bird K.J., Charpentier R.R., Gautier D. et al. Circum-Arctic Resource Appraisal: Estimates of Undiscovered Oil and Gas North of the Arctic Circle // U.S. Geological Survey Fact Sheet. 2008. P. 2008–3049.
- Boetius A., Ravensschlag K., Schubert C. et al. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane // Nature. 2000. V. 407. P. 623–626.
- Cavanaugh C.M., Gardiner S.L., Jones M.L. et al. Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* Jones: Possible Chemoautotrophic symbionts // Science. 1981. V. 213. P. 340–342.
- Collet T.S., Dallimore S.R. Permafrost Associated Gas Hydrate, Natural Gas Hydrate // Oceanic and Permafrost Environments. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher. 2003. P. 43–58.
- Dillon W.P., Max M.D. Oceanic Gas Hydrate, Natural Gas Hydrate // Oceanic and Permafrost Environments. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher. 2003. P. 59–74.

- Dmitrenko I.A., Rudels B., Kirillov S.A. et al.* Atlantic water flow into the Arctic Ocean through the St. Anna Trough in the northern Kara Sea // *J. Geophys. Res. Oceans*. 2015. V. 120. P. 5158–5178.  
<https://doi.org/10.1002/2015JC010804>
- Dmitrieva D., Romasheva N.* Sustainable Development of Oil and Gas Potential of the Arctic and Its Shelf Zone: The Role of Innovations // *J. Mar. Sci. Eng.* 2020. V. 8. 1003.  
<https://doi.org/10.3390/jmse8121003>
- Felbeck H.* Chemoautotrophic potential of the hydrothermal vent tube worm, *Riftia pachyptila* Jones (Vestimentifera) // *Science*. 1981. V. 213. P. 336–338.
- Gaidukova O., Misyura S., Strizhak P.* Key Areas of Gas Hydrates Study: Review // *Energies*. 2022. V. 15. 1799.  
<https://doi.org/10.3390/en15051799>
- Gautier D.L., Bird K.J., Charpentier R.R. et al.* Assessment of Undiscovered Oil and Gas in the Arctic // *Science*. 2009. V. 324. P. 1175–1179.
- Gebhardt A.C., Schoster F., Gaye-Haake B. et al.* The turbidity maximum zone of the Yenisei River (Siberia) and its impact on organic and inorganic proxies // *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.* 2005. V. 65. P. 61–73.
- Giustiniani M., Tinivella U., Jakobsson M., Rebesco M.* Arctic Ocean Gas Hydrate Stability in a Changing Climate // *J. Geol. Res.* 2013.  
<https://doi.org/10.1155/2013/783969>
- Goffredi S.K., Johnson S.B., Vrijenhoek R.C.* Genetic diversity and potential function of microbial symbionts associated with newly discovered species of *Osedax polychaete* Worms // *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. V. 73. P. 2314–2323.
- Guo L., Semiletov I., Gustafsson Ö. et al.* Characterization of Siberian Arctic coastal sediments: Implications for terrestrial organic carbon export // *Global Biogeochem. Cycl.* 2004. V. 18. GB1036.  
<https://doi.org/10.1029/2003GB002087>
- Harms I.H., Hübner U., Backhaus J.O. et al.* Salt intrusions in Siberian river estuaries: observations and model experiments in Ob and Yenisei // *Proc. Mar. Sci.* 2003. V. 6. P. 27–46.
- Hilario A., Capa M., Dahlgren T.G. et al.* New perspectives on the ecology and evolution of siboglinid tubeworms // *PLoS One*. 2011. V. 6. P. 1–14.
- Hu Y., Feng D., Liang Q. et al.* Impact of anaerobic oxidation of methane on the geochemical cycle of redox-sensitive elements at cold-seep sites of the northern South China Sea // *Deep-Sea Res. Part II. Top. Stud. Oceanogr.* 2015. V. 122. P. 84–94.
- Karaseva N.P., Rimskaya-Korsakova N.N., Ekimova I.A. et al.* A new genus of frenulates (Annelida: Siboglinidae) from shallow waters of the Yenisey River estuary, Kara Sea // *Invert. Syst.* 2021. V. 35. № 8. P. 857–875.  
<https://doi.org/10.1071/IS20075>
- Klauda J.B., Sandler S.I.* Global Distribution of Methane Hydrate in Ocean Sediment // *Energy & Fuels*. 2005. V. 19. P. 459–470.
- Kvenvolden K.A.* Methane hydrate – a major reservoir of carbon in the shallow geosphere? // *Chem. Geol.* 1988. V. 71. P. 41–51.
- Kvenvolden K.A., Ginsburg G.D., Soloviev V.A.* Worldwide distribution of subaquatic gas hydrates // *Geo-Marine Letters*. 1993. V. 13. P. 32–40.
- Lien V.S., Trofimov A.G.* Formation of Barents Sea Branch Water in the north-eastern Barents Sea // *Polar Res.* 2013. V. 32. 18905.  
<https://doi.org/10.3402/polar.v32i0.18905>
- Macdonald R.W., Yu Y.* The Mackenzie Estuary of the Arctic Ocean // *The Handbook of Environmental Chemistry*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. 2006. V. 5. P. 91–120.
- Majorowicz J.A., Hannigan P.K.* Natural Gas Hydrates in the Offshore Beaufort–Mackenzie Basin—Study of a Feasible Energy Source II // *Natl. Resources Res.* 2000. V. 9. № 3. P. 201–214.
- Max M.D., Johnson A.H., Dillon W.P.* Natural Gas Hydrate – Arctic Ocean Deepwater Resource Potential // *SpringerBriefs in Energy*. 2013. P. 1–113.
- Osadchiv A., Viting K., Frey D. et al.* Structure and Circulation of Atlantic Water Masses in the St. Anna Trough in the Kara Sea // *Frontiers in Marine Sci.* 2022. V. 9.  
<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.915674>
- Osadetz K.G., Morrell G.R., Dixon J. et al.* Beaufort Sea–Mackenzie Delta basin: a review of conventional and nonconventional (gas hydrate) petroleum reserves and undiscovered resources // *Geol. Survey of Canada*. 2005. bull. 585. P. 1–19.
- Osadetz K.G., Chen Z.* A re-evaluation of Beaufort Sea–Mackenzie Delta basin gas hydrate resource potential: petroleum system approaches to non-conventional gas resource appraisal and geologically-sourced methane flux // *Bull. Canad. Petrol. Geol.* 2010. V. 58. № 1. P. 56–71.
- Panayev A.* Gas hydrates in the oceans // *Int. Geol. Rev.* 1987. V. 29. P. 569–602.
- Reagan M.T., Moridis G.J., Elliott S.M., Maltrud M.* Contribution of oceanic gas hydrate dissociation to the formation of Arctic Ocean methane plumes // *J. Geophys. Res.* 2011. V. 116. C09014.  
<https://doi.org/10.1029/2011JC007189>
- Romanovskii N.N., Eliseeva A.A., Gavrilov A.V. et al.* The long-term dynamics of the permafrost and gas hydrate stability zone on rifts of the east Siberian arctic shelf (Report 1) // *Earth's Cryosphere*. 2005. V. 9. № 4. P. 42–53.
- Ruppel C.D., Kessler J.D.* The interaction of climate change and methane hydrates // *Rev. Geophys.* 2017. V. 55. P. 126–168.
- Schauer U., Loeng H., Rudels B. et al.* Atlantic Water Flow Through the Barents and Kara Seas // *Deep-Sea Res. Part I*. 2002. V. 49. P. 2281–2298.
- Schmaljohann R., Flügel H.J.* Methane-oxidizing bacteria in Pogonophora // *Sarsia* 1987. V. 72. P. 91–98.
- Shakhova N., Semiletov I., Panteleev G.* The distribution of methane on the Siberian Arctic shelves: Implications for the marine methane cycle // *Geophysical Res. Lett.* 2005. V. 32. L09601.  
<https://doi.org/10.1029/2005GL022751>
- Shakhova N., Semiletov I., Leifer I. et al.* Geochemical and geophysical evidence of methane release over the East

- Siberian Arctic Shelf // J. Geoph. Res. 2010. V. 115. C08007.  
<https://doi.org/10.1029/2009JC005602>
- Smirnov R.V., Zaitseva O.V., Vedenin A.A. A remarkable pogonophoran from a desalted shallow near the mouth of the Yenisey River in the Kara Sea, with the description of a new species of the genus *Galathealinum* (Annelida: Pogonophora: Frenulata) // Zoosystematica Rossica. 2020. V. 29. P. 138–154.
- Southward E.C. A new species of *Galathealinum* (Pogonophora) from the Canadian arctic // Canadian J. Zool. 1962. V. 40. P. 385–389.
- Southward A.J., Southward E.C., Dando P.R. et al. Chemoautotrophic function of bacterial symbionts in small Pogonophora // J. Mar. Biol. Ass. U.K. 1986. V. 66. P. 415–437.
- Spencer A.M., Embry A.F., Gautier D.L. et al. Chapter 1, An Overview of the Petroleum Geology of the Arctic, Geological Society. London: Memoirs. 2011. V. 35. P. 1–15.
- Xu T., Sun Y., Wang Z. et al. The Morphology, Mitogenome, Phylogenetic Position, and Symbiotic Bacteria of a New Species of *Sclerolinum* (Annelida: Siboglinidae) in the South China Sea // Front. Mar. Sci. 2022. V. 8.  
<https://doi.org/10.3389/fmars.2021.793645>

## Findings of Pogonophores (Annelida: Siboglinidae) in the Kara Sea Associated with the Regions of Dissociation of Seafloor and Cryogenic Gas Hydrates

V. V. Malakhov<sup>a</sup>, N. N. Rimskaya-Korsakova<sup>a</sup>, A. A. Osadchiev<sup>b</sup>, I. P. Semiletov<sup>c</sup>,  
 N. P. Karaseva<sup>a</sup>, and M. M. Gantsevich<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow 119234, Russia

<sup>b</sup>Shirshov Institute of Oceanology, Russian Academy of Sciences, Moscow 117997, Russia

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

The discovery of new occurrences of pogonophores *Siboglinum* sp. and *Nereilinum* sp. from the St. Anna Trough (northwestern portion of the Kara Sea) has been described in this paper. Previously, occurrences of pogonophores (*Crispabrachia yenisey* and *Galathealinum karaense*) were reported in the southern part of the Kara Sea, in the estuary of the Yenisei River. Two areas in the Kara Sea where pogonophores were found coincide with the regions of distribution of two types of gas hydrates: oceanic seafloor gas hydrates, and gas hydrates associated with permafrost. Gas hydrate deposits in the permafrost are confined to the coastal regions of the Kara Sea. A methane flux forms in areas of dissociation of gas hydrates under the influence of river runoff. This methane source is vital for the survival of pogonophores. The existence of pogonophores in the St. Anna Trough indicates the presence of a methane flux associated with the inflow of Atlantic water, which causes dissociation of seafloor gas hydrates. The possible role of Arctic warming is apparent in both processes.

**Keywords:** pogonophores, gas hydrates, permafrost, Kara Sea, St. Anna Trough, Arctic warming, Siboglinidae

УДК 561.26(265.3)

## ДИАТОМОВЫЕ ВОДОРОСЛИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОСАДКОВ ЗАЛИВА АКАДЕМИИ ОХОТСКОГО МОРЯ

© 2023 г. И. Б. Цой<sup>1</sup>, \*, И. А. Прушковская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,  
Владивосток 690041, Россия

\*e-mail: tsoy@poi.dvo.ru

Поступила в редакцию 26.05.22 г.

После доработки 01.11.22 г.

Принята к публикации 24.11.22 г.

Представлены результаты изучения диатомовых водорослей в поверхностных осадках зал. Академии (Охотское море). Обнаружена богатая диатомовая флора (187 видов и внутривидовых таксонов), представленная преимущественно морскими и солоноватоводными видами. Преобладание бенто-планктонных и бентосных видов указывает на значительную роль микрофитобентоса в зал. Академии. Выделенные с помощью кластерного анализа диатомовые комплексы однородны по таксономическому составу, но различаются экологической структурой, которая в основном определяется соленостью вод. Концентрация диатомей в осадках открытой части зал. Академии и кутовой части Ульбанского залива обусловлена высокой продуктивностью вод и литологическим составом осадков. Относительно низкое содержание диатомей в осадках связано с суровыми климатическими условиями региона, близкими к арктическим.

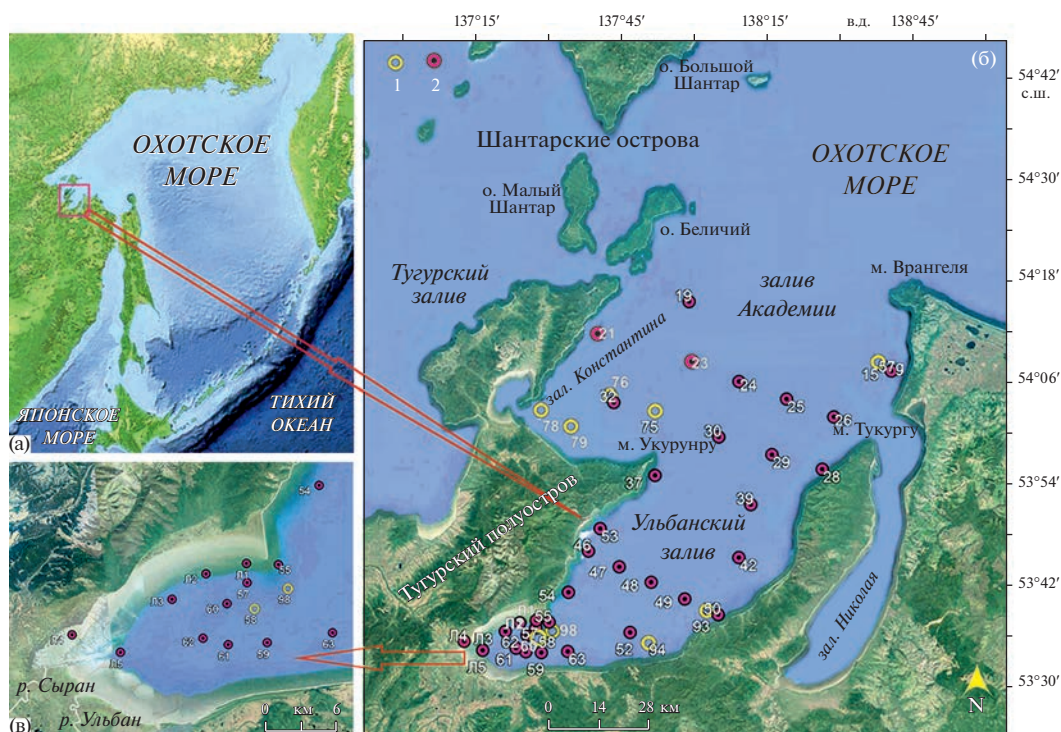
**Ключевые слова:** диатомовые водоросли, поверхностные осадки, микрофитобентос, залив Академии, Шантарский район

**DOI:** 10.31857/S0134347523020092, **EDN:** DVXТАН

Эстуарные акватории дальневосточных морей нельзя оценить без изучения диатомовых водорослей, которые являются важным компонентом фитопланктона и микрофитобентоса как речных, так и морских экосистем. Микрофитобентосные сообщества – это кормовая база для бентосных животных. Продуктивность микрофитобентоса в прибрежных районах умеренных и тропических широт сопоставима с продуктивностью фитопланктона, а иногда даже превышает ее (Barganguet et al., 1997; Karsten et al., 2012). Микрофитобентос стабилизирует поверхностный слой осадков и защищает его от эрозии, влияя на обмен кислорода и питательных веществ через систему осадок–вода (Hendey, 1964). Несмотря на важную экологическую роль, диатомовые водоросли микрофитобентоса эстуарных районов прибрежных акваторий дальневосточных морей до сих пор мало изучены (Обрезкова, 2009; Цой, Моисеенко, 2014; Бегун, Рябушко, 2020). Данные по изучению диатомовых водорослей в зал. Академии практически отсутствуют. Изученные ранее диатомеи из верхнеплейстоцен–голоценовых отложений зал. Николая и прибрежной равнины Усалинской депрессии, расположенных юго-восточнее зал. Академии, характеризуются преобладанием морских видов (Пушкарь, 1979). Диато-

мовые водоросли из торфяников о-ва Большой Шантар, использованные для изучения развития природной среды в самой холодной части Охотского моря, были представлены преимущественно пресноводными видами (Разжигаяева и др., 2021). Морские диатомеи, обнаруженные в торфяниках, попадали туда во время экстремальных штормов, регистрируя прохождение морских циклонов в осенне-зимний период (Razjigaeva et al., 2022). Известны также немногочисленные данные по диатомеям фитопланктона и поверхностных осадков Сахалинского залива, расположенного восточнее зал. Академии (Киселев, 1931; Смирнова, 1959; Жузе, 1962; Орлова и др., 2004). В поверхностных осадках открытой части этого залива преобладали морские виды (Жузе, 1962; Обрезкова, 2009); в южной части, у входа в Амурский лиман, доминировали представители пресноводного рода *Aulacoseira* (Обрезкова, 2009).

Цели настоящей работы – изучение видового состава и экологической структуры диатомовых комплексов в поверхностных осадках зал. Академии и его внутренних заливов, а также оценка роли диатомовых водорослей в осадках данного района.



**Рис. 1.** Карта-схема района исследования (а) и расположение изученных станций в зал. Академии (б) и кутовой части Ульбанского залива (в). 1 — станции 71-го рейса НИС “Профессор Гагаринский”, 2 — 59-го рейса НИС “Академик Опарин”.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

### *Характеристика района исследования*

Зал. Академии располагается в северо-западной части Охотского моря (рис. 1). Он разделяется на глубоко врезающиеся в материк внутренние заливы Константина, Николая и Ульбанский залив. Зал. Академии и его внутренние заливы мелководны, глубины на входе в залив не превышают 52 м, в средней части составляют 30–35 м и уменьшаются к берегам (Тищенко и др., 2022). Образование заливов и отделение островов Шантарского архипелага от континента произошло, вероятно, в четвертичный период (Кулаков, 1980).

Зал. Академии находится в районе Охотско-Шантарского осадочного бассейна, представленного преимущественно палеогеновыми и неогеновыми отложениями (Варнавский и др., 2002). Берега имеют специфические черты, обусловленные продолжительным ледоставом, который ограничивает волновое воздействие на побережье залива (Гидрометеорология ..., 1998). Аккумулятивные берега (лагунные, ваттовые) представлены в вершинах заливов и бухт, вдающихся в равнинные участки побережья (Леонова, Белоус, 2021). Современные осадки зал. Академии и Ульбанского залива — терригенные, представлены преимущественно алевритами и мелкозернистыми песками с включениями гальки разного размера; в зал. Константина преобладают крупная и

средняя галька (Астахов, 1986). В Ульбанский залив впадает несколько рек, самые крупные из которых р. Сыран и р. Ульбан. В этом заливе относительно низкий объем водного и твердого стоков сочетается с достаточно высоким потоком фосфора в минеральной и органической формах (Семкин и др., 2022).

Климат Шантарского района Охотского моря муссонно-континентальный, с суровой зимой и относительно теплым летом, характеризуется частой сменой погоды (Петров и др., 2000; Варнавский и др., 2002). В зал. Академии, находящемся вблизи самой холодной области Охотского моря, существуют холодные плотные шельфовые воды с температурой около  $-1.7^{\circ}\text{C}$ , которые сохраняются в течение всего года (Рогачев, 2012). Здесь происходит накопление и разрушение дрейфующего льда, который присутствует в заливе с конца октября — начала ноября до июля (Гидрометеорология ..., 1998; Рогачев, Шлык, 2014).

Для зал. Академии характерны высокие приливы со сложным приливно-отливным течением. Максимальная величина приливов, превышающая 5 м, наблюдается в Ульбанском заливе (Гидрометеорология ..., 1998). Сильные суточные и полусуточные приливы приводят к увеличению потоков питательных веществ и высокой продуктивности, особенно в мелководных заливах, которые служат важным местом летнего нагула

гренландских китов (Рогачев, 2012; Мельников и др., 2020; Rogachev et al., 2008).

#### Сбор образцов и анализ комплексов диатомей

С целью изучения комплекса диатомей были проанализированы 44 образца поверхностных осадков зал. Академии Шантарского района Охотского моря (рис. 1), собранные в 71-м рейсе НИС “Профессор Гагаринский” (июль–август 2016 г.) (Отчет ..., 2016; Тищенко и др., 2018) и 59-м рейсе НИС “Академик Опарин” (сентябрь 2020 г.) (Тищенко и др., 2022). Осадки в районе исследования были представлены преимущественно илами, илистыми песками, часто с галькой, иногда с гравием и ракушей (табл. 1). Глубины отбора образцов варьировали от 2.1 м в устье р. Сыран до 42.5 м в центральной части зал. Академии. Образцы отбирали дночерпателем Ван Вина (ТОИ ДВО РАН, Россия). На ваттах – низменной прибрежной отмели приливной зоны, осушающейся во время отливов – образцы (Л1–Л6) отбирали с надувной лодки.

Для выделения диатомей из осадков использовали стандартную методику (Жузе и др., 1974), но без применения химических веществ при кипячении. Образцы обрабатывали дистиллированной водой. Для приготовления препаратов использовали высокопреломляющую среду MOUNTEX с показателем преломления 1.67 (Histolab, Гетеборг, Швеция). Изучение, подсчет и фотографирование диатомовых водорослей проводили с помощью светового микроскопа IMAGER.A1 с цифровой видеокамерой AxioCam MRc (Carl Zeiss AG, Германия) при увеличении  $\times 1000$ . Подсчитывали по 200–500 экз. диатомей (в зависимости от их обилия) с последующим пересчетом в процентное содержание.

По отношению к солености экологическая структура диатомовой флоры и комплексов разделялась на морские, солоноватоводные и пресноводные виды, а также эвригалинные виды, выдерживающие значительные колебания солености и обитающие как в морских, так и в пресных водах; в соответствии с местообитанием среди морских, солоноватоводных и эвригалинных видов выделяли группы бентосных, планктонных и бенто-планктонных.

Экологические характеристики водорослей и источники, использованные для идентификации диатомовых водорослей, приведены в ранее опубликованных работах (Цой, Обрезкова, 2017; Цой, Емельянова, 2021). Полные данные о таксономическом составе и количестве кремнистых микроводорослей поверхностных осадков зал. Академии представлены в табл. 2 и 3, которые размещены на сайте ТОИ ДВО РАН: <https://www.poi.dvo.ru/sites/default/files/Documents/Articles/Tables%201-3.xlsx>.

Для выявления особенностей распространения диатомовых водорослей в зал. Академии был проведен Q-кластерный анализ по объектам. Для кластерного анализа использовали образцы, полученные в 59-м рейсе НИС “Академик Опарин”. Объединение объектов было проведено по методу взвешенного попарного арифметического среднего (WPGMA – weighted pair-group method using arithmetic averages) (<http://statsoft.ru/home/text-book/modules/stcluan.html>). В качестве меры сходства/различия был выбран коэффициент корреляции Пирсона – параметр, позволяющий с определенной вероятностью судить о связи объектов. Кластерный анализ распределения диатомей в поверхностных осадках зал. Академии проводили с помощью программы STATISTICA 12 (StatSoft, США). Для кластерного анализа использовали данные по таксономическому составу кремнистых микроводорослей и их процентному содержанию в образце. Карты распределения диатомовых водорослей в поверхностных осадках строили в пакете Surfer 15 (Golden Software, США).

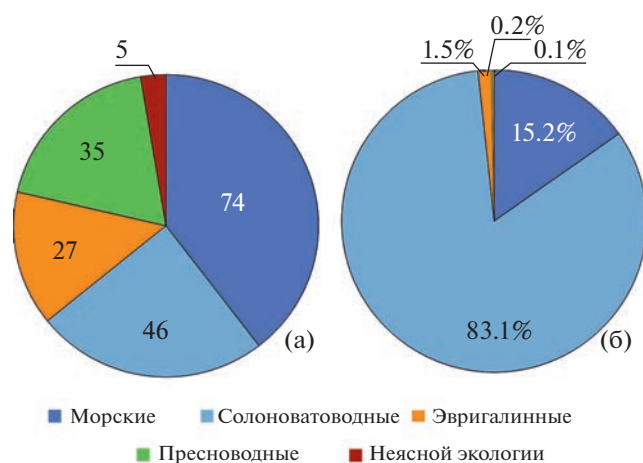
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Диатомовая флора поверхностных осадков зал. Академии представлена 187 видами и внутривидовыми таксонами, принадлежащими к 83 родам, 50 семействам, 29 порядкам и 3 классам (табл. 2). Наибольшее разнообразие характерно для родов *Diploneis* (11 видов и внутривидовых таксонов), *Navicula* (11), *Tryblionella* (10), *Thalassiosira* (9), *Chaetoceros* (8), *Amphora* (6), *Pinnularia* (6), *Grammatophora* (5), *Hyalodiscus* (5) и *Nitzschia* (5). В изученных образцах обнаружено от 20 до 52 видов и внутривидовых таксонов. Диатомовые комплексы были довольно однородны и характеризовались доминированием морского и солоноватоводного бенто-планктонного вида *Paralia sulcata* (70.1%), а также видами *Actinopteryx senarius* (6.2%), *Thalassiosira simonsenii* (7.0%), *Thalassionema nitzschioides* (2.6%) и *Navicula peregrina* (2.1%). Виды *Pleurosigma angulatum*, *Odontella aurita*, *Thalassiosira antarctica* и *Trachyneis aspera* были постоянными компонентами комплексов с содержанием выше 1%. В сумме перечисленные виды в комплексах составляли 77.7–98% (табл. 3).

В диатомовой флоре по количеству видов преобладали морские (74 вида) (рис. 2а), а по численности – солоноватоводные (82.3%) (рис. 2б). Несмотря на заметное видовое разнообразие пресноводных диатомей (37 видов), их содержание в диатомовой флоре было незначительным (0.2%) из-за спорадической встречаемости, что указывало на слабое влияние речного стока. Среди морских, солоноватоводных и эвригалинных диатомей резко преобладали бенто-планктонные виды (78.1%), жизненный цикл которых проходит как

**Таблица 1.** Каталог изученных станций поверхностных осадков залива Академии

| Станция                                                                 | Широта     | Долгота     | Глубина, м | Тип осадков                   |
|-------------------------------------------------------------------------|------------|-------------|------------|-------------------------------|
| 71-й НИС “Профессор Гагаринский”, 2016 г., нач. экспедиции П.Я. Тищенко |            |             |            |                               |
| 57g                                                                     | 54°09.019′ | 138°36.661′ | 30         | Песок илистый, галька         |
| 75                                                                      | 54°03.686′ | 137°51.082′ | 23         | Песок илистый, галька         |
| 76                                                                      | 54°05.469′ | 137°42.752′ | 20         | Ил песчанистый                |
| 78                                                                      | 54°03.167′ | 137°31.561′ | 10         | Песок илистый, галька         |
| 79                                                                      | 54°01.028′ | 137°36.087′ | 12.5       | Ил песчанистый, галька        |
| 93                                                                      | 53°40.137′ | 138°01.987′ | 16.2       | Песок илистый плотный         |
| 94                                                                      | 53°36.321′ | 137°50.042′ | 13         | Песок илистый                 |
| 98                                                                      | 53°37.705′ | 137°31.258′ | 14         | Песок илистый, галька, гравий |
| 59-й рейс НИС “Академик Опарин”, 2020 г., нач. экспедиции П.Я. Тищенко  |            |             |            |                               |
| 15                                                                      | 54°08.257′ | 138°39.406′ | 29.5       | Ил                            |
| 19                                                                      | 54°16.627′ | 137°58.823′ | 39.4       | Ил, галька, ракуша            |
| 21                                                                      | 54°12.808′ | 137°40.568′ | 28.8       | Ил, галька, ракуша            |
| 23                                                                      | 54°09.451′ | 137°59.350′ | 41.6       | Ил, галька, ракуша            |
| 24                                                                      | 54°07.186′ | 138°08.791′ | 42.5       | Ил, галька, ракуша            |
| 25                                                                      | 54°05.165′ | 138°18.316′ | 41.5       | Ил, галька                    |
| 26                                                                      | 54°03.005′ | 138°27.755′ | 31.1       | Ил                            |
| 28                                                                      | 53°56.861′ | 138°25.331′ | 21         | Ил, галька, ракуша            |
| 29                                                                      | 53°58.627′ | 138°15.302′ | 37.1       | Ил, галька, ракуша            |
| 30                                                                      | 54°00.736′ | 138°04.691′ | 35.4       | Ил, галька                    |
| 32                                                                      | 54°04.828′ | 137°43.642′ | 6.3        | Ил                            |
| 37                                                                      | 53°56.239′ | 137°51.894′ | 26.3       | Ил, галька                    |
| 39                                                                      | 53°52.756′ | 138°11.011′ | 34.1       | Ил, галька                    |
| 42                                                                      | 53°46.522′ | 138°08.567′ | 28         | Ил, галька                    |
| 46                                                                      | 53°47.311′ | 137°38.579′ | 11.4       | Ил, галька                    |
| 47                                                                      | 53°45.463′ | 137°44.723′ | 20         | Илистый песок                 |
| 48                                                                      | 53°43.642′ | 137°51.091′ | 21.8       | Песок илистый, галька, ракуша |
| 49                                                                      | 53°41.660′ | 137°57.755′ | 19.6       | Песок илистый, галька         |
| 50                                                                      | 53°39.802′ | 138°04.385′ | 17.8       | Песок илистый                 |
| 52                                                                      | 53°37.720′ | 137°46.866′ | 17.7       | Илистый песок, галька         |
| 53                                                                      | 53°49.973′ | 137°40.922′ | 21.8       | Песок илистый                 |
| 54                                                                      | 53°42.439′ | 137°34.600′ | 15.7       | Ил, глина черная              |
| 55                                                                      | 53°38.914′ | 137°30.740′ | 14.8       | Ил, галька                    |
| 57                                                                      | 53°38.209′ | 137°28.112′ | 12.8       | Ил                            |
| 58                                                                      | 53°36.916′ | 137°28.448′ | 15.3       | Ил                            |
| 59                                                                      | 53°35.304′ | 137°29.225′ | 10.3       | Ил                            |
| 60                                                                      | 53°37.322′ | 137°26.360′ | 10.8       | Ил                            |
| 61                                                                      | 53°35.392′ | 137°26.128′ | 8.2        | Ил                            |
| 62                                                                      | 53°35.810′ | 137°24.186′ | 10.9       | Песок илистый                 |
| 63                                                                      | 52°35.456′ | 137°34.468′ | 14.7       | Ил, ракуша, галька            |
| Л1                                                                      | 53°39.119′ | 137°28.218′ | 3.1        | Ил песчанистый                |
| Л2                                                                      | 53°38.820′ | 137°24.929′ | 2.1        | Ил песчанистый                |
| Л3                                                                      | 53°37.782′ | 137°22.041′ | 2.1        | Ил песчанистый                |
| Л4                                                                      | 53°36.570′ | 137°13.844′ | 3.7        | Ил песчанистый                |
| Л5                                                                      | 53°35.529′ | 137°17.540′ | 2.3        | Ил песчанистый                |
| Л6                                                                      | 53°35.156′ | 137°19.761′ | 5.0        | Ил песчанистый                |



**Рис. 2.** Экологическая структура диатомовой флоры поверхностных осадков зал. Академии: а — количество видов, б — процентное содержание с учетом численности видов в экологических группах диатомовой флоры.

на дне, так и в водной толще. Количество планктонных диатомей составляло 15.5%, бентосных — 6.1%.

#### Кластерный анализ

По результатам кластерного анализа, проведенного на основе полной выборки для 166 видов диатомей, определенных в поверхностных осадках 36 станций зал. Академии, установлено, что изученные станции разделяются на кластеры А и Б. Последний, в свою очередь, подразделяется на два подкластера: Б-1 и Б-2 (рис. 3а). Географическое положение станций, объединенных в кластеры и подкластеры, представлено на рис. 3б; здесь же показано распределение вида *P. sulcata*, доминирующего в изученных осадках.

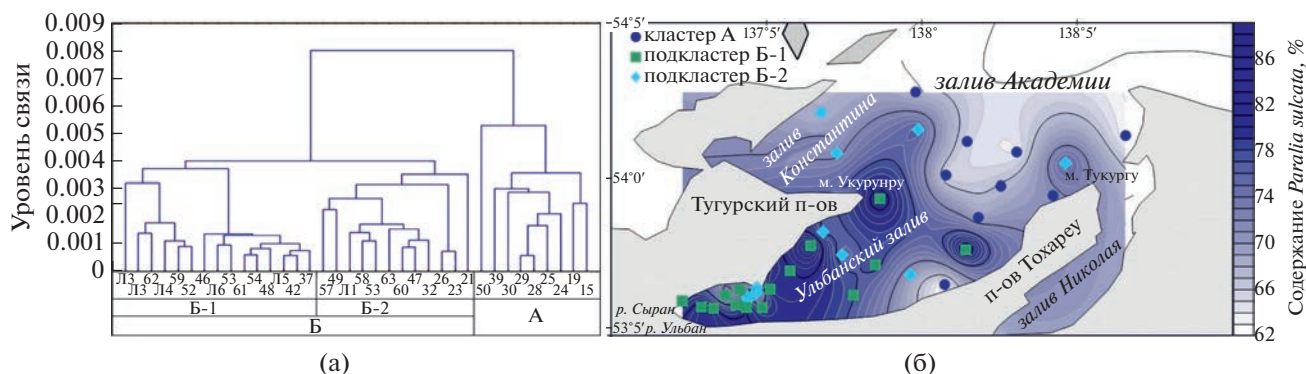
Кластер А объединяет станции зал. Академии. Для комплекса диатомей этого кластера характерно доминирование *P. sulcata* (66.1%), субдоми-

нировали *T. simonsenii* (10.5%), *A. senarius* (7.5%). Редко, но постоянно встречались *N. peregrina* (3.2%), *Thalassionema nitzschioides* (2.8%), *Trachyneis aspera* (2.2%), *O. aurita* (2.5%) и *T. antarctica* (1.3%) (рис. 4). Единично встречены характерные для комплексов кластера А криофильные виды *Frugilariopsis cylindrus*, *F. oceanica* и *F. reginae-jahninae*, а также морские планктонные виды *Bacterosira bathyomphala*, *Sundstroemia setigera*, *Coscinodiscopsis jonesiana* и представители рода *Chaetoceros* (споры). Спорадически отмечались океанические виды *Rhizosolenia hebetata* и *Actinocyclus curvatulus*.

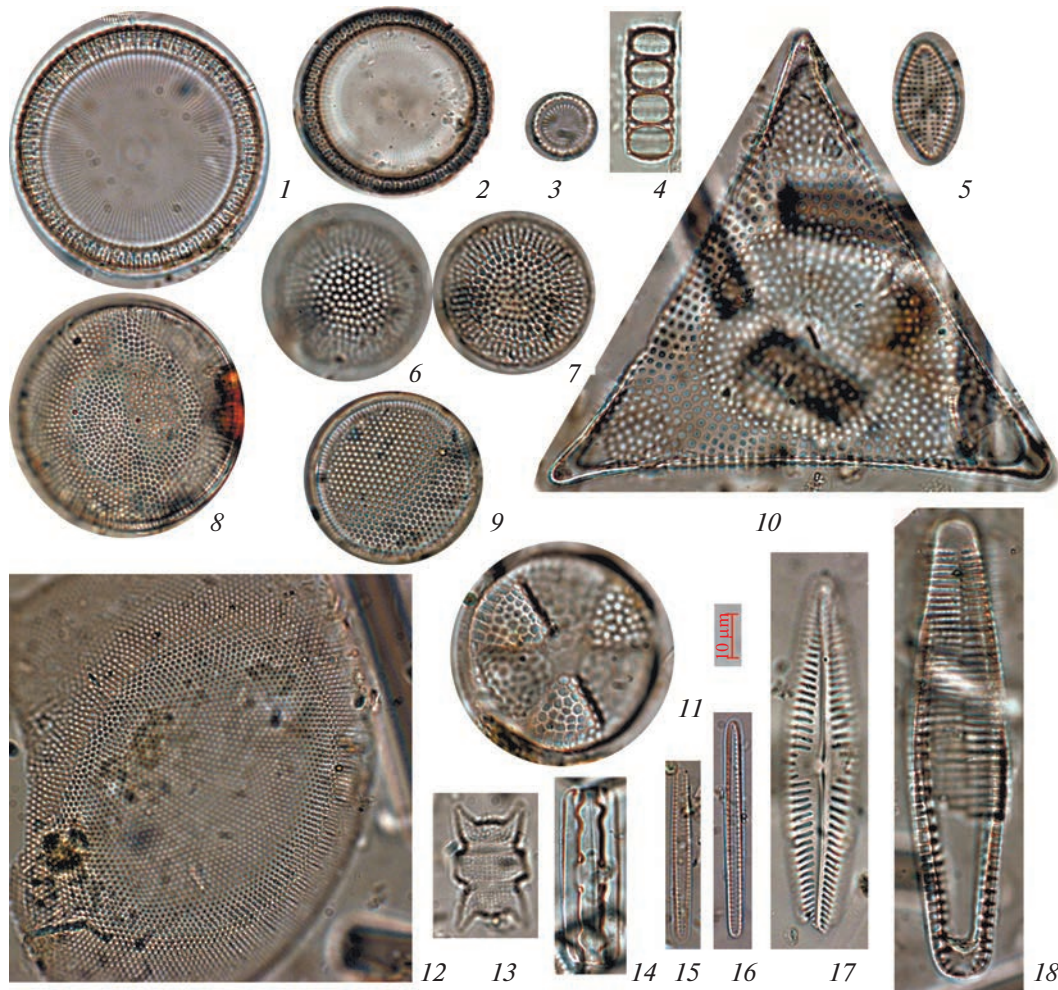
Кластер Б включает станции заливов Академии, Константина и Ульбанского залива. Его видовой состав комплексов диатомей близок к таковому кластера А, однако количественное соотношение видов отличается; увеличиваются разнообразие и роль солоноватоводных и эвригалинных бентосных диатомей. Кластер Б подразделяется на два подкластера.

Подкластер Б-2 объединяет станции заливов Академии, Константина и Ульбанского залива. В комплексах Б-2 содержание *P. sulcata* достигало 74.4%, также возросло количество бентосного солоноватоводного вида *P. angulatum*, но уменьшилось содержание планктонных *T. simonsenii*, *T. antarctica*, *Thalassionema nitzschioides* и *O. aurita*, а также бентосных *Trachyneis aspera* и *N. peregrina*; постоянным компонентом комплексов стал *Melosira arctica*. Диатомеи, обнаруженные только в осадках станций кластера Б-2, представлены в основном бентосными видами *Cosmioneis grossepunctata*, *Cocconeis costata*, *Cocconeis pellucida*, *Diploneis suborbicularis*, *D. dydimus*, *Arachnoidiscus ehrenbergii*, *Hyalodiscus scoticus*, *Lyrella lyroides*, *Tryblionella levidensis* и *Plagiogramma stauraphorum* (рис. 5), которые встречались единично на отдельных станциях.

Подкластер Б-1 объединяет станции Ульбанского залива, расположенные преимущественно в его кутовой части. Для комплексов диатомей Б-1 характерно максимальное содержание *P. sulcata*



**Рис. 3.** Дендрограмма распределения диатомовых водорослей (а); процентное содержание доминирующего вида *Paralia sulcata* в поверхностных осадках зал. Академии и географическое положение станций, объединенных в кластеры и подкластеры (б).



**Рис. 4.** Диатомеи из поверхностных осадков зал. Академии (кластер А): *Paralia sulcata* (1–4), *Delphineis surirella* (5), *Thalassiosira antarctica* (6, 7), *T. hyperborea* (8), *T. simonsenii* (9), *Lithodesmium* sp. (10), *Actinocyclus senarius* (11), *Coscinodiscus jonesiana* (12), *Odontella aurita* (13), *Grammatophora marina* (14), *Thalassionema nitzschioides* (15, 16), *Navicula peregrina* (17) и *Rhabdonema arcuatum* (18). Образцы 1, 5, 13, 15 и 16 собраны на станции 30; 2–4, 6, 7, 11 и 14 – на станции 25; 8 – на станции 29; 9, 10, 12 и 18 – на станции 19 и 17 – на станции 24.

(79.8%), при заметном уменьшении количества планктонных *T. simonsenii*, *Thalassionema nitzschioides* и *O. aurita*, а также видов *Trachyneis aspera* и *Navicula peregrina*. Для данного комплекса характерны *Actinocyclus divisus*, *Metascolioneis tumida*, *Grammatophora arcuata*, *Navicula digitoradiata*, *Petroneis granulata*, *P. marina*, *Gyrosigma acuminata*, *Coronia decora* и *Tryblionella punctata*, а также виды *T. granulata*, *T. adducta*, *Frustulia lewisianus* var. *linearis*, *Frickea lewisiana* и *Scoliotropis latestriata* (рис. 6), обнаруженные в основном в осадках осушки (станции Л2–Л6).

Таким образом, выделенные в результате кластерного анализа диатомовые комплексы А, Б-1 и Б-2 очень близки по таксономическому составу и характеризуются резким доминированием вида *Paralia sulcata*; основное различие заключается в количественном соотношении видов, составляющих

основное ядро этих комплексов: *Thalassiosira simonsenii*, *Actinocyclus senarius*, *Thalassionema nitzschioides*, *Navicula peregrina*, *Trachyneis aspera*, *Pleurosigma angulatum*, *Delphineis surirella*, *Odontella aurita*, *Thalassiosira antarctica*, *T. hyperborea* и *Melosira arctica*.

Диатомовые комплексы выделенных кластеров различались экологической структурой (рис. 7). Комплексы кластера А (зал. Академии) характеризовались доминированием солоноватоводных видов (75–85.6%), значительным количеством морских (14.4–23.5%) и спорадическими находками пресноводных (0–1.5%) и эвригалинных (0–1%) видов. В соответствии с местообитанием среди них преобладали бенто-планктонные виды (68.5–80.2%), доля планктонных составляла 11.4–22.8%, а бентосных – 4.2–10.8%. В комплексах подкластера Б-2, включающего станции заливов Академии, Константина и Ульбанского залива, содержание

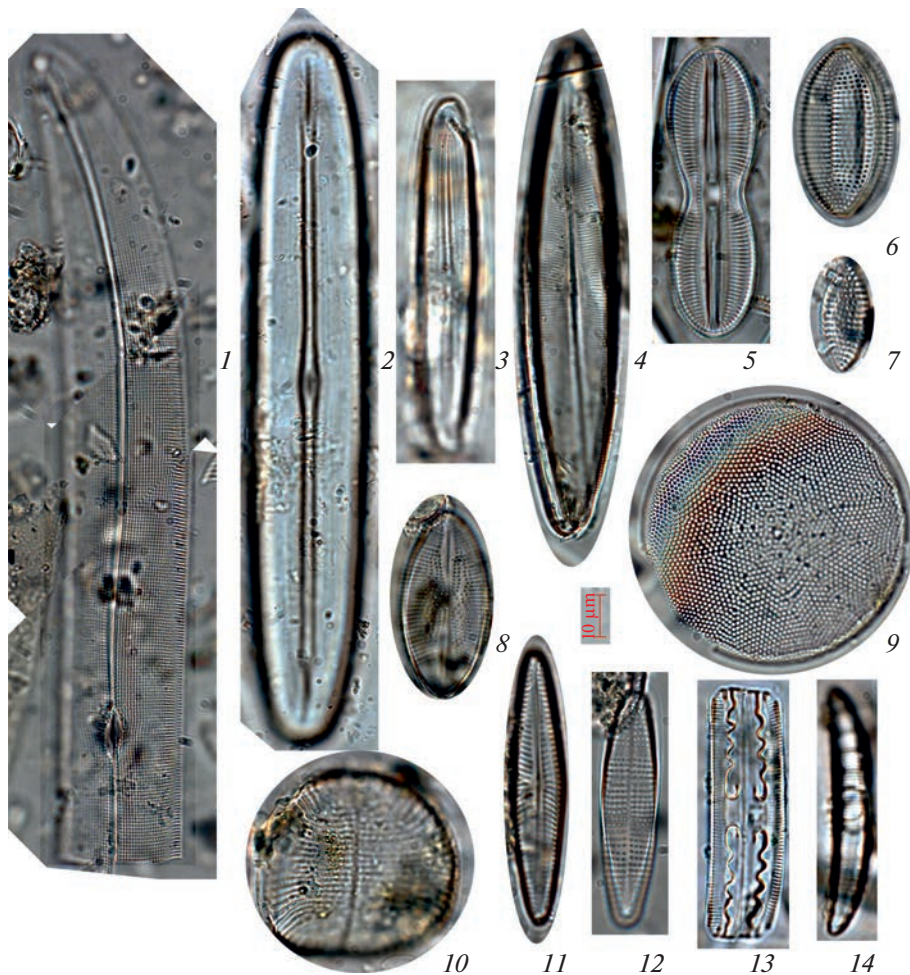


**Рис. 5.** Диатомеи из поверхностных осадков зал. Академии и Ульбанского залива (подкластер Б-2): *Melosira arctica* (1, 2), *M. moniliformis* var. *octogona* (3), *Actinocyclus curvatulus* (4), *Hyalodiscus obsoletus* (5), *Thalassiosira simonsenii* (6), *Paralia sulcata* (7), *Pleurosigma angulatum* (8), *Lithodesmium* sp. (9), *Coscinodiscopsis jonesiana* (10), *Cosmioneis grossepunctata* (11), *Trachyneis aspera* (12), *Diploneis smithii* (13), *D. subcincta* (14), *D. suborbicularis* (15), *D. mereschowskyi* (16), *D. ovalis* (17), *Grammatophora marina* (18) и *Pseudogomphonema kamtschaticum* (19). Образцы 1, 2 и 19 собраны на станции 32; 3 и 17 – на станции 63; 4–10, 12 и 18 – на станции 21; 11 и 13–15 – на станции 49 и 16 – на станции 60.

солонатоводных видов было выше (85.2–93%), количество морских видов ниже (6.8–14.4%); содержание эвригалинных (0–1.8%) и пресноводных (0–0.8%) видов оставалось практически на том же уровне, что и в комплексах кластера А. Количество бенто-планктонных диатомей достигало 76.8–88%, планктонных снизилось до 7–14%, количество бентосных диатомей (3.6–9.4%) почти не изменилось. Комплексы подкластера Б-1 различались увеличением до 87.6–95.6% количества солонатоводных видов, заметным уменьшением (до 3.6–8.8%) морских и незначительным увеличением числа эвригалинных видов (0.2–2.8%);

количество пресноводных видов (0.2–0.8%) не изменилось по сравнению с таковым в комплексах кластера А. Количество бенто-планктонных видов достигло максимальных значений (79–91.4%), незначительно увеличилось количество бентосных видов (3.6–12.2%), а планктонные составили 3–11%.

Кроме диатомовых водорослей, в поверхностных осадках зал. Академии были обнаружены единичные скелеты силикофлагеллат или диктиохофициевых (класс Dictyochophyceae). Это *Octactis speculum* и *Stephanocha speculum* var. *minuta* – однокле-



**Рис. 6.** Диатомеи, характерные для кутовой части Ульбанского залива (подкластер Б-1): *Gyrosigma balticum* (1), *Frickea lewisiana* (2), *Frustulia lewisiana* f. *linearis* (3), *Metascolineis tumida* (4), *Diploneis interrupta* (5), *Tryblionella punctata* (6), *T. granulata* (7), *Petroneis granulata* (8), *Actinocyclus divisus* (9), *Coronilla decora* (10), *Navicula digitoradiata* (11), *Delphineis kippae* (12) и *Grammatophora arcuata* (13 и 14). Образцы 1 и 8–11 собраны на станции Л3; 2, 13 и 14 – на станции Л6; 3 и 7 – на станции Л4; 4–6 – на станции 59 и 12 – на станции 61.

точные водоросли с кремневым скелетом, типичные обитатели морского и океанического планктона (табл. 2). Оба вида характерны для холодных водных масс (Takahashi, Blackwelder, 1992; Barron et al., 2016) и богатых нутриентами вод в регионах с прибрежным апвеллингом (Barron et al., 2016). Находки *O. speculum* в осадках кутовой части Ульбанского залива подтверждают, что он может обитать в опресненных морских водах (Глезер, 1966).

#### Количественное содержание диатомей в поверхностных осадках

Концентрация диатомей в осадках зал. Академии была неравномерной и варьировала от 0.72 до 4.29 млн створок/г (рис. 8, табл. 1). Низкое количество диатомей отмечено преимущественно в

песках и песчанистых илах зал. Константина и прибрежных станций Ульбанского залива и зал. Академии. Значительные концентрации диатомей наблюдались в илах на входе в зал. Академии, а также в северо-восточной и кутовой частях Ульбанского залива.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Доминирующий вид в поверхностных осадках зал. Академии *Paralia sulcata* (34–88.6%) мы принимаем *sensu lato*. Многочисленные морфологические и морфометрические данные, полученные главным образом с помощью сканирующей электронной микроскопии и генетического анализа, свидетельствуют, что *P. sulcata* включает несколько видов (Sawai et al., 2005; MacGillivray, Kaczmarzka, 2015; Yun et al., 2016). В данной работе мы не разделяли эти виды, но они имеют разные экологи-

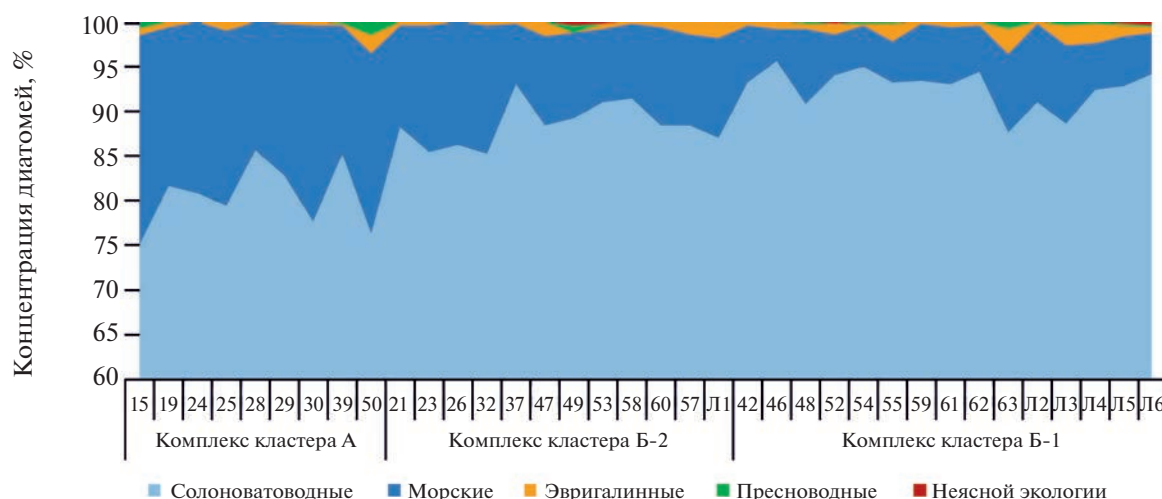


Рис. 7. Экологическая структура диатомовых комплексов кластеров, выделенных в поверхностных осадках заливов Академии, Константина и Ульбанского залива.

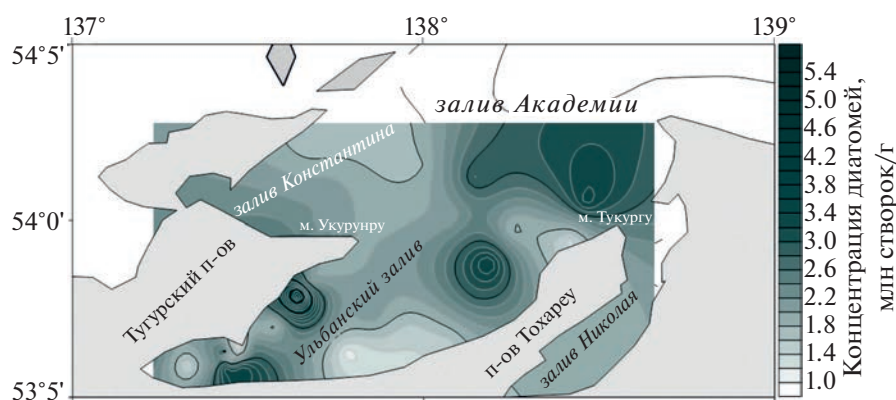


Рис. 8. Концентрация диатомей (млн створок/г) в поверхностных осадках зал. Академии.

ческие предпочтения, поэтому в будущих исследованиях необходимо различать виды группы *Paralia sulcata*, так как это важно для палеорекострукций.

Морской вид *P. sulcata* широко распространен в осадках, реже — в планктоне прибрежной, часто распресненной части моря (Жузе, 1962; Hendeу, 1964), и считается бенто-планктонным или тихопелагическим видом. Находки этого вида в осадках центральной части Охотского моря связывают с его транспортировкой различными природными процессами из районов шельфа (Wang, Wang, 2008). В планктоне его количество увеличивается из-за нагонных ветров, приливного перемешивания вод (Hendeу, 1964; Oh, Koh, 1995) или прибрежного апвеллинга (Abrantes, 1988). Численность и размер створок *P. sulcata* связаны со свойствами поверхностных вод и стабильностью водной толщи (Roelofs, 1984; Пушкарь, Черепанова, 2001; McQuoida, Nordberg, 2002). В изученных осадках зал. Академии преобладают формы *P. sulcata* с мелкими створками (диаметром

около 12 мкм), большие скопления которых связаны с хорошим вертикальным перемешиванием и обогащением вод питательными веществами (McQuoida, Nordberg, 2002). Вид распространен в песчаных и тонкозернистых осадках, богатых органическим материалом (Roelofs, 1984; Zong, 1997), и является важным источником питания для бентосных и планктонных животных (Gebühг et al., 2009). Количество *P. sulcata* в поверхностных осадках увеличивалось от входа в зал. Академии (в среднем 66.1%) по направлению к устью рек, впадающих в Ульбанский залив (в среднем 79.8%), которые различаются низким речным стоком (Семкин и др., 2022; Тищенко и др., 2022). Подобная картина наблюдалась в поверхностных осадках прибрежных районов заливов южной части Британской Колумбии (Roelofs, 1984).

Вид *P. sulcata* обладает сильноокремненным панцирем, хорошо сохраняющимся в осадках, но его массовое количество в изученных осадках не связано с избирательным растворением. Этот вид не был обнаружен в фитопланктоне зал. Акаде-

мии (Отчет ..., 2016). Его изобилие в осадках и редкие находки или отсутствие в планктоне на мелководье Охотского моря связаны с придонным характером обитания (Жузе, 1962). Таким образом, доминирование вида *P. sulcata* в осадках зал. Академии обусловлено в основном комфортными для этого вида условиями обитания. Его преобладание, наряду с другими бенто-планктонными (*Actinopterychus senarius*, *Odontella aurita* и *Thalassiosira hyperborea*) и бентосными (*Pleurosigma angulatum*, *Delphineis surirella*, *Navicula peregrina* и *Trachyneis aspera*) видами, характерными для распресненных прибрежных районов моря, указывает на значительную роль микрофитобентоса в зал. Академии.

Комплексы диатомей выделенных кластеров характеризовались близким таксономическим составом, но их экологическая структура различалась. Наиболее заметные различия отмечены у комплексов кластера А и подкластера Б-1: по направлению от входа в зал. Академии к кутовой части Ульбанского залива количество солоноватоводных и эвригалинных видов увеличивалось, а количество морских заметно уменьшалось, что отражало снижение солёности вод в этом направлении от 32 до 8‰ (Семкин и др., 2022; Тищенко и др., 2022). Ничтожное количество пресноводных видов в осадках кутовой части Ульбанского залива, куда впадают реки Ульбан и Сыран, подтвердило незначительную роль речного стока в этом заливе (Семкин и др., 2022; Тищенко и др., 2022).

Концентрация диатомей — важный показатель, широко использующийся для палеореконовструкций и отражающий биопродуктивность вод, гидробиологические условия и седиментацию (Жузе, 1962; Полякова, 1997; Пушкарь, Черепанова, 2001; Цой и др., 2009; Обрезкова и др., 2014). Концентрация диатомей преимущественно в илах, распространенных на входе зал. Академии и в кутовой части Ульбанского залива (рис. 8) закономерна, поскольку обычно наибольшая их концентрация наблюдается в мелкоалевритовой фракции илов, размер частиц которой близок среднему размеру (около 50 мкм) створок диатомовых водорослей (Жузе, 1962). Значительные концентрации диатомей (рис. 8) связаны также с высоким содержанием биогенных веществ (нитраты, фосфор, аммоний и кремний) в поверхностных и придонных водах этих районов, стимулирующих биопродуктивность вод. Предполагается, что источником этих веществ служат фекалии млекопитающих — косаток, белух и лахтаков, которые питаются пришедшими на нерест лососями (Тищенко и др., 2022). Заметная концентрация диатомей в осадках северо-восточной части Ульбанского залива, где не отмечено значительной концентрации биогенных веществ, возможно, связана с перераспределением осадков придонными водными массами по эрозионной ложбине, которая выходит в этом районе (Белоус и др., 2023).

Средняя концентрация диатомей в осадках зал. Академии (2.9 млн створок/г) сопоставима с таковой в осадках Сахалинского залива (2.3 млн створок/г) (Обрезкова, 2009) и Чукотского моря (3 млн створок/г) (Полякова, 1997; Обрезкова и др., 2014), но заметно ниже, чем в осадках высокопродуктивного северного (12.7 млн створок/г) (Цой и др., 2009) и западного (5.3 млн створок/г) шельфов (Цой, Емельянова, 2021) Охотского моря и Амурского залива Японского моря (6.3 млн створок/г) (Цой, Моисеенко, 2014). Относительно низкое содержание диатомей в осадках зал. Академии, вероятно, связано с суровыми гидрологическими и климатическими условиями региона, близкими к арктическим. Особенности осадков, представленных преимущественно илистыми песками с включениями гальки, щебня и ракушки, и активный гидродинамический режим также не способствовали значительному накоплению диатомей.

Таким образом, в поверхностных осадках зал. Академии обнаружена богатая диатомовая флора (187 видов и внутривидовых таксонов), представленная преимущественно морскими и солоноватоводными видами. Доминирование в этих осадках *P. sulcata* указывает на комфортные для него условия обитания и накопления — активный гидродинамический режим, песчаные осадки, низкий речной сток и распресненность прибрежных вод. Преобладание бенто-планктонных и бентосных видов свидетельствует о значительной роли микрофитобентоса в зал. Академии. Выделенные с помощью кластерного анализа диатомовые комплексы поверхностных осадков довольно однородны по таксономическому составу, но различаются экологической структурой, которая определяется, главным образом, солёностью вод. Ничтожное количество пресноводных диатомей даже в кутовой части Ульбанского залива указывает на незначительное влияние речного стока на осадконакопление. Высокая концентрация диатомей в осадках открытой части зал. Академии и кутовой части Ульбанского залива обусловлена литологическим составом осадков и высокой продуктивностью вод в этих районах. Относительно низкое содержание диатомей в осадках зал. Академии, по сравнению с таковым в осадках шельфовых районов морей северо-востока России, связано с активным гидродинамическим режимом и суровыми климатическими условиями региона, близкими к арктическим.

## 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 совместного гранта Российского фонда фундаментальных исследований и Государственного фонда естественных наук Китая (ГФЕН\_а: № 21-55-53015) и Министерства науки и высшего образования (проект № 121021700342-9).

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят членов экипажей НИС “Профессор Гагаринский” и НИС “Академик Опарин” за всестороннюю помощь, а также С.П. Куклу и Э.А. Акулову за отбор образцов, Л.В. Осипову за химико-техническую обработку и приготовление препаратов для анализа диатомей и выражают признательность Н.К. Вагиной за редактирование рукописи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Астахов А.С.* Позднечетвертичное осадконакопление на шельфе Охотского моря. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 1986. 140 с.
- Бегун А.А., Рябушко Л.И.* Бентосные диатомовые водоросли российских вод Японского моря и сопредельных акваторий // Биол. моря. 2020. Т. 46. № 4. С. 231–241.  
<https://doi.org/10.31857/S0134347520040026>
- Белоус О.В., Леонова Т.Д., Валитов М.Г.* Природные условия и рельеф дна залива Академии (Охотское море) // Тихоокеан. геология. 2023. Т. 42. № 1. С. 33–44.  
<https://doi.org/10.30911/0207-4028-2023-42-1-33-44>
- Варнавский В.Г., Жаров А.Э., Кириллова Г.Л. и др.* Геология и нефтегазоносность Охотско-Шантарского осадочного бассейна. Серия “Осадочные бассейны Востока России”. Т. 1. Владивосток: ДВО РАН. 2002. 148 с.
- Гидрометеорология и гидрохимия моря. Т. 9. Охотское море. СПб.: Гидрометеиздат. 1998. Вып. 1. 342 с.
- Глезер З.И.* Кремневые жгутиковые водоросли (силикофлагелаты) // Флора споровых растений СССР. М.-Л.: Наука. 1966. Т. 7. 332 с.
- Жузе А.П.* Стратиграфические и палеогеографические исследования в северо-западной части Тихого океана. М.: Изд-во АН СССР. 1962. 260 с.
- Жузе А.П., Прошкина-Лавренко А.И., Шешукова-Порецкая В.С.* Методика исследования // Диатомовые водоросли СССР (ископаемые и современные). Т. 1. Л.: Наука. 1974. С. 50–79.
- Киселев И.А.* Состав и распределение фитопланктона в Амурском лимане // Исследование морей СССР. 1931. Вып. 14. С. 31–116.
- Кулаков А.П.* Морфотектоника и палеогеография материкового побережья Охотского и Японского морей в антропогене. М.: Наука. 1980. 176 с.
- Леонова Т.Д., Белоус О.В.* Типизация берегов Западного Приохотья и тенденции их развития // Изв. РАН. Серия геогр. 2021. Т. 85. № 3. С. 422–432.  
<https://doi.org/10.31857/S2587556621030092>
- Мельников В.В., Федорев Ю.В., Семкин П.Ю. и др.* Гидробиологические особенности заливов Шантарского района в связи с летним нагулом полярных китов охотской популяции // Океанология. 2020. Т. 60. № 2. С. 244–249.  
<https://doi.org/10.31857/s0030157420020070>
- Обрезкова М.С.* Диатомей поверхностных осадков Амурского лимана и прилегающих акваторий (Японское и Охотское моря) // Биол. моря. 2009. Т. 35. № 2. С. 138–150.  
<https://doi.org/10.1134/S1063074009020059>
- Обрезкова М.С., Колесник А.Н., Семилетов И.П.* Распределение диатомей в поверхностных осадках морей Восточной Арктики России // Биол. моря. 2014. Т. 40. № 6. С. 465–472.
- Орлова Т.Ю., Селина М.С., Стоник И.В.* Видовой состав микроводорослей планктона Охотоморского побережья острова Сахалин // Биол. моря. 2004. Т. 30. № 2. С. 96–104.
- Отчет о результатах экспедиционного исследования в 71-м рейсе НИС “Профессор Гагаринский” (с 01 июля по 12 августа 2016 г.). Владивосток: ТОИ ДВО РАН. 2016. 187 с.
- Петров Е.С., Новооцкий П.В., Ленишин В.Т.* Климат Хабаровского края и Еврейской автономной области. Владивосток – Хабаровск: Дальнаука. 2000. 174 с.
- Полякова Е.И.* Арктические моря Евразии в позднем кайнозое. М.: Научный мир. 1997. 146 с.
- Пушкар В.С.* Биостратиграфия осадков позднего антропогена юга Дальнего Востока (по данным диатомового анализа). М.: Наука. 1979. 140 с.
- Пушкар В.С., Черепанова М.В.* Диатомей плиоцена и антропогена Северной Пацифики: стратиграфия и палеоэкология. Владивосток: Дальнаука. 2001. 228 с.
- Разжиганова Н.Г., Гребенникова Т.А., Ганзей Л.А. и др.* Стратиграфия водораздельного торфяника и развитие природной среды острова Большой Шантар в позднеледниковье–голоцене // Тихоокеан. геология. 2021. Т. 40. № 3. С. 85–102.  
<https://doi.org/10.30911/0207-4028-2021-40-3-85-102>
- Рогачев К.А.* Спутниковые наблюдения регулярных вихрей в бухтах Шантарского архипелага Охотского моря // Известия, Физика атмосферы и океана. 2012. Т. 48. № 9. С. 993–998.  
<https://doi.org/10.1134/S0001433812090149>
- Рогачев К.А., Шлык Н.В.* Струйное течение Шантарского архипелага по спутниковым данным // Исслед. Земли из космоса. 2014. № 5. С. 68–75.
- Семкин П.Ю., Тищенко П.Я., Павлова Г.Ю. и др.* Карбонатная система эстуариев рек Сыран и Ульбан (Ульбанский залив Охотского моря) в период летнего паводка // Водн. ресурсы. 2022. Т. 49. № 5. С. 869–979.  
<https://doi.org/10.1134/S0097807822050141>
- Смирнова Л.И.* Фитопланктон Охотского моря и прикурильского района // Тр. Института океанологии. Т. 30. Биологические исследования моря (планктон). М.: Изд-во АН СССР. 1959. С. 3–51.
- Тищенко П.Я., Лобанов В.Б., Тищенко П.П. и др.* Гидрохимические исследования залива Академии (Охотское море) // Океанология. 2022. Т. 62. № 1. 80–92.  
<https://doi.org/10.1134/S0001437022010155>
- Тищенко П.Я., Лобанов В.Б., Шулькин В.М. и др.* Комплексные исследования прибрежных акваторий Японского и Охотского морей, находящихся под влиянием речного стока (71-й рейс научно-исследовательского судна “Профессор Гагаринский”) // Океанология. 2018. Т. 58. № 2. С. 340–342.  
<https://doi.org/10.7868/S00301574180>

- Цой И.Б., Емельянова Э.А. Атлас диатомовых водорослей Дагинского грязевого вулкана (Восточный Сахалин). Владивосток: ТОИ ДВО РАН. 2021. 220 с.
- Цой И.Б., Моисеенко И.А. Диатомеи поверхностных осадков Амурского залива Японского моря // Биол. моря. 2014. Т. 40. № 1. С. 12–25.
- Цой И.Б., Обрезкова М.С. Атлас диатомовых водорослей и силикофлагеллат голоценовых осадков морей Восточной Арктики России. Владивосток: ТОИ ДВО РАН. 2017. 146 с.
- Цой И.Б., Обрезкова М.С., Артемова А.В. Диатомеи поверхностных осадков Охотского моря и северо-западной части Тихого океана // Океанология. 2009. Т. 49. № 1. С. 141–150.
- Abrantes F. Diatom assemblages as upwelling indicators in surface sediments off Portugal // Mar. Geol. 1988. V. 85. № 1. P. 15–39.  
https://doi.org/10.1016/0025-3227(88)90082-5
- Barranguet C., Herman P.M.J., Sinke J.J. Microphytobenthos biomass and community composition studied by pigment biomarkers: importance and fate in the carbon cycle of a tidal flat // J. Sea Res. 1997. V. 38. № 1–2. P. 59–70.
- Barron J.A., Bukry D., Ager T.A. Holocene evolution of diatom and silicoflagellate paleoceanography in Slocum Arm, a fjord in southeastern Alaska // Marine Micro-paleontology. 2016. V. 126. № 5. P. 1–18.  
https://doi.org/10.1016/j.marmicro.2016.05.002
- Gebühr C., Wiltshire K.H., Aberle N. et al. Influence of nutrients, temperature, light and salinity on the occurrence of *Paralia sulcata* at Helgoland Roads, North Sea // Aquatic Biology. 2009. V. 7. P. 185–197.  
https://doi.org/10.3354/ab00191
- Hendey N.I. An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Waters. London: Her Majesty's Stationary Office. 1964. 317 p.
- Karsten U., Schlie C., Becker B. Benthic diatoms in Arctic seas – ecological functions and adaptations // Polarforschung. 2012. V. 81. № 2. P. 77–84.
- MacGillivray M.L., Kaczmarek I. *Paralia* (Bacillariophyta) stowaways in ship ballast: implications for biogeography and diversity of the genus // Journal of Biological Research-Thessaloniki. 2015. V. 22. № 2.  
https://doi.org/10.1186/s40709-015-0024-5
- McQuoida M.R., Nordberg K. The diatom *Paralia sulcata* as an environmental indicator species in coastal sediments // Estuar. Coast. Shelf Sci. 2002. V. 56. № 2. P. 339–354.  
https://doi.org/10.1016/S0272-7714(02)00187-7
- Oh S.H., Koh C.H. Distribution of diatoms in the surficial sediments of the Mangyung-Dongjon tidal flat, west coast of Korea (Eastern Yellow Sea) // Mar. Biol. 1995. V. 122. P. 487–496.
- Razjigaeva N., Ganzey L., Grebennikova T. et al. Bioaerosols as evidence of atmospheric circulation anomalies over the Okhotsk Sea and Shantar Islands in the late Glacial–Holocene // Climate. 2022. V. 10. № 2. P. 1–23.  
https://doi.org/10.3390/cli10020024
- Roelofs A.K. Distributional patterns and variation of valve diameter of *Paralia sulcata* in surface sediments of Southern British Columbia Inlets // Estuar. Coast. Shelf Sci. 1984. V. 18. № 2. P. 165–176.  
https://doi.org/10.1016/0272-7714(84)90104-5
- Rogachev K.A., Carmack E.C., Foreman M.G.G. Bowhead whales feed on plankton concentrated by estuarine and tidal currents in Academy Bay, Sea of Okhotsk // Cont. Shelf Res. 2008. V. 28. № 14. P. 1811–1826.  
https://doi.org/10.1016/j.csr.2008.04.014
- Sawai Y., Nagumo T., Toyoda K. Three extant species of *Paralia* (Bacillariophyceae) along the coast of Japan // Phycologia. 2005. V. 44. № 5. P. 517–529.
- Takahashi K., Blackwelder P.L. The spatial distribution of silicoflagellates in the region of the Gulf Stream warm-core ring 82B: application to water mass tracer studies // Deep Sea Res. Part A. 1992. V. 39. Suppl. 1. P. S327–S346.
- Wang W.L., Wang L.C. Reconstruction of oceanographic changes based on the diatom records of the central Okhotsk Sea over the last 500000 years // Terr. Atmos. Ocean. Sci. 2008. V. 19. P. 403–411.  
https://doi.org/10.3319/TAO.2008.19.4.403
- Yun S.M., Lee S.D., Park J.S., Lee J.-H. A new approach for identification of the genus *Paralia* (Bacillariophyta) in Korea based on morphology and morphometric analyses // Algae. 2016. V. 31. № 1. P. 1–16.  
https://doi.org/10.4490/algae.2016.31.3.7
- Zong Y. Implications of *Paralia sulcata* abundance in Scottish isolation basins // Diatom Res. 1997. V. 12. № 1. P. 125–150.  
https://doi.org/10.1080/0269249X.1997.9705407

## Diatoms in Surface Sediments of the Academy Bay of the Sea of Okhotsk

I. B. Tsoy<sup>a</sup> and I. A. Prushkovskaya<sup>a</sup>

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

The study of diatoms in the surface sediments of the Academy Bay (Sea of Okhotsk) revealed a rich diatom flora (187 species and intraspecific taxa), represented mostly by marine and brackish water species. The predominance of benthic-planktonic and benthic species indicates a significant role of microphytobenthos in the Academy Bay. The diatom assemblages distinguished with the use of cluster analysis are homogeneous in their taxonomic composition, but differ in ecological structure, which is mainly determined by water salinity. The concentration of diatoms in the sediments in the open part of the Academy Bay and in the apex of the Ulban Bay depends on a high productivity of waters and the lithological composition of sediments. A relatively low content of diatoms in the sediments is associated with the severe climatic conditions of the region that is close to the Arctic.

**Keywords:** diatoms, surface sediments, microphytobenthos, Academy Bay, Shantar Region

УДК 597.541-14-021.272[262.5+262.54]

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЗОВСКОГО (*ENGRAULIS ENCRASICOLUS MAEOTICUS* PUSANOV, 1926) И ЧЕРНОМОРСКОГО (*E. ENCRASICOLUS PONTICUS* ALEXANDROV, 1927) АНЧОУСОВ ПО ФОРМЕ ТЕЛА

© 2023 г. М. В. Чесалин<sup>1</sup>, \*, В. Н. Никольский<sup>1</sup>

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

\*e-mail: chesalin.mikhail@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.08.2022 г.

После доработки 18.10.2022 г.

Принята к публикации 24.11.2022 г.

Выполнен сравнительный анализ по форме тела 841 анчоуса из 21 улова в Азовском море, Керченском проливе и в Черном море у побережья Крыма и северо-восточного побережья Кавказа в 2006–2007 и 2016–2017 гг. В качестве признаков были выбраны 23 измерения между 12 гомологичными точкам тела каждой особи по схеме “Truss Network System”. Выявлены значимые различия между азовским анчоусом *Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, 1926 и черноморским анчоусом *E. encrasicolus ponticus* Alexandrov, 1927 по 15 признакам. Особи азовского подвида имели большие относительные размеры по всем признакам головного отдела, высоте туловищного отдела, относительной длине оснований спинного и анального плавников, высоте основания хвостового плавника. У особей черноморского подвида оказались больше постдорсальная длина и расстояние от конца основания спинного плавника до конца основания анального. На основании многомерного анализа методом главных компонент установлено, что наибольшую изменчивость проявляют признаки, характеризующие высоту тела, которая зависит от упитанности рыб и демонстрирует сезонную динамику. Вторая группа объединяет признаки, которые не имеют сезонной составляющей (размеры головного отдела, длины оснований спинного и анального плавников, постдорсальное расстояние) и могут быть использованы для различения формы азовского и черноморского анчоусов. Успешность классификации азовского и черноморского анчоусов по признакам формы тела методом дискриминантного анализа составила 83.4%.

**Ключевые слова:** азовский анчоус *Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, 1926, черноморский анчоус *E. encrasicolus ponticus* Alexandrov, 1927, морфометрия, форма тела, многомерный анализ, Азовское море, Черное море

DOI: 10.31857/S0134347523020043, EDN: DVFNOQ

Европейский анчоус *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) распространен в восточной части Атлантического океана от берегов Норвегии до Южной Африки, а также в бассейне Средиземного моря, включая Черное и Азовское (Whitehead et al., 1988). В настоящее время Генеральная комиссия по рыболовству в Средиземном море (GFCM) и Научно-технический и экономический комитет по рыболовству (STECF) выделяют две промысловые популяции европейского анчоуса в Восточной Атлантике, пять популяций в Средиземном море и два подвида в Черном море (GFCM, 2014; STECF, 2015). Эти популяции и подвиды рассматриваются как отдельные единицы запасов, и к ним применяются разные методы оценки величины биомассы и регулирования промысла.

В Азово-Черноморском бассейне европейский анчоус представлен двумя подвидами: азовским (*Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, 1926) и черноморским (*E. encrasicolus ponticus* Alexandrov, 1927). В настоящее время азовский анчоус добывается почти исключительно Российской Федерацией во время осенней миграции через Керченский пролив и на местах зимовки у побережья Северного Кавказа и Крыма. Азовский анчоус — это основной биоресурс российского промысла в Азово-Черноморском бассейне, составляющий около половины рыбных уловов. В отдельные годы его уловы достигали почти 50 тыс. тонн (Шляхов и др., 2018). Черноморский анчоус является основной промысловой рыбой в Черном море (около 85% от общих уловов всех черноморских рыб) и добывается всеми причерноморскими

странами, но в основном Турцией (в среднем более 220 тыс. т). Российской Федерацией в 2014–2020 гг. у побережья Крыма было добыто от 0.3 до 5.7 тыс. тонн черноморского анчоуса. Согласно современным правилам российского рыболовства (Шляхов и др., 2018), анчоусов из уловов западнее мыса Сарыч относят к черноморскому подвиду, а восточнее — к азовскому подвиду. В связи с таким формальным подходом существует проблема достоверности статистики уловов и оценки запасов, которые необходимы для установления лимитов вылова и рациональной организации промысла. Следовательно, разработка методов для идентификации азовского и черноморского анчоусов в уловах имеет важное практическое значение.

Азовский и черноморский анчоусы могут образовывать смешанные зимовальные скопления у побережья Кавказа, а также у берегов Крыма (Майорова, 1950; Зуев и др., 2007; Chashchin, 1996). Известны находки азовского анчоуса в западной части Черного моря у берегов Болгарии (Chashchin, 1996). Недавние исследования показали, что часть популяции азовского анчоуса может весной не возвращаться в Азовское море, а перемещаться вдоль южного побережья Кавказа в воды Турции (Düzgüneş et al., 2018). Более того, выйдя осенью из Керченского пролива, азовский анчоус может пересекать Черное море по периферии восточного циклонического круговорота, следуя к берегам Турции в район Синопа (Guraslan et al., 2017). С другой стороны, черноморский анчоус может заходить также и в Азовское море (Данилевский, 1960).

Специалисты из разных стран использовали разнообразные подходы для идентификации азовского и черноморского анчоусов. В результате традиционных морфологических исследований показаны некоторые отличия между двумя подвидами по ряду пластических и меристических признаков (Пузанов, Цееб, 1926; Александров, 1927; Шевченко, 1980). Показаны отличия между азовской и черноморской хамсой по форме отолитов (Сказкина, 1965; Водясова, Солдатов, 2017). Найдены различия в интенсивности зараженности этих подвидов паразитическими нематодами (Терехов, 1979; Чашин, 1981). Ю.П. Алтухов с соавторами (Алтухов и др., 1969) обнаружили две группы крови у черноморского и три группы крови у азовского анчоусов. Выявлены отличия этих анчоусов по ряду биохимических показателей (Доброволов, 1978; Калнин, Калнина, 1984а, 1984б; Ivanova, Dobrovolo, 2006), а также по жирности и жирнокислотному составу липидов (Юнева и др., 2014). Недавние генетические исследования показали высокую степень обмена генами между азовским и черноморским анчоусами и отсутствие у них различий подвидового ранга (Водясова, Абрамсон, 2017; Düzgüneş et al., 2018). Однако су-

ществует и противоположная точка зрения, согласно которой азовский анчоус относится к прибрежному экотипу и должен рассматриваться как отдельный вид *E. maeoticus* (Pusanov & Tzeeb, 1926) (Bonhomme et al., 2022). К сожалению, большинство методов определения трудоемки и неприменимы для оперативной идентификации этих подвидов в уловах. Простой метод различения азовского и черноморского анчоусов по соотношению длины и ширины их отолитов (Сказкина, 1965) не нашел широкого применения, за исключением работ Г.В. Зуева с соавторами (2007, 2011, 2014).

В качестве альтернативы традиционной морфометрии была предложена система измерений формы тела рыб между гомологичными точками (“landmarks”) по схеме, подобной расположению ферм железнодорожного моста (“Truss Network System”) (Strauss, Bookstein, 1982; Bookstein, 1991; Rohlf, Marcus, 1993). Эта система чувствительна к изменчивости формы тела рыб и совместно с методами многомерного анализа данных представляет собой мощный инструмент для дифференциации запасов рыб (Cadrian et al., 2014). Такой подход применяли при изучении структуры запасов европейского анчоуса Восточной Атлантики, Средиземноморских морей и Черного моря (Bembo et al., 1996; Caneco et al., 2004; Turan et al., 2004; Kristoffersen, Magoulas, 2008; Erdoğan et al., 2009).

В данном исследовании мы поставили задачу провести сравнение изменчивости формы тела азовского и черноморского анчоусов с помощью многомерных методов анализа данных на основе схемы измерений по “Truss Network System” и оценить возможность применения этого подхода для дифференциации подвидов анчоуса в российских водах Черного моря.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Морфометрические измерения выполнены на 841 экз. анчоусов, отобранных из 10 уловов в 2006–2007 гг. и 11 уловов в 2016–2017 гг. (табл. 1, рис. 1). Нумерация проб включает обозначение района сбора: А — Азовское море и Керченский пролив; В — у западного и южного побережья Крыма; С — у Северного Кавказа. В соответствии с особенностями географического распределения и миграционного поведения анчоусов, а также на основе информации о ходе промысла, предполагалось, что уловы у южного и юго-западного побережья Крыма представлены черноморским подвидом, а из Азовского моря, Керченского пролива и у Кавказского побережья — азовским.

Из каждого улова отбирали выборку по 40 экз. После проведения комплекса промеров все рыбы подвергались стандартному биологическому анализу, включая определение пола по гонадам и возраста по отолитам. Морфометрические изме-

**Таблица 1.** Информация о пробах анчоуса для морфометрического анализа

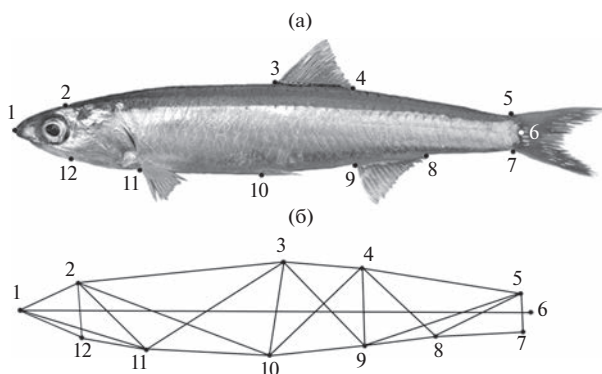
| Код пробы | Дата поимки | Район                          | Число рыб | Длина рыб,* мм | Предполагаемый подвид анчоуса |
|-----------|-------------|--------------------------------|-----------|----------------|-------------------------------|
| A1        | 15.08.2006  | Азовское море (Молочный лиман) | 40        | 85 (70–110)    | Азовский                      |
| A2        | 15.10.2006  | Азовское море (Молочный лиман) | 33        | 93 (64–115)    | Азовский                      |
| A3        | 12.11.2006  | Керченский пролив              | 40        | 103 (90–117)   | Азовский                      |
| A4        | 19.11.2006  | Керченский пролив              | 40        | 95 (87–108)    | Азовский                      |
| B1        | 01.12.2006  | Крым (мыс Лукулл)              | 40        | 97 (91–113)    | Черноморский                  |
| B2        | 05.12.2006  | Крым (мыс Лукулл)              | 40        | 107 (85–132)   | Черноморский                  |
| B3        | 07.11.2006  | Крым (Симеиз)                  | 40        | 104 (87–115)   | Черноморский                  |
| B4        | 15.12.2006  | Крым (Форос)                   | 40        | 102 (92–115)   | Черноморский                  |
| B5        | 27.11.2006  | Крым (мыс Айя)                 | 40        | 101 (88–111)   | Черноморский                  |
| A5        | 10.04.2007  | Керченский пролив              | 40        | 96 (85–106)    | Азовский                      |
| A6        | 25.10.2016  | Азовское море (пос. Золотое)   | 40        | 96 (85–106)    | Азовский                      |
| A7        | 24.11.2016  | Азовское море (пос. Золотое)   | 40        | 93 (84–104)    | Азовский                      |
| C1        | 18.12.2016  | Анапа–Туапсе                   | 40        | 96 (83–110)    | Азовский                      |
| C2        | 20.01.2017  | Анапа–Туапсе                   | 43        | 97 (87–111)    | Азовский                      |
| C3        | 28.01.2017  | Анапа–Туапсе                   | 40        | 98 (87–112)    | Азовский                      |
| C4        | 29.01.2017  | Анапа–Туапсе                   | 40        | 98 (90–111)    | Азовский                      |
| C5        | 02.02.2017  | Анапа–Туапсе                   | 40        | 99 (89–110)    | Азовский                      |
| C6        | 18.02.2017  | Анапа–Туапсе                   | 40        | 98 (88–108)    | Азовский                      |
| C7        | 03.03.2017  | Анапа–Туапсе                   | 40        | 96 (88–104)    | Азовский                      |
| C8        | 13.03.2017  | Анапа–Туапсе                   | 40        | 95 (87–103)    | Азовский                      |
| B6        | 08.05.2017  | Крым (мыс Лукулл)              | 45        | 88 (54–115)    | Черноморский                  |

Примечание. \* Средняя, минимальная и максимальная (в скобках) стандартная длина рыб (SL).

рения выполняли следующим образом. Рыбу укладывали правой стороной тела на плотную прозрачную пленку (ацетатный лист, под который был подложен белый лист бумаги А4 с раз-

меткой), выравнивали вдоль горизонтальной линии, расправляли ее плавники, а затем обкалывали вокруг тела с помощью препаровальной иглы по 12 характерным меткам (рис. 2а). Метки рас-

**Рис. 1.** Карта расположения мест отбора проб для морфометрического анализа азовского и черноморского анчоусов.



**Рис. 2.** Расположение характерных морфологических меток (точек) вокруг тела рыбы (а) и схема измеряемых расстояний между метками (каркасная решетка), использованная при морфометрическом анализе анчоусов (б).

полагали так же, как в подобных работах по европейскому анчоусу (Caneco et al., 2004; Turan et al., 2004; Erdoğan et al., 2009). Далее с помощью планшетного сканера получали цифровое изображение листа с морфологическими метками. Двумерные координаты меток тела каждой рыбы оцифровывали с помощью свободно распространяемой программы обработки изображений ImageJ. В качестве признаков, характеризующих форму тела рыб, использовали 23 расстояния между выбранными метками, которые образуют каркас по схеме, представленной на рис. 2б. Описание измерений приведено в табл. 2. Расстояния по полученным координатам рассчитывали с помощью разработанного нами макроса в программе Excel.

Для сравнительного анализа сначала традиционно использовали относительные значения признаков в процентах от стандартной длины рыбы (расстояние 1–6). Для многомерного анализа все измерения были трансформированы по формуле аллометрического преобразования относительно средней длины рыб (Elliott et al., 1995):

$$M_i = M_o(L_m/L_o)^b, \quad (1)$$

где  $M_i$  – трансформированная длина части тела,  $M_o$  – оригинальное измерение длины,  $L_o$  – стандартная длина рыбы,  $L_m$  – средняя стандартная длина всех измеренных рыб во всех пробах,  $b$  – коэффициент наклона зависимости логарифма длины от длины рыбы. Преобразование данных проводили в программе PAST ver. 4.03 (Hammer et al., 2001) с помощью процедуры “Remove size from distances”. Эффективность преобразования оценивали по отсутствию значимой корреляции между трансформированными переменными и длиной рыб.

Статистический анализ данных выполняли также с помощью программы PAST. Проверку со-

ответствия признаков нормальному распределению осуществляли по критерию Шапиро–Уилка. Анализовали отличия средних значений по каждому признаку в отдельности в случае соответствия выборок нормальному распределению по критерию Стьюдента, в противном случае, ориентировались на значения непараметрического критерия – перестановочного теста Монте-Карло. Нулевая гипотеза принималась при уровне значимости  $\alpha > 0.05$  и отвергалась при  $\alpha < 0.01$ . Анализ общей изменчивости формы тела рыб проводили с помощью метода главных компонент (Principal Component Analysis – PCA) по ковариационной матрице размерно-корректированных признаков всех рыб без учета подвиговой принадлежности. Для визуализации отношений между отдельными индивидами и выборками рыб были построены графики рассеяния с локализацией центроидов выборок в проекции на плоскость первых двух главных компонент. Для оценки возможности классификации азовского и черноморского анчоусов по форме тела использовали линейный дискриминантный анализ (Linear Discriminant Analysis – LDA), априорно задав принадлежность рыб к определенному подвиду согласно табл. 1. Успешность классификации оценивали по той же выборке, по которой вычисляли дискриминантную функцию, поэтому применяли метод “складного ножа” (jackknife), как один из методов перекрестной проверки и генерации повторных выборок, используемый для оценки погрешности в статистическом выводе.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Относительные размеры тела*

Стандартная длина тела исследованных анчоусов значительно варьировала (54–132 мм), составив в среднем  $95.9 \pm 0.6$  мм для азовского анчоуса и  $99.7 \pm 1.4$  мм для черноморского. Для сравнительного анализа были рассчитаны относительные размеры для 23 морфометрических признаков в процентах от стандартной длины тела. Однофакторный дисперсионный анализ не выявил ( $P > 0.05$ ) статистически значимых различий между самками и самцами по каждому измеряемому морфометрическому признаку, поэтому в дальнейшем анализ выполняли на смешанном по полу материале. Выборки азовского и черноморского анчоусов значимо различались по большинству (15 из 23) признаков (табл. 3). Особи азовского подвида имели большие относительные размеры по всем признакам головного отдела, по высоте туловищного отдела (2–10, 3–9, 3–10 и 4–10), по относительной длине оснований спинного (3–4) и анального (8–9) плавников, а также по высоте основания хвостового плавника (5–7). У особей черноморского подвида оказалась больше постдорсальная длина (4–5) и рас-

**Таблица 2.** Измеряемые расстояния между метками, используемые для характеристики формы тела рыбы

| Расстояние | Описание                                                                                                                                |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1–6        | От конца рыла до конца позвоночного столба (стандартная длина, <i>SL</i> )                                                              |
| 1–2        | От конца рыла до конца основания черепа                                                                                                 |
| 1–11       | От конца рыла до начала основания грудного плавника                                                                                     |
| 1–12       | От конца рыла до конца нижней челюсти (длина нижней челюсти)                                                                            |
| 2–3        | От конца основания черепа до начала основания спинного плавника                                                                         |
| 2–10       | От конца основания черепа до конца основания брюшного плавника                                                                          |
| 2–11       | От конца основания черепа до начала основания грудного плавника                                                                         |
| 2–12       | От конца основания черепа до конца нижней челюсти                                                                                       |
| 3–4        | Длина основания спинного плавника                                                                                                       |
| 3–9        | От начала основания спинного плавника до начала основания анального плавника                                                            |
| 3–10       | От начала основания спинного плавника до конца основания брюшного плавника                                                              |
| 3–11       | От начала основания спинного плавника до начала основания грудного плавника                                                             |
| 4–5        | От конца основания спинного плавника до начала хвостового плавника (постдорсальная длина)                                               |
| 4–8        | От конца основания спинного плавника до конца основания анального плавника                                                              |
| 4–9        | От конца основания спинного плавника до начала основания анального плавника                                                             |
| 4–10       | От конца основания спинного плавника до конца основания брюшного плавника                                                               |
| 5–7        | От начала хвостового плавника со спинной стороны до начала хвостового плавника с брюшной стороны (высота основания хвостового плавника) |
| 5–8        | От начала хвостового плавника с дорсальной стороны до конца основания анального плавника                                                |
| 5–9        | От начала хвостового плавника с дорсальной стороны до начала основания анального плавника                                               |
| 7–8        | От начала хвостового плавника с брюшной стороны до конца анального плавника (длина хвостового стебля)                                   |
| 8–9        | Длина основания анального плавника                                                                                                      |
| 9–10       | От начала анального плавника до конца основания брюшного плавника                                                                       |
| 10–11      | От конца основания брюшного плавника до начала основания грудного плавника                                                              |
| 11–12      | От начала грудного плавника до конца нижней челюсти                                                                                     |

стояние от конца основания спинного до конца основания анального (4–8) плавников. Следует отметить, что большинство (13 из 23) рассматриваемых признаков характеризуются достоверной отрицательной аллометрией (т.е. по мере увеличения длины рыб относительное значение признака снижается), по шести признакам, наоборот, установлена положительная аллометрия, и только по четырем признакам значимых отклонений от изометрического роста не выявлено. В связи с этим найденные различия между выборками могут быть связаны не только с различиями в пропорциях тела, но и с разницей в размерах рыб.

#### *Общая изменчивость формы тела*

Средняя стандартная длина тела анчоусов по всем пробам составила 97 мм, и для дальнейшего сравнительного анализа все измерения были приведены к этой “эталонной” длине по формуле (1).

После аллометрического преобразования значимость различий азовского и черноморского подвидов по отдельным признакам сохраняется, за исключением признака 8–9 (табл. 4). Преобразованные признаки не коррелируют с длиной рыб, их распределения становятся симметричными и приближаются к нормальному по коэффициенту асимметрии ( $P > 0.4$ ), однако большинство признаков не соответствует строго нормальному распределению по эксцессу, так как имеет более острую вершину. При применении многомерных методов ординации, таких как анализ главных компонент, требование нормальности исходных переменных не обязательно, но оно является основной предпосылкой для применения линейного дискриминантного анализа (Афифи, Эйзен, 1982). На графике, построенном по результатам анализа главных компонент, каждая рыба представлена точкой на плоскости двух первых главных компонент (рис. 3а). Облака точек азовского и черноморского подвидов значительно перекры-

Таблица 3. Одномерная статистика отдельных признаков формы тела анчоусов

| Отдел тела | Измеряемое расстояние | Аллометрия | Пределы варьирования (%) |           | Средние значения (%) |             | P*              |
|------------|-----------------------|------------|--------------------------|-----------|----------------------|-------------|-----------------|
|            |                       |            | А                        | В         | А                    | В           |                 |
| Головной   | 1–2                   | —          | 14.2–21.7                | 12.5–20.0 | <b>17.3</b>          | 15.9        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 1–11                  | —          | 23.4–31.1                | 22.4–30.5 | <b>28.0</b>          | 27.0        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 1–12                  | —          | 7.6–12.7                 | 7.1–12.2  | <b>9.9</b>           | 9.5         | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 2–11                  | нет        | 14.6–23.9                | 15.9–21.0 | <b>19.1</b>          | 18.3        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 2–12                  | —          | 9.3–19.7                 | 9.8–17.0  | <b>14.9</b>          | 13.4        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 11–12                 | —          | 14.6–21.7                | 14.9–21.7 | <b>18.9</b>          | 18.2        | <b>&lt;0.01</b> |
| Туловищный | 2–3                   | +          | 28.8–39.9                | 29.5–41.3 | 34.1                 | 34.3        | 0.09            |
|            | 2–10                  | +          | 28.8–40.0                | 26.8–38.4 | <b>35.1</b>          | 34.4        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 9–10                  | +          | 15.0–26.1                | 16.2–24.7 | 21.2                 | 21.3        | 0.34            |
|            | 10–11                 | +          | 16.7–25.3                | 17.3–26.7 | 20.5                 | 20.6        | 0.60            |
|            | 3–9                   | —          | 18.5–28.8                | 19.8–27.2 | <b>24.0</b>          | 23.5        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 3–10                  | —          | 11.6–22.8                | 10.9–19.8 | <b>17.2</b>          | 16.4        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 3–11                  | нет        | 23.7–33.9                | 23.6–32.6 | 28.5                 | 28.4        | 0.21            |
|            | 4–8                   | нет        | 18.9–28.7                | 19.4–28.6 | 24.1                 | <b>24.5</b> | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 4–9                   | —          | 11.8–19.9                | 10.5–19.2 | 15.5                 | 15.6        | 0.22            |
|            | 4–10                  | —          | 17.5–27.7                | 16.0–26.7 | <b>21.8</b>          | 21.1        | <b>&lt;0.01</b> |
| Хвостовой  | 4–5                   | +          | 32.0–40.1                | 32.7–41.7 | 36.3                 | <b>37.1</b> | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 5–7                   | —          | 5.6–10.0                 | 5.4–9.1   | <b>7.9</b>           | 7.2         | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 5–8                   | нет        | 13.7–22.8                | 14.0–22.5 | 17.6                 | 17.7        | 0.17            |
|            | 5–9                   | —          | 27.8–36.1                | 27.1–37.3 | 32.0                 | 31.8        | 0.08            |
|            | 7–8                   | +          | 10.5–21.6                | 10.6–20.7 | 15.0                 | 15.3        | 0.03            |
| Плавники   | 3–4                   | —          | 8.7–15.4                 | 8.3–15.4  | <b>12.5</b>          | 11.5        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 8–9                   | —          | 10.5–18.9                | 10.8–19.8 | <b>15.0</b>          | 14.7        | <b>&lt;0.01</b> |

Примечание. \* Значимые различия ( $P < 0.01$ ) выделены полужирным шрифтом. Условные обозначения: “+” — статистически значимая положительная аллометрия, “—” — статистически значимая отрицательная аллометрия, А — азовский подвид, В — черноморский подвид, P — уровень значимости различий.

ваются, при этом полигон точек азовского подвида гораздо обширнее и практически покрывает полигон черноморского подвида. Но центры выборок азовского и черноморского анчоусов расположены в противоположных квадрантах и различия между ними статистически значимы: в меньшей степени по первой главной компоненте ( $P = 0.003$ ) и в большей степени — по второй ( $P < 0.001$ ).

Наибольший вклад в первую главную компоненту ГК1, объясняющую 18.5% общей изменчивости, вносят признаки, связанные с высотой тела: 3–9, 3–10, 3–11, 4–9, 4–10 (рис. 3б). Это расстояния, измеряемые от точек 9, 10, 11, расположенных на брюшной части тела. Характерно, что эти признаки положительно коррелируют с коэффициентом упитанности рыб ( $r = 0.3–0.4$ ,  $P < 0.001$ ) в отличие от других признаков, корреляция которых с упитанностью рыб мала, либо отсутствует (табл. 4). Поскольку упитанность рыб имеет ярко выраженный сезонный характер, изменчивость

формы рыб в направлении первой главной компоненты имеет сезонную составляющую, что отчетливо прослеживается в последовательном смещении центров выборок азовского анчоуса, объединенных по месяцам, от октября к маю вдоль первой главной компоненты в сторону уменьшения (рис. 3в). Вторая главная компонента ГК2, объясняющая 15.3% общей изменчивости, объединяет признаки, связанные с размерами головного отдела (1–2, 1–11, 2–12, 11–12), длинами оснований спинного (3–4) и анального (8–9) плавников — с положительным знаком, а также связанные с размерами хвостового отдела (4–5, 5–8, 7–8) — с отрицательным знаком. Эти признаки не коррелируют с упитанностью рыб и могут рассматриваться как потенциальные для различения формы азовского и черноморского анчоусов.

На рис. 3г показано относительное положение центров исследованных проб в проекции на ту же плоскость первых двух главных компонент,

**Таблица 4.** Одномерная статистика признаков формы тела анчоусов после аллометрического преобразования (приведения к средней длине 97 мм)

| Отдел тела | Измеряемое расстояние | Корреляция с $K_u$ | Среднее значение и 95% предел варьирования признака (мм) |                   | $P^*$           |
|------------|-----------------------|--------------------|----------------------------------------------------------|-------------------|-----------------|
|            |                       |                    | А                                                        | В                 |                 |
| Головной   | 1–2                   | <b>–0.19</b>       | <b>16.7 ± 2.3</b>                                        | 15.5 ± 2.1        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 1–11                  | –0.16              | <b>27.1 ± 2.1</b>                                        | 26.3 ± 2.8        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 1–12                  | –0.06              | <b>9.6 ± 1.5</b>                                         | 9.3 ± 1.8         | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 2–11                  | <b>0.18</b>        | <b>18.5 ± 2.2</b>                                        | 17.7 ± 2.1        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 2–12                  | –0.09              | <b>14.3 ± 2.4</b>                                        | 13.1 ± 2.2        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 11–12                 | –0.15              | <b>18.3 ± 2.0</b>                                        | 17.7 ± 2.1        | <b>&lt;0.01</b> |
| Туловищный | 2–3                   | 0.10               | 33.2 ± 2.9                                               | 33.2 ± 3.0        | 0.96            |
|            | 2–10                  | <b>0.23</b>        | <b>34.1 ± 3.0</b>                                        | 33.4 ± 3.3        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 9–10                  | <b>0.18</b>        | 20.6 ± 2.7                                               | 20.6 ± 2.8        | 0.86            |
|            | 10–11                 | 0.13               | 19.9 ± 2.4                                               | 19.9 ± 2.5        | 0.69            |
|            | 3–9                   | <b>0.43</b>        | <b>23.3 ± 2.6</b>                                        | 22.9 ± 2.6        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 3–10                  | <b>0.41</b>        | <b>16.6 ± 3.0</b>                                        | 16.0 ± 2.7        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 3–11                  | <b>0.29</b>        | 27.7 ± 2.6                                               | 27.5 ± 3.1        | 0.12            |
|            | 4–8                   | 0.15               | 23.3 ± 2.8                                               | <b>23.8 ± 3.2</b> | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 4–9                   | <b>0.39</b>        | 15.0 ± 2.7                                               | 15.1 ± 2.6        | 0.12            |
|            | 4–10                  | <b>0.34</b>        | <b>21.1 ± 2.9</b>                                        | 20.5 ± 3.2        | <b>&lt;0.01</b> |
| Хвостовой  | 4–5                   | 0.01               | 35.2 ± 2.5                                               | <b>36.0 ± 3.3</b> | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 5–7                   | 0.13               | <b>7.6 ± 1.0</b>                                         | 7.1 ± 1.2         | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 5–8                   | 0.06               | 17.1 ± 2.6                                               | 17.2 ± 2.7        | 0.16            |
|            | 5–9                   | –0.03              | 30.9 ± 2.4                                               | 26.6 ± 3.0        | 0.58            |
|            | 7–8                   | 0.05               | 14.6 ± 2.9                                               | 14.8 ± 3.1        | 0.08            |
| Плавники   | 3–4                   | 0.14               | <b>12.1 ± 1.9</b>                                        | 11.3 ± 2.2        | <b>&lt;0.01</b> |
|            | 8–9                   | –0.09              | 14.5 ± 2.5                                               | 14.3 ± 2.8        | 0.023           |

Примечание. \* Значимые различия ( $P < 0.01$ ) выделены полужирным шрифтом. Условные обозначения:  $K_u$  – коэффициент упитанности рыб, А – азовский подвида, В – черноморский подвида,  $P$  – уровень значимости различий.

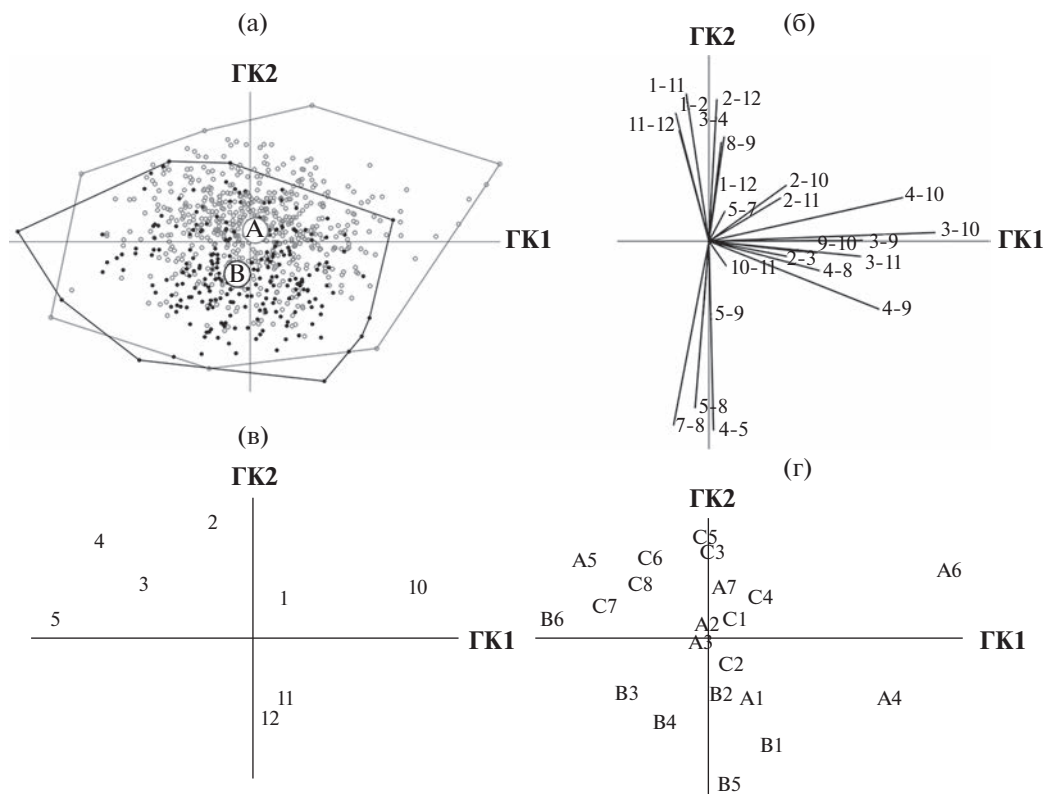
из которого следует, что пробы черноморского анчоуса (за исключением В6) расположены в нижней части графика, а пробы азовского подвида (за исключением А1, А4 и С2) занимают верхнюю половину. В горизонтальном направлении крайне правое положение занимают пробы А6 и А4, собранные по завершению нагульного периода в октябре и ноябре, а крайне левое положение – С7, А5 и В6, собранные после зимовки с марта по май.

Результаты линейного дискриминантного анализа показывают, что наибольший вклад в дискриминирующую функцию вносят признаки, связанные с размерами головы (1–2, 1–11, 2–12, 11–12), длина основания спинного плавника (3–4) и постдорсальное расстояние (4–5) (рис. 4). На результирующей гистограмме видно, что полигоны частот подвигов широко перекрываются, тем не менее моды их существенно различаются (рис. 5). В целом, успешность отнесения рыб по форме тела к азовскому или черноморскому подвидам (по

методу “складного ножа”) оценивается в 84.3% (табл. 5).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным результатам, азовский анчоус отличается от черноморского подвида большими относительными размерами головного отдела, высотой тела в туловищном отделе и основании хвостового плавника и длинами оснований спинного и анального плавников. Это согласуется с ранее известными данными по морфометрии этих подвигов (Александров, 1927; Павлов, 1980). С другой стороны, постдорсальное расстояние у азовского анчоуса меньше, чем у черноморского, т.е. спинной плавник расположен ближе к хвосту, что отмечалось ранее как отличительный признак для так называемого прибрежного экотипа анчоусов (Bonhomme et al., 2022).



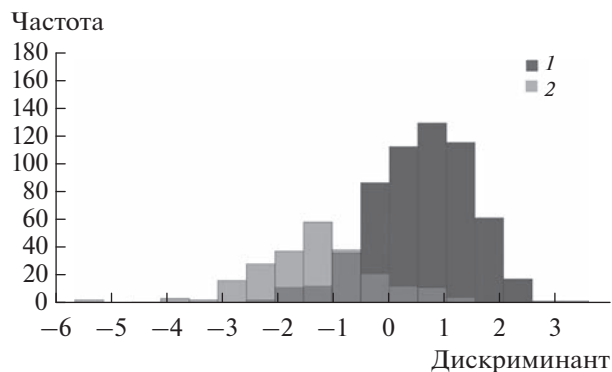
**Рис. 3.** Результаты анализа общей изменчивости формы тела анчоусов по 23 признакам в проекции на плоскость первых двух главных компонент: а — относительное положение отдельных особей (азовский анчоус отмечен кружками, черноморский — точками) и расположение центроидов для азовского (А) и черноморского (В) подвидов; б — векторы нагрузок признаков; в — относительное положение центроидов выборок, объединенных по месяцам с октября 2016 по май 2017 гг.; г — положение центроидов всех исследованных проб.

В целом, схема измерений “Truss network system” предпочтительнее для изучения изменчивости формы тела рыб, чем традиционная морфометрия, так как более полно охватывает тело продольными и поперечными измерениями. К тому же, в силу связанности измерений в сеть, путем

вычислений можно легко выявить любые ошибки измерений или оцифровки данных. Очевидно, что для сравнительного морфометрического анализа нужно отбирать пробы таким образом, чтобы исключить влияние онтогенетических, размерно-возрастных и сезонных различий. Однако



**Рис. 4.** Коэффициенты нагрузки разных признаков на дискриминантную функцию классификации азовского и черноморского анчоусов.



**Рис. 5.** Результат классификации азовского (1) и черноморского (2) анчоусов по 23 признакам формы тела методом линейного дискриминантного анализа.

**Таблица 5.** Матрица классификации анчоусов по 23 признакам формы тела методом линейного дискриминантного анализа

| Подвид анчоуса | Азовский | Черноморский | Всего | Корректность классификации, % |
|----------------|----------|--------------|-------|-------------------------------|
| Азовский       | 506      | 90           | 596   | 84.9                          |
| Черноморский   | 42       | 203          | 245   | 82.9                          |
| Всего          | 548      | 293          | 841   | 84.3                          |

применение многомерных методов анализа данных позволили выделить группы признаков, связанных с сезонной изменчивостью формы тела и не зависящих от нее.

Эффективность применения “Truss Network System” и многомерных методов анализа данных для дифференциации запасов европейского анчоуса по форме тела была показана в ряде работ (Bembo et al., 1996; Caneco et al., 2004; Kristoffersen, Magoulas, 2008), в том числе и для анчоусов Черного моря (Turan et al., 2004; Erdoğan et al., 2009). Выявлены статистически значимые различия в форме тела анчоусов, собранных у черноморского побережья Турции в центральной и юго-восточной части моря, а также в Эгейском море и северо-восточной части Средиземного моря (Turan et al., 2004), показано, что наиболее важными дискриминирующими признаками служат измерения головы и задней части тела рыб. Корректность классификации особей по исследованным районам в общем составила 78%. Комплексный морфометрический и генетический анализ анчоусов из разных районов Черного, Мраморного и Эгейского морей (Erdoğan et al., 2009) показал, что анчоусы из Черного моря (районы Трабзона и Синопа) по форме тела существенно отличались от всех других, но рыбы из района Стамбула были больше похожими на анчоусов из Мраморного моря. Наиболее важными отличительными признаками между пробами стали измерения, связанные с высотой тела и размерами головы. Успешность классификации с помощью дискриминантного анализа в целом составила 77%.

В нашем исследовании с применением метода главных компонент показано, что общая изменчивость формы тела анчоусов в основном обусловлена двумя группами признаков, связанными, во-первых, с высотой тела и, во-вторых, с размерами головы, спинного и анального плавников, а также с размерами хвостового отдела. Наибольшую изменчивость в направлении первой главной компоненты проявляют признаки, характеризующие высоту тела в туловищном отделе, они коррелируют с упитанностью рыб и подвержены сезонной изменчивости. Известно, что в период зимовки анчоус использует накопленные летом жировые запасы, содержание жира и масса тела

рыб от осени до весны закономерно уменьшаются (Шульман, 1972), они “худеют”, что и проявляется в изменении формы тела. Вторая группа признаков не имеет сезонной составляющей и представляет интерес для различения азовского и черноморского анчоусов. По результатам дискриминантного анализа, признаки, связанные с размерами головы, а также длина основания спинного плавника и постдорсальное расстояние оказались ведущими для классификации двух подвидов. Существенные различия в относительной длине головы и пропорциях частей головы, а также различия в антедорсальном расстоянии, как одни из основных признаков для различения азовского и черноморского анчоусов отмечал еще А.И. Александров (1927). Причины этих различий связаны с эволюционными и экологическими особенностями двух подвидов. Согласно А.И. Александрову, азовский анчоус, имеющий спинной плавник, расположенный дальше от головы, ближе к прародительской форме, чем более эволюционно молодая черноморская форма. С другой стороны, более прогонистое тело и более длинный задний отдел у черноморского анчоуса можно объяснить его адаптацией к протяженным зимовальным миграциям из северо-западной части Черного моря в его юго-восточную часть, тогда как азовский анчоус совершает относительно небольшие миграции на зимовку из Азовского моря к северному побережью Кавказа и берегам Крыма.

Результаты нашей работы показали эффективность применения методов многомерного анализа к данным измерений формы тела для дифференциации запасов азово-черноморских анчоусов. Методом анализа главных компонент в исследованном районе объективно выявляются две группы выборок, что соответствует имеющимся представлениям о распространении азовского и черноморского анчоусов. Выделена группа характерных признаков, которые могут быть использованы для идентификации анчоусов. По результатам дискриминантного анализа успешность отнесения рыб по форме тела к азовскому или черноморскому подвиду может превышать 84%, что соответствует уровню, полученному в аналогичных исследованиях европейского анчоуса, описанных выше. Однако для целей оперативной идентификации азовского и черноморского

анчоусов, особенно в полевых условиях, такой подход вряд ли применим в силу значительных затрат времени и трудоемкости. Для этой цели предпочтительнее использовать форму отолитов рыб (более консервативных, чем форма тела, структур) для анализа которых уже разработаны эффективные методы и прикладные компьютерные программы.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Государственного задания по теме “Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом”, № госрегистрации 121041400077-1.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александров А.И. Анчоусы Азовско-Черноморского бассейна, их происхождение и таксономическое обозначение // Тр. Керчен. научно-рыбохоз. ст. 1927. Т. 1. Вып. 2–3. С. 37–99.
- Алтухов Ю.П., Лиманский В.В., Паюсова А.Н., Трувелер К.А. Иммуногенетический анализ внутривидовой дифференциации европейского анчоуса, обитающего в Черном и Азовском морях. 1. Группы крови анчоуса и возможный механизм генного контроля // Генетика. 1969. Т. 5. № 4. С. 50–64.
- Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ. Подход с использованием ЭВМ. М.: Мир. 1982. 488 с.
- Водясова Е.А., Абрамсон Н.И. Генетическая изменчивость анчоуса в Азово-Черноморском бассейне // Генетика. 2017. Т. 53. № 6. С. 696–704.
- Водясова Е.А., Солдатов А.А. Идентификация подвидов европейского анчоуса *Engraulis encrasicolus* (Engraulidae) в зимовальных скоплениях на основе морфологических параметров отолита // Вопр. ихтиологии. 2017. Т. 57. № 4. С. 1–8.
- Данилевский Н.Н. О проникновении черноморской хамсы в Азовское море и сопутствующих условий среды // Тр. АзчерНИРО. 1960. Вып. 18. С. 118–130.
- Доброволов И. Полиморфизм мышечных протеинов хамсы *Engraulis encrasicolus* (L.) Азово-Черноморского бассейна и Атлантического океана // Вопр. ихтиологии. 1978. Т. 18. Вып. 3. С. 534–540.
- Зуев Г.В., Гуцал Д.К., Мельникова Е.Б., Бондарев В.А. К вопросу о внутривидовой неоднородности зимующей у побережья Крыма хамсы // Рыбн. хоз-во Украины. 2007. № 6. С. 2–9.
- Зуев Г.В., Гуцал Д.К., Горалевич К.Г. и др. Внутривидовая морфо-экологическая и биологическая изменчивость азово-черноморской хамсы *Engraulis encrasicolus* (Pisces: Engraulidae), зимующей у побережья Крыма // Мор. экол. журн. 2011. Т. 10. № 1. С. 5–18.
- Зуев Г.В., Бондарев В.А., Мурзин Ю.Л., Самотой Ю.В. Многолетняя и годовая изменчивость внутривидовой и биологической структуры хамсы *Engraulis encrasicolus* (L.) (Pisces: Engraulidae), зимующей у восточного побережья Крыма // Мор. экол. журн. 2014. Т. 8. № 2. С. 31–40.
- Калнин В.В., Калнина О.В. Генетическая дифференциация и репродуктивные взаимоотношения азовской и черноморской рас европейского анчоуса. Сообщение. 1. Биохимический полиморфизм // Генетика. 1984а. Т. 20. № 2. С. 303–308.
- Калнина О.В., Калнин В.В. Генетическая дифференциация и репродуктивные взаимоотношения азовской и черноморской рас европейского анчоуса. Сообщение 2. Генетические отличия и внутренняя гетерогенность азовской и черноморской рас анчоуса // Генетика. 1984б. Т. 20. № 2. С. 309–313.
- Майорова А.А. Распределение и промысел черноморской хамсы (предварительное сообщение) // Тр. АзчерНИРО. 1950. Вып. 14. С. 11–34.
- Павлов П.И. Фауна Украины. Т. 8. Рыбы. Вып. 1. Киев: Наукова думка. 1980. 352 с.
- Пузанов И.И., Цееб Я.Я. О расах анчоуса, водящихся в Черном и Азовском морях // Тр. Крымск. научно-исслед. ин-та. 1926. Т. 1. С. 86–95.
- Сказкина Е.П. Различия азовской и черноморской хамсы (*Engraulis encrasicolus maeoticus* Puzanov, *Engraulis encrasicolus ponticus* Alex.) по отолитам // Вопр. ихтиологии. 1965. Т. 5. Вып. 3. С. 600–605.
- Терехов П.А. О контрацектозе азовской хамсы *Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov // Вопр. ихтиологии. 1979. Т. 19. С. 759–761.
- Чащин А.К. Нематодное заражение черноморского анчоуса // Экспресс-информация ЦНИИТЕИРХ. 1981. Вып. 3. С. 7–11.
- Шевченко Н.Ф. Географическая изменчивость анчоуса в морях средиземноморского бассейна // Вопр. ихтиологии. 1980. Т. 20. Вып. 1. С. 20–31.
- Шляхов В.А., Шляхова О.В., Надолинский В.П., Перевалов О.А. Промыслово-биологические показатели рыболовства для важнейших распределенных запасов водных биоресурсов Черного моря как основа их регионального оценивания // Водн. биоресурсы и среда обитания. 2018. Т. 1. № 1. С. 86–103.
- Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. М.: Пищ. пром-сть. 1972. 367 с.
- Юнева Т.В., Забелинский С.А., Никольский В.Н. и др. Идентификация азовской и черноморской хамсы в Черном море у берегов Украины и Турции в промысловый период 2006–2012 гг. на основе содержания в фосфолипидах докозагексаеновой кислоты // Мор. экол. журн. 2014. Т. 13. № 2. С. 82–89.
- Bembo D.G., Carvalho G.R., Cingolani N. et al. Allozymic and morphometric evidence for two stocks of the European anchovy *Engraulis encrasicolus* in Adriatic waters // Mar. Biol. 1996. V. 126. P. 529–538.

- Bonhomme F., Meyer L., Arbiol C. et al. Systematics of European coastal anchovies (genus *Engraulis* Cuvier) // J. Fish Biol. 2022. V. 100. P. 594–600.
- Bookstein F.L. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology. N.Y.: Cambridge Univ. Press. 1991. 435 p.
- Cadrin S.X., Kerr L.A., Mariani S.E. Stock identification methods: applications in fishery science. San Diego: Acad. Press. 2014. 566 p.
- Caneco B., Silva A., Morais A. Morphometric variation among anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) populations from the Bay of Biscay and Iberian waters. ICES Council Meeting. 2004. ICES CM 2004/EE:24.
- Chashchin A. The Black Sea populations of anchovy // Sci. Mar. 1996. V. 60. № 2. P. 219–225.
- Düzgüneş Z.D., Eroğlu O., Firidin Ş., Çakmak E. Genetic diversity for anchovy populations (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Azov, Marmara and Black Sea // Genet. Aqua. Org. 2018. V. 2. P. 53–60.
- Elliott N.G., Haskard K., Koslow J.A. Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia // J. Fish Biol. 1995. V. 46. P. 202–220.
- Erdoğan Z., Turan C., Koc H.T. Morphologic and allozyme analyses of European anchovy (*Engraulis encrasicolus* (L. 1758)) in the Black, Marmara and Aegean Seas // Acta Adriat. 2009. V. 50. № 1. P. 77–90.
- GFCM. Stock assessment form small pelagics – Anchovy 2012–2013. Black Sea Ukrainian waters. Ver. 0.9. GFCM–FAO. 2014. 21 p.
- Guraslan C., Fach B.A., Oguz T. Understanding the impact of environmental variability on anchovy overwintering migration in Black Sea and its implications for the fishing industry // Front. Mar. Sci. 2017. V. 4. № 275. P. 1–24.
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Paleontol. Electron. 2001. V. 4. Suppl. 1. 9 p.
- Ivanova P.P., Dobrovolev I.S. Population-genetic structure on European anchovy (*Engraulis encrasicolus* Linnaeus, 1758) (Osteichthyes: Engraulidae) from Mediterranean Basin and Atlantic Ocean // Acta Adriat. 2006. V. 47. № 1. P. 13–22.
- Kristoffersen J.B., Magoulas A. Population structure of anchovy *Engraulis encrasicolus* L. in the Mediterranean Sea inferred from multiple methods // Fish. Res. 2008. V. 91. P. 187–195.
- Rohlf F.J., Marcus L.F. A revolution in morphometrics // Trends Ecol. Evol. 1993. V. 8. № 4. P. 129–132.
- STECF. Black Sea assessments / Eds M. Cardinale, D. Damalas. Luxembourg: Publ. Office of the European Union. EUR 98095. 2015. 284 p.
- Strauss R.E., Bookstein F. The truss: body form reconstructions in morphometrics // Syst. Zool. 1982. V. 31. P. 113–135.
- Turan C., Ergüden D., Gürlek M. et al. Morphometric structuring of the anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Black, Aegean and Northeastern Mediterranean Seas // Turk. J. Vet. Anim. Sci. 2004. V. 28. № 5. P. 865–871.
- Whitehead P.J.P., Nelson G.J., Wongratana T. FAO species catalogue. V. 7. Clupeoid fishes of the world (Suborder Clupeoidei). An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, shads, anchovies and wolf-herrings. FAO Fish. Synop. № 125. V. 7. Pt. 2. Rome. 1988. P. 305–579.

## Comparative Morphometric Analysis of the Azov Anchovy (*Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, 1926) and the Black Sea Anchovy (*E. encrasicolus ponticus* Alexandrov, 1927) Based on the Body Shape

M. V. Chesalin<sup>a</sup> and V. N. Nikolsky<sup>a</sup>

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

A comparative analysis of body shape was performed on 841 specimens of anchovy collected from 21 catches from the Sea of Azov, the Kerch Strait, and the Black Sea off the Crimea and the northeastern coast of the Caucasus in 2006–2007 and 2016–2017. Twenty-three measurements between 12 homologous landmarks of the body of each specimen according to the “Truss Network System” served as characters for analysis. Fifteen characters showed significant differences between the Azov anchovy *Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, 1926 and the Black Sea anchovy *E. encrasicolus ponticus* Alexandrov, 1927. Specimens of the Azov subspecies had larger relative values for all characters of the head region, the height of the trunk region, the relative length of the bases of the dorsal and anal fins, and the height of the base of the caudal fin. Specimens of the Black Sea subspecies had a greater postdorsal length and a larger distance from the end of the dorsal fin base to the end of the anal fin base. A multivariate principal component analysis revealed the highest variability of characters of body height, which depends on the fatness of the fish and demonstrates seasonal dynamics. The second group combines characters that do not have a seasonal component (dimensions of the head region, lengths of the bases of the dorsal and anal fins, and postdorsal distance) and can be used for distinguishing the shape of the Azov and Black Sea anchovies. The success rate of classification of Azov and Black Sea anchovies according to the body shape measurement characters using the discriminant analysis was 83.4%.

**Keywords:** Azov anchovy *Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, 1926, Black Sea anchovy *E. encrasicolus ponticus* Alexandrov, 1927, morphometry, body shape, multivariate analysis, Sea of Azov, Black Sea

УДК 577.47:170.49

## ДОЛГОВРЕМЕННЫЙ МОНИТОРИНГ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ УССУРИЙСКОГО ЗАЛИВА МЕТАЛЛАМИ НА ПРИМЕРЕ “ЗЕЛЕННЫХ” УСТРИЦ *MAGALLANA GIGAS* (= *CRASSOSTREA GIGAS*) (THUNBERG, 1793)

© 2023 г. В. М. Шулькин<sup>1</sup>, \*, В. Я. Кавун<sup>2</sup>

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

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

\*e-mail: shulkin@tigdvo.ru

Поступила в редакцию 12.07.2022 г.

После доработки 08.11.2022 г.

Принята к публикации 24.11.2022 г.

В сентябре 2021 г. проведена оценка содержания тяжелых металлов Pb, Cu, Cd, Zn, Ni, Fe и Mn в тканях устрицы *Magallana gigas* (= *Crassostrea gigas*) (Thunberg, 1793) и в илистой фракции донных отложений из мест обитания моллюсков в прибрежных водах вокруг п-ва Муравьева-Амурского, включая наиболее загрязненный участок у западного берега Уссурийского залива Японского моря. Показано, что, несмотря на проведенную в 2010 г. рекультивацию расположенного здесь мусорного полигона — основного источника загрязнения металлами, медь в высокой концентрации присутствует в донных отложениях и тканях устриц, придавая им зеленый цвет. У обитающих на этом участке моллюсков также сохраняется высокая концентрация цинка. Концентрации Pb, Cd и Ni в тканях устриц за последние 20 лет снизились в 2–5 раз в соответствии с уменьшением количества подвижных форм этих металлов в донных отложениях, однако все еще в 3–6 раз превышают региональные оценки для загрязненных акваторий. При аномальном накоплении меди, марганец, напротив, демонстрирует снижение концентрации в тканях устриц с наиболее загрязненных станций, отражая ухудшение физиологического состояния моллюсков. Полученные результаты указывают на необходимость продолжения ремедиации западного побережья Уссурийского залива и мониторинга загрязнения прибрежных вод металлами.

**Ключевые слова:** Японское море, Уссурийский залив, полигон твердых бытовых отходов, тяжелые металлы, устрицы, донные отложения

**DOI:** 10.31857/S0134347523020079, **EDN:** DVUUFY

Загрязнение биогенных компонентов прибрежно-морских экосистем соединениями тяжелых металлов Pb, Cu, Cd, Zn, Ni, Fe и Mn (далее металлов) — проблема давняя, но по-прежнему привлекающая внимание вследствие значимости этих акваторий и их биологических ресурсов для функционирования экосистемы океана и жизнедеятельности человека. К настоящему времени негативное воздействие на многие физиологические процессы повышенного содержания в среде соединений Pb и Cd, особенно их ионных форм, доказано экспериментально (Hariharan et al., 2014; Kournoutou et al., 2020). Повышенная концентрация в среде микронутриентов (соединения Zn, Cu, Mn и Fe) также может быть токсична для гидробионтов (Phillips, 1977). Несмотря на разнообразие способов оценки этого негативного влияния (Le et al., 2016), одним из наиболее очевид-

ных показателей остается концентрация металлов в тканях гидробионтов (Phillips, 1977; Zhou et al., 2008). Мониторинг загрязнения водных экосистем металлами по их содержанию в тканях массовых видов моллюсков и водорослей широко применяется и в мире (Rainbow, Phillips, 1993), и в прибрежных водах морей РФ, в том числе в зал. Петра Великого (Христофорова, 1989; Христофорова, Гнетецкий, 2022).

В акватории зал. Петра Великого — наиболее хозяйственно освоенной части северо-западного сектора Японского моря — выделяется западное побережье Уссурийского залива, где в конце 1990-х и в 2000-х гг. аномально высокие концентрации соединений Pb, Cu, Zn и Cd наблюдали во многих компонентах морских экосистем, в том числе и в двустворчатых моллюсках (Шулькин и др., 2002; Shulkin et al., 2003). Основной причи-

ной загрязнения стал дренаж с полигона ТБО (твердых бытовых отходов), расположенного практически на берегу залива. Стоки с золоотвалов ТЭЦ-2 также сыграли свою роль. В результате в прилегающей прибрежной акватории концентрация соединений халькофильных металлов Pb, Cu, Zn и Cd в тканях мидии Грея *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) превышала фон в 5–120 раз, а в устрице гигантской *Magallana gigas* (= *Crassostrea gigas*) (Thunberg, 1793) – в 2–100 раз. При этом в тканях мидий максимально накапливался свинец, а в тканях устриц – медь, из-за чего они приобретали зеленый цвет. Накопление Cu в устрицах до уровней 1200 мкг/г сух. массы и более, когда ткани моллюска приобретают зеленый оттенок (Wang et al., 2011), – это нередкая ситуация, достаточно давно описанная в Англии, США и Китае и характерная для эстуарных и портовых акваторий с очевидным антропогенным загрязнением (Roosenburg, 1969; George et al., 1978; Fang, Dai, 2017). Концентрация Cu равная 2500–6500 мкг/г сух. массы, которая была отмечена в 1999–2001 гг. в устрицах западного побережья Уссурийского залива (Shulkin et al., 2003), лишь незначительно уступает значениям, зафиксированным у экстремально загрязненных моллюсков эстуария р. Джилонг, Китай (Weng, Wang, 2014), и соответствует верхнему пределу, наблюдавшемуся в тканях устриц других сильнозагрязненных прибрежных акваторий (Fang, Dai, 2017). На основании этого достаточно обширный (3–5 км) участок западного побережья Уссурийского залива был охарактеризован как зона действительно экстремального загрязнения металлами в зал. Петра Великого, а устрица *Magallana gigas* была рекомендована в качестве тест-объекта для биомониторинга уровня загрязнения прибрежных вод соединениями Pb, Cu, Cd, Zn, Ni, Fe и Mn (Shulkin et al., 2003).

В 2010–2012 гг. проведена рекультивация полигона ТБО (Яцук и др., 2012). На золоотвалах ТЭЦ-2 также проводились природоохранные мероприятия. В 2017 г., несмотря на ожидаемое улучшение качества прибрежных вод, исследование саргассовых водорослей западной части Уссурийского залива показало, что концентрация в них Cu и Pb по-прежнему превышала пороговые уровни соответственно в 3 и 12 раз (Коженкова и др., 2021). Недавняя работа по оценке загрязнения металлами тканей долгоживущих митилид по всему Уссурийскому заливу за период 2006–2018 гг. (Христофорова, Гнетецкий, 2022) показала увеличение верхней границы диапазона наблюдаемых концентраций Zn, Cu и Cd в 1.5–2 раза. К сожалению, данное исследование не коснулось максимально загрязненного 5-километрового участка западного побережья Уссурийского залива (от б. Щитовая до б. Десантная), примыкающего к территории рекультивированного полигона ТБО. Соответственно, состояние моллюсков, обитающих в этих аномально загрязненных биотопах, осталось не изучено. Цель данной работы – оцен-

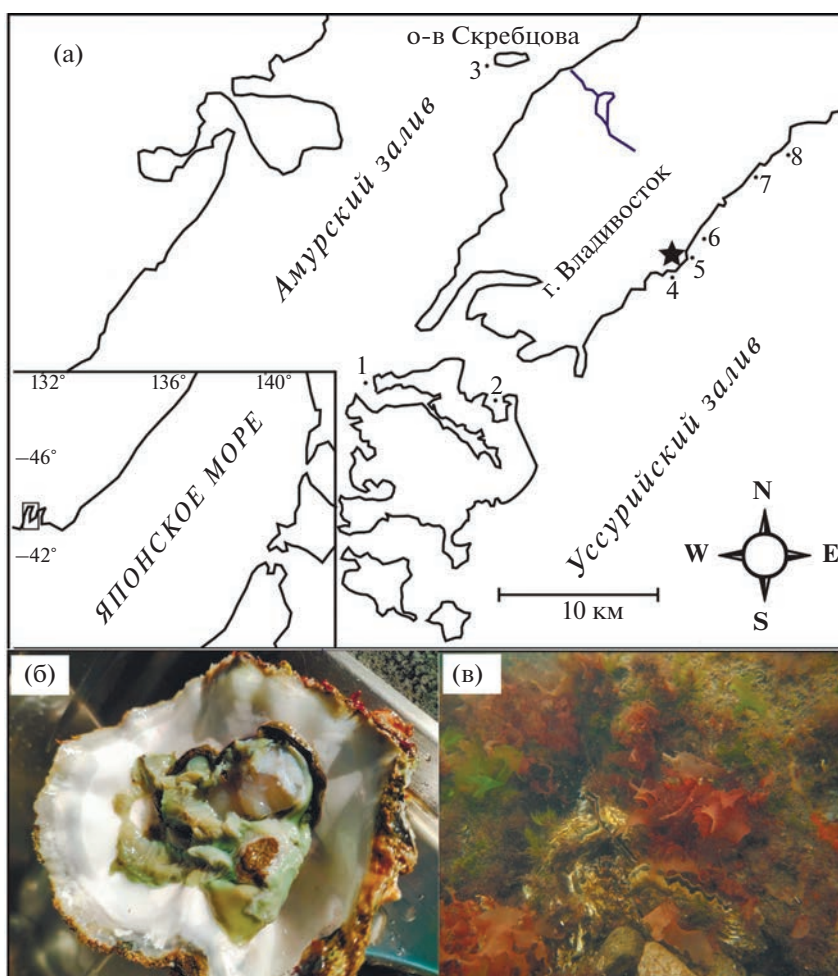
ка текущего уровня загрязнения металлами Pb, Cu, Cd, Zn, Ni, Fe и Mn тканей устриц, обитающих вокруг п-ва Муравьева-Амурского, включая прибрежные воды западной части Уссурийского залива, для сравнения его с данными 20-летней давности. На основании этого предполагается охарактеризовать существующий уровень загрязнения среды металлами, а также оценить эффективность проведенных природоохранных мероприятий.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Особь устрицы гигантской *Magallana gigas* были собраны в сентябре 2021 г. с восьми станций, 2 из которых расположены в прол. Босфор Восточный, 1 – в Амурском заливе и 5 – в Уссурийском заливе, включая станцию, расположенную вблизи территории бывшего полигона ТБО и станцию в 2 км к северу, в б. Десантная (рис. 1а). Моллюсков близкого размера (10–12 см) водолазы отбирали с глубины 2–6 м по 5 экз. с каждой станции. Устрицы, отобранные на станциях 5 и 6, т.е. рядом с бывшим полигоном ТБО и в б. Десантная, имели выраженную зеленоватую окраску тканей (рис. 1б), что явно указывало на загрязнение соединениями Cu. Места обитания представляли собой типичные мелко- или крупноглыбовые развалы, иногда – грядовые выходы коренных пород без видимых признаков антропогенной нагрузки (рис. 1в). Поверхность дна между валунами и понижения в грядах были заполнены мелкощебнистым или крупнозернистым песчаным материалом, который также был отобран в пластиковые емкости объемом 300–500 мл в мае 2022 г. вблизи места сбора моллюсков.

В течение двух суток животных содержали в аэрированной морской воде для дефекации, затем препарировали. Гонады всех отловленных особей находились в постнерестовом состоянии. Мягкие ткани устриц сушили при температуре 85°C до постоянной массы, затем гомогенизировали, растирая в агатовой ступке; навеску 0.5 г минерализовали концентрированной азотной кислотой в микроволновой установке Mars-6 и переводили в раствор 1М HNO<sub>3</sub>. При этом каждую особь анализировали как отдельную пробу, что позволило оценить индивидуальную изменчивость микроэлементного состава моллюсков в пределах станции. Определение количества металлов проводили методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии (ААС) на приборе Shimadzu 7000 с пламенной и электротермической атомизацией. Правильность анализа контролировали регулярным разложением и анализом стандартного образца тканей устриц 1566-а NIST. Воспроизводимость стандарта составляла 92–108%.

Для характеристики содержания металлов в среде использовали илстую фракцию, содержащуюся в песчаном и гравийно-галечном материале, отобранном вблизи места сбора моллюсков.



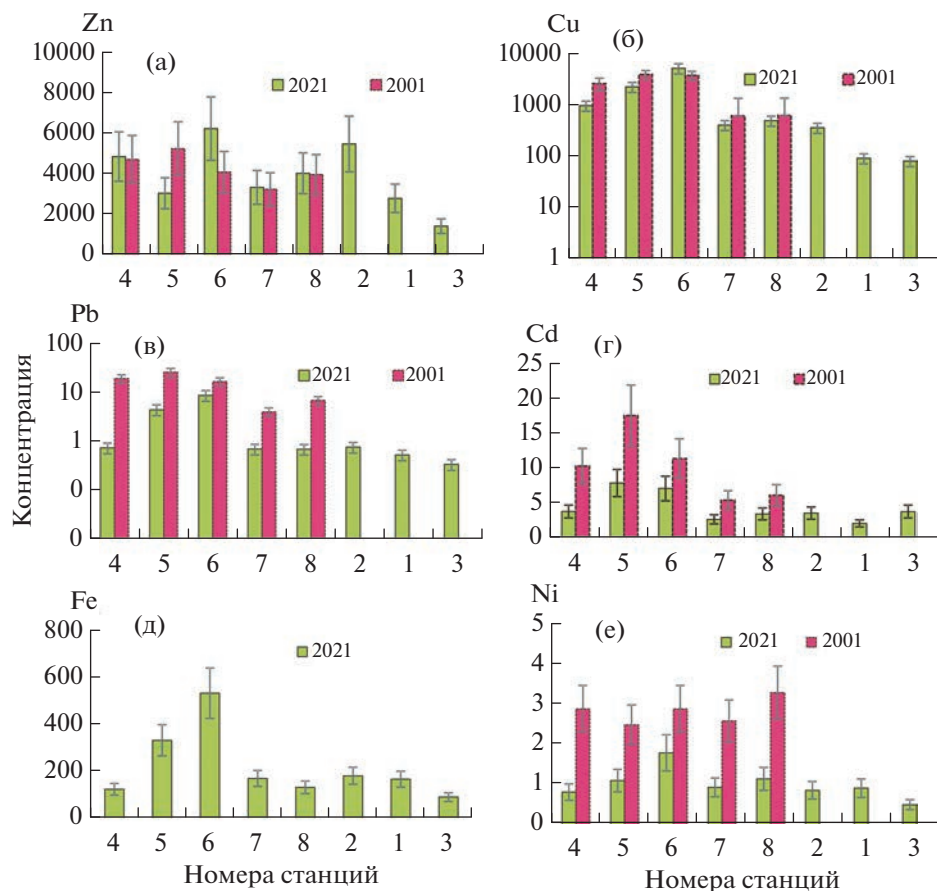
**Рис. 1.** Места сбора материала и объект исследования. (а) Точки отбора устриц и донных отложений в 2021–2022 гг. звездочкой отмечено расположение полигона ТБО, цифрами – станции: 1 – б. Новик, 2 – б. Парис, 3 – о-в Скребцова, 4 – б. Щитовая, 5 – ТБО, 6 – б. Десантная, 7 – юг б. Шаморы, 8 – б. Три поросенка; (б) Пример “зеленой” устрицы со ст. 5 и 6; (в) Место обитания устриц на ст. 5.

Мы полагаем, что наряду с биогенной взвесью именно эту илистую часть донных отложений фильтруют моллюски в процессе питания, и ее состав отражает уровень загрязнения мест обитания устриц. Пластиковую банку с отобранным грубозернистым материалом заливали 100–150 мл бидистиллированной воды, тщательно встряхивали в течение 2–3 мин и сливали воду с экстрагированной илистой фракцией в стеклянный цилиндр. Содержимое цилиндра еще раз перемешивали, и после 10 секундного осаждения песчаных фракций декантировали воду с илистым материалом ( $<0.05$  мм) в фарфоровую чашку. Процедуру повторяли 2–3 раза. Воду из фарфоровых чашек выпаривали, а илистый материал гомогенизировали в агатовой ступке и использовали для определения валовой концентрации металлов и содержания их подвижных форм, экстрагируемых 1 М HCl. Выбор этого не самого селективного экстрагента обусловлен его широким использованием (Luoma, 1989) и тем, что именно вытяжку 1 М HCl применяли в 1999–2001 гг. для изучения

донных отложений Уссурийского залива (Shulkin et al., 2003), что обеспечивает возможность сравнения данных. Для определения валовой концентрации металлов навеску (0.1 г) ила переводили в раствор смесью HF-HNO<sub>3</sub>, выпаривали, удаляли следы HF и переводили в 5%-ный раствор HCl.

Вытяжки, а также разложенные валовые пробы анализировали методом ААС на приборе Shimadzu 7000 с пламенной и электротермической атомизацией. Правильность анализа контролировали регулярным разложением и анализом стандартного образца донных отложений BCSS-1 NIST. Воспроизводимость стандарта составляла 88–109%.

Сравнение средних концентраций металлов в тканях устриц между станциями оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни в пакете PAST 3. Статистические параметры (среднее, медиана и стандартное отклонение) результатов анализа определяли в программе Excel.



**Рис. 2.** Пространственная изменчивость концентрации металлов (мкг/г) в тканях устриц с западного побережья Уссурийского (ст. 2–8) и Амурского (ст. 1, 3) заливов, отобранных в 1999 и 2021 гг. Вертикальными линиями показан коэффициент вариации индивидуальной изменчивости.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные по концентрации металлов в тканях устриц, собранных в августе 2021 г. в прибрежных акваториях вокруг п-ва Муравьева-Амурского, и в илистой фракции донных отложений с мест обитания гидробионтов приведены в табл. 1. Очевидно, что устрицы Амурского залива, особенно отловленные у о-ва Скребцова (станция 3), содержали минимальное количество всех металлов, тогда как в тканях устриц, обитающих у западного берега Уссурийского залива (станции 4–8) концентрации металлов были значимо выше (табл. 1). Кроме высокого содержания халькофильных металлов, в устрицах, отобранных на наиболее загрязненных станциях 5 и 6 (полигон ТБО и б. Десантная) отмечены повышенные концентрации Fe и Ni. На всех остальных станциях концентрации железа и никеля были близки к фоновым значениям и достигали минимума в тканях моллюсков у о-ва Скребцова (табл. 1, рис. 2д, 2е). Распределение Mn в тканях устриц у берегов п-ва Муравьева-Амурского отличается от других металлов: минимальная концентрация наблюдается на самой загрязненной станции, где содержание всех остальных металлов максимально (табл. 1).

В местах обитания *Magallana gigas* вокруг п-ва Муравьева-Амурского концентрации металлов в илистой фракции донных отложений также весьма изменчивы (табл. 1). Максимальные валовые концентрации халькофильных металлов отмечены на станциях 5 и 6 вблизи полигона ТБО. Минимальные значения этих показателей наблюдались на станции 3 у о-ва Скребцова, где валовые концентрации Zn, Cu, Pb и Cd составляли соответственно 95.0, 27.5, 24.2 и 0.52 мкг/г. Распределение в илистой фракции донных отложений концентраций подвижных форм металлов Zn, Cu, Pb и Cd, извлекаемых 1М HCl и загрязняющих прибрежные воды Уссурийского залива, в общих чертах подобно таковому для валового содержания (рис. 3).

Концентрации Fe, Ni и Mn в донных отложениях наиболее загрязненных станций 5 и 6 также повышены в 3–6 раз, однако за пределами этой зоны концентрации и валовых, и подвижных форм этих металлов снижаются до фоновых значений (рис. 3д, 3е, табл. 1 для Mn).

**Таблица 1.** Концентрация металлов в тканях устрицы *Magallana gigas* у берегов п-ва Муравьева-Амурского и в илистой фракции донных отложений из мест ее обитания (2021–2022 гг.)

| № станции        | Fe                   | Mn                 | Zn                  | Cu                      | Pb                      | Cd                  | Ni                   |
|------------------|----------------------|--------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|
| В тканях устрицы |                      |                    |                     |                         |                         |                     |                      |
| 4                | <b>126 ± 10</b>      | 50.1 ± 12          | <b>4884 ± 889</b>   | <b>978 ± 187</b>        | 0.75 ± 0.08             | 3.75 ± 0.47         | 0.83 ± 0.22          |
| 5                | 336 ± 95             | <b>32.3 ± 13.5</b> | <b>3069 ± 545</b>   | <b>2258 ± 314</b>       | <b>4.53 ± 0.68</b>      | <b>7.87 ± 1.62</b>  | 1.11 ± 0.57          |
| 6                | <b>539 ± 163</b>     | <b>13.6 ± 5.9</b>  | <b>6274 ± 2397</b>  | <b>5176 ± 929</b>       | <b>8.91 ± 2.15</b>      | <b>7.07 ± 1.88</b>  | <b>1.80 ± 0.56</b>   |
| 7                | 172 ± 39             | <b>47.3 ± 10.7</b> | <b>3362 ± 950</b>   | 410 ± 133               | 0.71 ± 0.16             | 2.64 ± 1.17         | 0.94 ± 0.11          |
| 8                | 134 ± 17             | 23.5 ± 4.6         | 4062 ± 624          | 500 ± 70                | 0.70 ± 0.17             | 3.41 ± 0.57         | 1.15 ± 0.16          |
| 2                | 184 ± 36             | <b>69.2 ± 17.8</b> | 5512 ± 1485         | <b>363 ± 108</b>        | <b>0.77 ± 0.12</b>      | 3.52 ± 1.02         | 0.87 ± 0.16          |
| 1                | <b>169 ± 31</b>      | 43.8 ± 18.2        | <b>2817 ± 510</b>   | <b>93 ± 13</b>          | <b>0.53 ± 0.05</b>      | <b>2.05 ± 0.49</b>  | 0.92 ± 0.28          |
| 3                | <b>92 ± 13</b>       | 28.1 ± 11.3        | <b>1443 ± 450</b>   | 82 ± 29                 | <b>0.34 ± 0.10</b>      | 3.75 ± 0.89         | <b>0.51 ± 0.13</b>   |
| В грунте         |                      |                    |                     |                         |                         |                     |                      |
| 4                | <u>2.54</u><br>0.38  | <u>354</u><br>186  | <u>102</u><br>46    | <u>34.5</u><br>22.0     | <u>44.9</u><br>34.4     | <u>0.29</u><br>0.09 | <u>29.5</u><br>4.8   |
| 5                | <u>13.55</u><br>5.30 | <u>825</u><br>437  | <u>4519</u><br>3253 | <u>4849.4</u><br>3478.6 | <u>3320.3</u><br>1319.0 | <u>11.4</u><br>7.94 | <u>122.6</u><br>53.2 |
| 6                | <u>5.82</u><br>1.40  | <u>487</u><br>193  | <u>1512</u><br>968  | <u>2416.4</u><br>493.4  | <u>1092.0</u><br>215.8  | <u>4.89</u><br>3.40 | <u>99.8</u><br>36.8  |
| 7                | <u>3.55</u><br>0.64  | <u>396</u><br>178  | <u>183</u><br>88    | <u>113.6</u><br>76.2    | <u>87.5</u><br>73.9     | <u>4.60</u><br>0.29 | <u>35.9</u><br>6.1   |
| 8                | <u>3.55</u><br>0.63  | <u>387</u><br>168  | <u>169</u><br>77    | <u>105.7</u><br>71.7    | <u>81.1</u><br>66.1     | <u>0.42</u><br>0.24 | <u>33.3</u><br>5.4   |
| 2                | <u>2.59</u><br>0.48  | <u>341</u><br>127  | <u>166</u><br>103   | <u>59.3</u><br>41.0     | <u>71.8</u><br>66.6     | <u>0.95</u><br>0.30 | <u>34.8</u><br>8.7   |
| 1                | <u>2.97</u><br>0.92  | <u>420</u><br>197  | <u>137</u><br>85    | <u>36.4</u><br>25.2     | <u>41.1</u><br>35.2     | <u>2.14</u><br>0.71 | <u>33.3</u><br>12.4  |
| 3                | <u>2.38</u><br>0.63  | <u>782</u><br>386  | <u>95</u><br>49     | <u>27.5</u><br>17.4     | <u>24.2</u><br>16.8     | <u>0.52</u><br>0.23 | <u>36.3</u><br>12.1  |

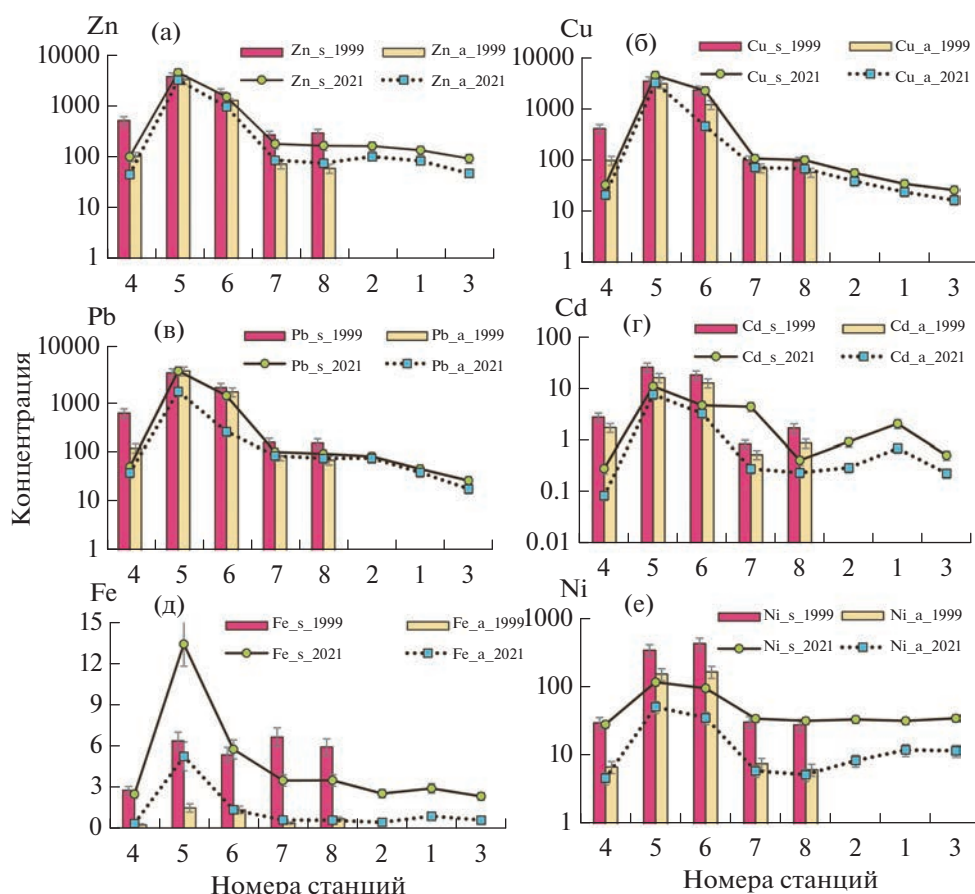
Примечание. В тканях устрицы концентрация металлов приведена в мкг/г сух. массы; жирным шрифтом выделена концентрация на станциях, значительно отличающаяся от соседних по критерию Манна–Уитни; в грунте концентрация Fe приведена в %, концентрация остальных металлов — в мкг/г; над чертой — валовая концентрация, под чертой — содержание подвижных форм металлов.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Зеленый цвет тканей устриц, отобранных в 2021 г. в прибрежных водах западной части Уссурийского залива, как и аномально высокое содержание в них соединений металлов, прежде всего Cu, а также Pb, Cd и Zn, однозначно указывают на продолжающееся масштабное загрязнение этими металлами 2–3-километрового участка, расположенного к югу от б. Десантная. В 2021 г. на станциях вблизи бывшего полигона ТБО концентрации Cu, Pb, Zn и Cd в тканях моллюсков превышали медианный уровень, отмеченный для устриц из прибрежных вод Кореи или Китая соответственно в 15–30, 3–10, 2–4 и 2 раза (табл. 2). Сравнивая эти показатели с гигиеническими нормами Российской Федерации, необходимо учитывать, что устрицы могут активно накапливать медь и цинк в высоких концентрациях даже

при отсутствии загрязнения и без явного токсического воздействия за счет таких регуляторных механизмов, как наличие гемоглобина и специальных генных комплексов (Wang et al., 2011; Liu et al., 2013; Meng et al., 2021). Кроме того, в настоящее время из изученных нами металлов, нормируются только Pb и Cd. Однако в предыдущие годы (Гигиенические требования..., 1997) в моллюсках контролировали и концентрации Cu и Zn.

Сравнение современных данных с результатами 1999–2001 гг. (Shulkin et al., 2003) подтверждает сохранение высокого уровня загрязнения Cu, Pb, Cd и Ni устриц, обитающих в окрестностях закрытого полигона ТБО (табл. 2, рис. 2). Но в 2021 г. концентрации Pb, Cd и Ni в устрицах, отобранных в наиболее загрязненных участках, были в 2–5 раз ниже, чем в 2001 г. На периферии зоны загрязнения концентрация свинца за этот период снизилась еще заметнее, в 6–10 раз (рис. 2в). Од-



**Рис. 3.** Изменение валовой концентрации ( $Me_s$ ) и подвижных форм ( $Me_a$ ) металлов в илистой фракции донных отложений западного побережья Уссурийского (ст. 2–8) и Амурского (ст. 1, 3) заливов по данным 1999 г. (столбики, Shulkin et al., 2003) и 2022 г. (линии); Fe — в %, остальные металлы в мкг/г.

нако однозначного снижения концентраций меди и цинка в тканях устриц исследуемого района за последние 20 лет не отмечено (рис. 2а, 2б).

Концентрации Zn, Pb и Cd в илистой фракции донных отложений на участке от полигона ТБО до б. Десантная в 6–9 раз превышали предельно допустимые концентрации (ПДК), принятые в странах ЕС для донных осадков (Wärmer, van Dokkum, 2002); ПДК меди превышала в 33–73 раз (табл. 2).

Сравнение полученных нами данных по донным отложениям Уссурийского залива с данными 1999–2001 гг. показало, что высокий уровень загрязнения илистых фракций сохраняется на участке от бывшего полигона ТБО до б. Десантная. За последние 20 лет концентрации Zn, Cu, Pb и Cd в осадках заметно снизились лишь на станции 4 (б. Щитовая), расположенной в 2 км южнее полигона ТБО (рис. 3).

Поскольку в 2010–2012 гг. была проведена масштабная рекультивация полигона ТБО, нынешнее загрязнение донных отложений может указывать на продолжающееся поступление металлов с берега, возможно, в виде дренажа с расположенного в 1 км к югу от б. Десантная нового

участка ТБО (рис. 1а). Продолжающееся загрязнение также может указывать на устойчивость лито-геохимической аномалии, сформировавшейся на этом участке ранее. Многолетнюю устойчивость техногенных геохимических аномалий в почвах, выносах шлаохранилищ и донных отложениях отмечали неоднократно (Елпатьевский, 1993).

Необходимо заметить, что медь в тканях устриц, несмотря на ее участие в ряде физиологических процессов в моллюсках (Кику, Ковековдова, 2007), является преимущественно металлом-загрязнителем. Об этом свидетельствует максимальное обогащение относительно незагрязненных моллюсков из Амурского залива (23–52 раза), сравнимое с таковым в донных отложениях (табл. 2). Для Zn картина не столь однозначна, поскольку устрицы — это концентраторы Zn с медианой 1700 мкг/г (Lu et al., 2019), что отражает важную роль этого элемента в физиологии моллюсков (Jonathan et al., 2017). Соответственно, степень обогащения этим металлом тканей устриц в загрязненных биотопах (2–4 раза) заметно ниже, чем в донных отложениях (15–45 раз).

Ранее на клеточном уровне показано, что некоторые металлы, в первую очередь марганец, в

Таблица 2. Концентрация металлов в тканях устрицы *Magallana gigas* и в илстых фракциях донных отложений в районах исследований

| Район исследований и значения ПДК              | Fe                             | Mn                        | Zn                        | Cu                        | Pb                        | Cd                            | Ni                     | Источник                                |
|------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------------|-----------------------------------------|
| В тканях устрицы                               |                                |                           |                           |                           |                           |                               |                        |                                         |
| П-в Муравьева-Амурского (2021 г.)              | 92–539                         | 13.6–69.8                 | 1443–6274                 | 82–5176                   | 0.34–8.91                 | 3.75–7.87                     | 0.51–1.80              | Наши данные                             |
| Уссурийский залив (1999 г.)                    | –                              | 30–45                     | 1683–7262                 | 250–6576                  | 4.1–36.0                  | 4.7–27.2                      | 1.8–3.3                | Shulkin et al., 2003                    |
| Южная Корея (2020 г.)                          | –                              | –                         | 1922                      | 446                       | 1.3                       | 4.6                           | 1.5                    | Jeong et al., 2021                      |
| Китай (медиана)                                | –                              | –                         | 1432                      | 280                       | 0.83                      | 7.98                          | 2.57                   | Lu et al., 2019                         |
| Китай (Q 90%)                                  | –                              | –                         | 4551                      | 1116                      | 1.25                      | 13.4                          | 12.1                   | Lu et al., 2019                         |
| По всему миру (медиана)                        | –                              | –                         | 1703                      | 173                       | 1.6                       | 4.33                          | 4.95                   | Lu et al., 2019                         |
| ПДК                                            | –                              | –                         | 1000                      | 150                       | 50                        | 10                            | –                      | Гигиенические требования..., 1997, 2008 |
| В донных отложениях                            |                                |                           |                           |                           |                           |                               |                        |                                         |
| П-в Муравьева-Амурского (2021 г.)              | $\frac{2.38-13.55}{0.38-5.30}$ | $\frac{340-825}{127-437}$ | $\frac{95-4519}{46-3253}$ | $\frac{36-4849}{17-3479}$ | $\frac{41-3320}{17-1319}$ | $\frac{0.29-11.4}{0.09-7.94}$ | $\frac{30-123}{5-53}$  | Наши данные                             |
| Уссурийский залив (1999 г.)                    | $\frac{2.83-6.73}{0.31-1.38}$  | $\frac{273-688}{60-737}$  | $\frac{44-5736}{15-3326}$ | $\frac{5-3518}{1-2281}$   | $\frac{14-3224}{2-2510}$  | $\frac{0.21-27.2}{0.1-16.9}$  | $\frac{11-362}{1-161}$ | Shulkin et al., 2003                    |
| Незагрязненные илы юго-запада Амурского залива | 2.95                           | 350                       | 76                        | 15.3                      | 18.6                      | 0.23                          | 34                     | Shulkin et al., 2003                    |
| ПДК                                            | –                              | –                         | 620                       | 73                        | 530                       | 12                            | 44                     | Warmer, van Dokkum, 2002                |

Примечание. В тканях устрицы концентрация металлов приведена в мкг/г сух. массы; в грунте концентрация Fe приведена в %, концентрация остальных металлов – в мкг/г; над чертой – валовая концентрация, под чертой – содержание подвижных форм. Условные обозначения: ПДК – предельно допустимая концентрация, пересчитанная для устриц на сухую массу, при влажности 80% (Amiard et al., 2008) “–” – отсутствие данных.

организмах долгоживущих митилид вымываются под воздействием аномальных накоплений меди в их тканях. Это приводит к снижению содержания этих металлов ниже физиологического уровня (Подгурская, Кавун, 2012; Kavun et al., 2020). Вероятно, минимальные концентрации Mn в тканях устриц, отобранных на самой загрязненной станции 6 (табл. 1), на фоне достаточно высокого содержания этого металла в осадках, являются следствием вышеописанных процессов.

Концентрации Pb, Cd и Ni в тканях устриц загрязненного участка западного побережья Уссурийского залива в 2021 г. остаются аномально высокими, но уменьшаются в 2–5 раз по сравнению с данными 1999 г. (рис. 2). Это согласуется с наблюдаемым в течение того же периода снижением концентрации подвижных форм этих металлов в илистых фракциях донных отложений (рис. 3). Однако по валовому содержанию в донных отложениях самоочищение от загрязнения соединениями Cd и Pb фиксируется только на станции 4 в б. Щитовая (рис. 3). Это еще раз подтверждает необходимость оценки загрязнения донных осадков металлами по концентрации подвижных форм с учетом их биодоступности (Luoma, 1989). Таким образом, ситуация с загрязнением донных отложений и устриц Ni, Cd и Pb на участке бывшего полигона ТБО улучшилась, хотя содержание Pb в устрицах продолжает превышать в 3–6 раз уровень, наблюдаемый в устрицах из наиболее загрязненных акваторий Китая (табл. 2; Lu et al., 2019).

Недостаточная эффективность рекультивации полигона ТБО свидетельствует о различиях в интенсивности поступления соединений отдельных металлов с суши и последующей их миграции в прибрежной зоне. Вероятно, Cu и Zn поступают в большем количестве и в более биодоступных формах, что объясняет их высокие концентрации в тканях устриц и в осадках в виде подвижных форм. В то же время рекультивация привела к существенному уменьшению количества соединений Pb, Cd и Ni, поступающих с территории бывшего полигона ТБО, что выразилось в снижении концентрации этих металлов в тканях устриц, а также содержания их подвижных форм в илистых фракциях донных отложений.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в ходе исполнения государственных заданий ТИГ ДВО РАН АААА-А19-119030790003-1 и ННЦМБ ДВО РАН № 121082600038-3.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят водолазную службу ННЦМБ ДВО РАН за проведение отбора проб и отдельно водолаза К.К. Дудку за фотографии мест обитания устриц.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. СанПиН 2.3.2.560-96. М.: Госкомсанэпиднадзор России. 1997. 270 с.
- Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПиН 2.3.2.1078-01. 2008.  
<https://gosstandart.info/data/documents/sanpin3.2.1078-01>
- Елпатьевский П.В. Геохимия миграционных потоков в природных и природно-техногенных геосистемах. М.: Наука. 1993. 253 с.
- Кику Д.П., Ковековдова Л.Т. Оценка содержания микроэлементов в устрицах гигантских (*Crassostrea gigas*) из залива Петра Великого (Японское море) // Изв. ТИНРО. 2007. Т. 150. С. 400–407.
- Коженкова С.И., Христофорова Н.К., Чернова Е.Н., Кобзарь А.Д. Долговременный биомониторинг загрязнения Уссурийского залива Японского моря тяжелыми металлами // Биол. моря. 2021. Т. 47. № 4. С. 235–243.
- Подгурская О.В., Кавун В.Я. Оценка адаптационно-защитного потенциала двусторчатых моллюсков *Modiolus modiolus* (Linnaeus, 1758) и *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) в условиях повышенного содержания тяжелых металлов в среде // Биол. моря. 2012. Т. 38. № 2. С. 174–182.
- Христофорова Н.К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами. Л.: Наука. 1989. 192 с.
- Христофорова Н.К., Гнетецкий А.В. Содержание тяжелых металлов в долгоживущих митилидах Уссурийского залива Японского моря // Биол. моря. 2022. Т. 48. № 1. С. 30–37.
- Шулькин В.М., Кавун В.Я., Ткалин А.В., Пресли Б.Дж. Влияние концентрации металлов в донных отложениях на их накопление митилидами *Crenomytilus grayanus* и *Modiolus kurilensis* // Биол. моря. 2002. Т. 31. № 1. С. 53–60.
- Яцук А.В., Обжиров А.И., Гресов А.И., Коровицкая Е.В. Газогеохимия и геоэкология полигона твердых бытовых отходов г. Владивостока // В кн. Современное экологическое состояние залива Петра Великого Японского моря. Владивосток: ДВФУ. 2012. С. 426–438.
- Amiard J.C., Amiard-Triquet C., Charbonnier L. et al. Bioaccessibility of essential and non-essential metals in commercial shellfish from Western Europe and Asia // Food Chem. Toxicol. 2008. V. 46. P. 2010–2022.
- Fang T.H., Dai S.Y. Green oysters occurring in an industrial harbor in Central Taiwan // Mar. Pollut. Bull. 2017. V. 124 (2). P. 1006–1013.
- Hariharan G., Purvaja R., Ramesh R. Toxic effects of lead on biochemical and histological alterations in green

- mussel (*Perna viridis*) induced by environmentally relevant concentrations // J Toxicol. Environ. Health A. 2014. V. 77. № 5. P. 246–260.  
<https://doi.org/10.1080/15287394.2013.861777>
- George S.G., Piris B.J.S., Cheyne A.R. et al. Detoxification of metals by marine bivalves: An ultrastructural study of the compartmentation of Cu and Zn in the oyster *Ostrea edulis* // Mar. Biol. 1978. V. 45. P. 147–156.
- Jeong H., Ra K., Won J. A nationwide survey of trace metals and Zn isotopic signatures in mussels (*Mytilus edulis*) and oysters (*Crassostrea gigas*) from the coast of South Korea // Mar. Poll. Bull. 2021. V. 173. P. 113061.
- Jonathan M.P., Munoz-Sevilla N.P., Gongora-Gomez A.M. et al. Bioaccumulation of trace metals in farmed pacific oysters *Crassostrea gigas* from SW gulf of California coast, Mexico // Chemosphere. 2017. V. 187. P. 311–319.
- Kavun V.Y., Yurchenko O.V., Podgurskaya O.V. Integrated assessment of the acclimation capacity of the marine bivalve *Crenomytilus grayanus* under naturally highly contaminated conditions: subcellular distribution of trace metals and structural alterations of nephrocytes // Sci. Total. Environ. 2020. V. 734. 139015.
- Kournoutou G.G., Giannopoulou P.C., Sazakli E. et al. Oxidative damage of mussels living in seawater enriched with trace metals, from the viewpoint of proteins expression and modification // Toxics. 2020. V. 8. P. 89.  
<https://doi.org/10.3390/toxics8040089>
- Le T.T.Y., Zimmermann S., Sures B. How does the metallothionein induction in bivalves meet the criteria for biomarkers of metal exposure? // Environ. Pollut. 2016. V. 212. P. 257–268.
- Liu F., Rainbow F.S., Wang W.X. Inter-site differences of zinc susceptibility of the oyster *Crassostrea hongkongensis* // Aquat. Toxicology. 2013. V. 132. P. 26–33.
- Lu G., Zhu A., Fang H. et al. Establishing baseline trace metals in marine bivalves in China and worldwide: Met-analysis and modeling approach // Sci. Tot. Environ. 2019. V. 669. P. 746–753.
- Luoma S.N. Can we determine the biological availability of sediment bound trace elements? // Hydrobiology. 1989. V. 176. P. 379–396.
- Meng J., Wang W.-X., Li L., Zhang G. Accumulation of different metals in oyster *Crassostrea gigas*: Significance and specificity of SLC39A (ZIP) and SLC30A (ZnT) gene families and polymorphism variation // Environ. Pollut. 2021. V. 276. P. 116706.
- Phillips D.J.H. The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments – a review // Environ. Pollut. 1977. V. 13. P. 281–317.
- Rainbow P.S., Phillips D.J.H. Cosmopolitan biomonitors of trace metals // Mar. Poll. Bull. 1993. V. 26. P. 593–601.
- Roosenburg W.H. Greening and Cu accumulation in the American oyster, *Crassostrea virginica*, in the vicinity of a steam electric generating station // Chesapeake Sci. 1969. V. 10. C. 241–252.
- Shulkin V.M., Presley B.J., Kavun V.Ia. Metal concentrations in mussel *Crenomytilus grayanus* and oyster *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambient sediments // Environ. Int. 2003. V. 29. P. 493–502.
- Wang W.X., Yang Y., Guo X. et al. Copper and zinc contamination in oysters: subcellular distribution and detoxification // Environ. Toxicol. Chem. 2011. V. 30. P. 1767–1774.
- Warmer H., van Dokkum R. Water pollution control in the Netherlands. Policy and practice 2001. RIZA report 2002.009. Lelystad. 2002. 77 p.
- Weng N., Wang W.X. Variations of trace metals in two estuarine environments with contrasting pollution histories // Sci. Total Environ. 2014. V. 485. P. 604–614.
- Zhou Q., Zhang J., Fu J. et al. Biomonitoring: an appealing tool assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem // Anal. Chim. Acta. 2008. V. 606. P. 135–150.

## Long-term Monitoring of Pollution of the Coastal Water Area of Ussuriysk Bay with Metals: Case Study of “Green” Oysters *Magallana gigas* (= *Crassostrea gigas*) (Thunberg, 1793)

V. M. Shulkin<sup>a</sup> and V. Ya. Kavun<sup>b</sup>

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

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

In September 2021, the content of heavy metals Pb, Cu, Cd, Zn, Ni, Fe, and Mn was estimated in the tissues of the oyster *Magallana gigas* (= *Crassostrea gigas*) (Thunberg, 1793) and in the silty fraction of bottom sediments from mollusk habitats in coastal waters around the Muravyov-Amursky Peninsula, including the most polluted area off the western coast of Ussuri Bay of the Sea of Japan. It has been shown that, despite the reclamation of the landfill located here in 2010, being the main source of metal pollution, copper is present in high concentrations in bottom sediments and tissues of oysters, giving them a green color. The mollusks living in this area also retain a high concentration of zinc. The concentrations of Pb, Cd, and Ni in oyster tissues over the past 20 years have decreased by 2–5 times in accordance with the decrease in the number of mobile forms of these metals in bottom sediments; however, they are still 3–6 times higher than regional estimates for polluted water areas. With abnormal accumulation of copper, manganese, on the contrary, demonstrates a decrease in the concentration in the tissues of oysters from the most polluted stations, reflecting the deterioration of the physiological state of mollusks. The results obtained indicate the need to continue the remediation of the western coast of Ussuri Bay and monitor the pollution of coastal waters with metals.

**Keywords:** Sea of Japan, Ussuri Bay, solid waste landfill, heavy metals, oysters, bottom sediments

УДК 576.3

## ВОЗРАСТНАЯ И СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА КЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ГЕМОЦИТОВ У ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CRENOMYTILUS GRAYANUS* (DUNKER, 1853)

© 2023 г. А. А. Анисимова<sup>1</sup>, \*, М. Н. Дягилева<sup>1</sup>, А. В. Синенко<sup>1</sup>, И. А. Дмитриева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Мирового океана, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690922, Россия

\*e-mail: anisan77@mail.ru

Поступила в редакцию 15.06.2022 г.

После доработки 15.11.2022 г.

Принята к публикации 24.11.2022 г.

Клеточный состав гемолимфы мидии *Crenomytilus grayanus* представлен гемобластами, гиалиноцитами, базофильными, нейтрофильными и эозинофильными гранулоцитами с существенным преобладанием последних. С возрастом моллюска увеличивались средние значения размера и гранулярности гемоцитов за счет накопления в гемолимфе гранулоцитов (вплоть до 100% от всех клеток) и их зрелых высокодифференцированных эозинофильных форм (вплоть до 99% от всех клеток), что свидетельствует о снижении скорости обновления клеточной популяции. В осенний период половой инертности в гемолимфе мидий наблюдали уменьшение числа клеток с увеличением возраста моллюска, но без связи с размером раковины. Однако летом, в период нереста, концентрация гемоцитов либо не менялась, либо росла по мере увеличения размера тела, прямо коррелируя с количеством молодых базофильных гранулоцитов. Последнее может указывать либо на взаимосвязь между количеством гемоцитов и способностью мидий достигать крупных размеров, либо на более высокие потенции возрастных мидий к экстренной мобилизации системы иммунитета в летний сезон за счет быстрого восполнения пула циркулирующих клеток с последующим перераспределением молодых и зрелых клеточных форм между гемолимфой и внутренними органами.

**Ключевые слова:** гемоциты, гемопоэз, возраст, сезон, мидии, *Crenomytilus grayanus*, Mytilidae, Bivalvia

**DOI:** 10.31857/S013434752302002X, **EDN:** DUZMAM

В последние десятилетия широко исследуется возможность использования гемолимфы двустворчатых моллюсков в качестве индикатора состояния морских экосистем (см. обзоры: Анисимова, 2013; Oliver, Fisher, 1999; Renault, 2015; Farrington et al., 2016; Metzger et al., 2016; Dos Santos et al., 2022). Даже самые общие гематологические показатели, такие как концентрация гемоцитов и их дифференциальное число (распределение по морфотипам), зависят от условий обитания моллюсков – температуры воды, солености, инфекционной нагрузки, загрязнений и т. д. (см. обзоры: Анисимова, 2013; Donaghy et al., 2009). Помимо внешних средовых факторов на параметры популяции гемоцитов влияют и внутренние онтогенетические причины. Некоторые авторы сообщают о возраст-зависимом повышении концентрации клеток в гемолимфе (Flye-Sainte-Marie et al., 2009) и увеличении количества гранулоцитов (Carballal et al., 1998; Ottaviani et al., 1998; Mosca et al., 2011). С другой стороны, есть данные об изменении как общего (Pipe et al., 1995; Fisher et al., 1996; Delaporte et al., 2006), так и дифференциального (Анисимова и др., 2017) числа гемоцитов в связи с половым циклом. Понимание границ нормы фи-

зиологических параметров, используемых в биоиндикации, их изучение в возрастной и сезонной динамике в естественных условиях, неотягченных экстремальными воздействиями, служат базой для разработки методов оценки влияния среды на морскую биоту.

Представителей семейства Mytilidae активно исследуют в отношении реакций гемолимфы на антропогенный стресс (Farrington et al., 2016; Batel et al., 2018; Parrino et al., 2019; Sendra et al., 2020; Dos Santos et al., 2022). С этой точки зрения особый интерес представляет мидия Грея *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853). Возраст особей в естественных популяциях моллюска достигает 150 лет (Явнов, 2000), что делает его удобной моделью для изучения механизмов адаптации к стрессовым воздействиям у видов-долгожителей. В предыдущем сообщении (Анисимова и др., 2022) нами были изучены состав и кинетика популяции гемоцитов у мидии Грея, показавшей себя как относительно стабильная клеточная система с низкой скоростью обновления. Все клетки гемолимфы у *C. grayanus*, по-видимому, составляют единый гистогенетический ряд в полном соответствии со схемой гемопоэза, предложенной Миксом (Mix,



**Рис. 1.** Карта-схема районов и время сбора двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*. 1 — б. Киевка (10 особей), 2 — прол. Старка (40 особей), 3 — о-в Рейнеке (30 особей).

1976) и поддержанной в ряде других работ (Ottaviani et al., 1998; Nine, 1999). Учитывая высокую продолжительность жизни вида, мы предположили, что моллюск реализует стратегию длительного сохранения клеток с накоплением в гемолимфе высокодифференцированных форм гемоцитов. Стратегия гистогенеза должна проявляться и в специфических изменениях параметров тканевых систем в течение жизни особей, поэтому в настоящем исследовании на трех выборках мидии Грея из фоновых акваторий Приморья проведен анализ возрастной динамики клеточной популяции гемоцитов в разные сезоны. Такой подход позволил выявить границы нормальной вариабельности гемограммы *C. grayanus* и оценить вклад естественных причин в общую совокупность факторов, влияющих на нее, что в дальнейшем при использовании гемоцитов мидии Грея в мониторинге антропогенных загрязнений даст возможность принимать в расчет возраст-зависимые и сезонные эффекты.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

### Сбор моллюсков

Материалом для исследования послужила гемолимфа 80 разновозрастных мидий *Crenomytilus grayanus* из трех фоновых акваторий Приморья (рис. 1). Длина раковины варьировала от 26 до 160 мм, при этом особи данного вида становятся половозрелыми, достигая размеров 60–70 мм (Явнов, Поздняков, 2000). Для определения стабильности возрастных эффектов все три выборки взяты в разные годы и сезоны, на разных стадиях полового цикла моллюсков, с учетом того, что нерест у мидии Грея растянут с июня по август включительно (Явнов, 2000). В 2018 г. моллюски были выловлены в б. Киевка (42°50'16" с.ш., 133°41'35" в.д.) в середине июля ( $t$  воды 17°C), в разгар нереста; в 2019 г. — в прол. Старка зал. Петра Великого (42°58'48" с.ш., 131°44'46" в.д.) в начале сентября ( $t$  воды 21°C), вблизи августовской нерестовой волны; в 2020 г. — в прибрежной зоне о-ва Рейнеке зал. Петра Великого (42°55'24" с.ш., 131°44'01" в.д.) в конце октября ( $t$  воды 10°C), после полного за-

вершения нереста. В летних выборках некоторые особи имели гонады с признаками активного выброса гамет; в осенней выборке признаки половой активности отсутствовали, поэтому при анализе возрастной динамики эту выборку рассматривали как эталонную. У о-ва Рейнеке собрано 30 особей с длиной раковины от 81 до 160 мм, возраст которых варьировал от 8 до 59 лет (данные о возрасте моллюсков любезно предоставлены ст.н.с. лаборатории систематики и морфологии ННЦМБ ДВО РАН Н.И. Селиным). Возраст моллюсков определяли по кольцам зимней задержки роста на продольном спиле створки. Между возрастом и длиной раковины была обнаружена значительная прямая связь ( $r = 0.88$ ,  $p < 0.05$ ) (рис. 2), на основании чего в двух других выборках возрастные ряды формировали, исходя из размеров раковины. В выборке из б. Киевка (10 особей) длина раковины варьировала от 30 до 110 мм, в выборке из прол. Старка (40 особей) — от 26 до 121 мм.

### Сбор, фиксация и анализ гемолимфы

Гемолимфу отбирали из заднего мускула-аддуктора в 0.3 М раствор  $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$  на фильтрованной морской воде, после чего гемоциты в виде клеточных суспензий сразу фиксировали в 4%-ном параформальдегиде. Анализ проводили с помощью светового микроскопа Axioscope (Zeiss, Германия) и проточного цитометра Accuri C6 (Becton Dickinson, США). Методом световой микроскопии определяли морфотипы гемоцитов, окрашенных по Романовскому-Гимзе, оценивали их дифференциальное число и средний диаметр в программе ZEN 2012 (blue edition). Методом проточной цитометрии гемоциты исследовали на предмет средних величин прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния (соответственно размер и уровень структурной сложности клеток), их общей концентрации и распределения по размерно-морфологическим группам (цитометрическим регионам). Детали использованных методик изложены в нашем предыдущем сообщении (Анисимова и др., 2022). Там же дана харак-

теристика клеточного состава гемолимфы *C. grayanus*: гемобласты ( $0.2 \pm 0.1\%$ ), гиалиноциты ( $1.9 \pm 0.3\%$ ), базофильные ( $10.9 \pm 1.4\%$ ), нейтрофильные ( $13.3 \pm 3.0\%$ ) и эозинофильные ( $74.1 \pm 2.9\%$ ) гранулоциты (пропорции рассчитаны для половозрелых мидий размером от 80 до 120 мм из прибрежной зоны о-ва Рейнеке в период половой инертности, конец октября), а также приведены обоснования для выделения методом проточной цитометрии четырех размерно-морфологических групп гемоцитов (регионы R1, R2, R3 и R4) и их соответствия клеточным морфотипам: R1 и R2 — агранулоциты (гемобласты и гиалиноциты соответственно), R3 и R4 — гранулоциты, где R4 преимущественно представлен эозинофильными гранулоцитами с повышенным уровнем структурной сложности (рис. 3). Эти результаты были использованы в настоящей работе.

### Статистический анализ

Нормальность распределения признаков оценивали с помощью теста Колмогорова—Смирнова, уровень значимости различий — с помощью *U*-критерия Манна—Уитни, направление и силу корреляционной связи между признаками — с помощью ранговых корреляций Спирмена при  $p < 0.05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Предварительную оценку возрастной динамики популяции гемоцитов у мидии Грея провели на небольшой июльской выборке из б. Киевка, состоящей из 10 особей размером от 30 до 110 мм. Несмотря на малый объем выборки и нерестовый период, длина раковины оказалась скоррелирована ( $p < 0.05$ ) с рядом гематологических показателей: положительно — с общим числом гемоцитов ( $r = 0.70$ ) и их средним размером, как с диаметром ( $r = 0.64$ ), так и с FSC ( $r = 0.49$ ), и отрицательно — с долей клеток в регионе R2 ( $r = -0.93$ ) и долей гемобластов ( $r = -0.72$ ); последняя, в свою очередь, влияла на средний размер гемоцитов ( $r = -0.84$ ). У половозрелых особей наблюдали два состояния, резко отличавшихся долей эозинофильных гранулоцитов, которая варьировала от 0 до 56% и не коррелировала с длиной раковины.

Чтобы подтвердить факт влияния возраста/размера моллюсков на параметры гемограммы, исследование продолжили на двух репрезентативных выборках — 30 особей из прибрежной зоны о-ва Рейнеке (“осенние” мидии в состоянии половой инертности) и 40 особей из прол. Старка (“летние” мидии в состоянии половой активности). Внутри эталонной осенней выборки корреляционный анализ обнаружил изменение всех ключевых параметров гемограммы с увеличением возраста (табл. 1): росли показатели среднего размера гемоцитов (FSC) и среднего уровня их гранулярности (SSC), а также количество гранулоцитов и доля клеток в R4. В соответствии с этим

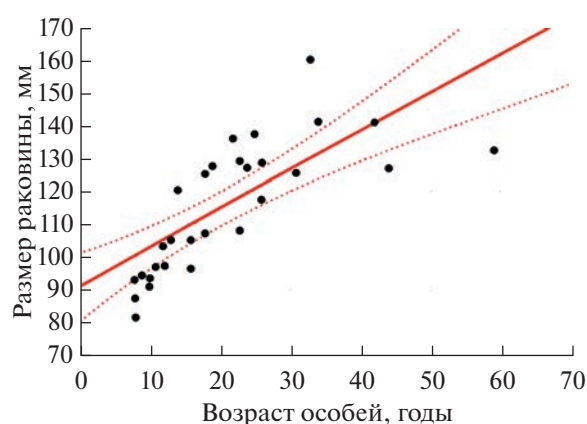
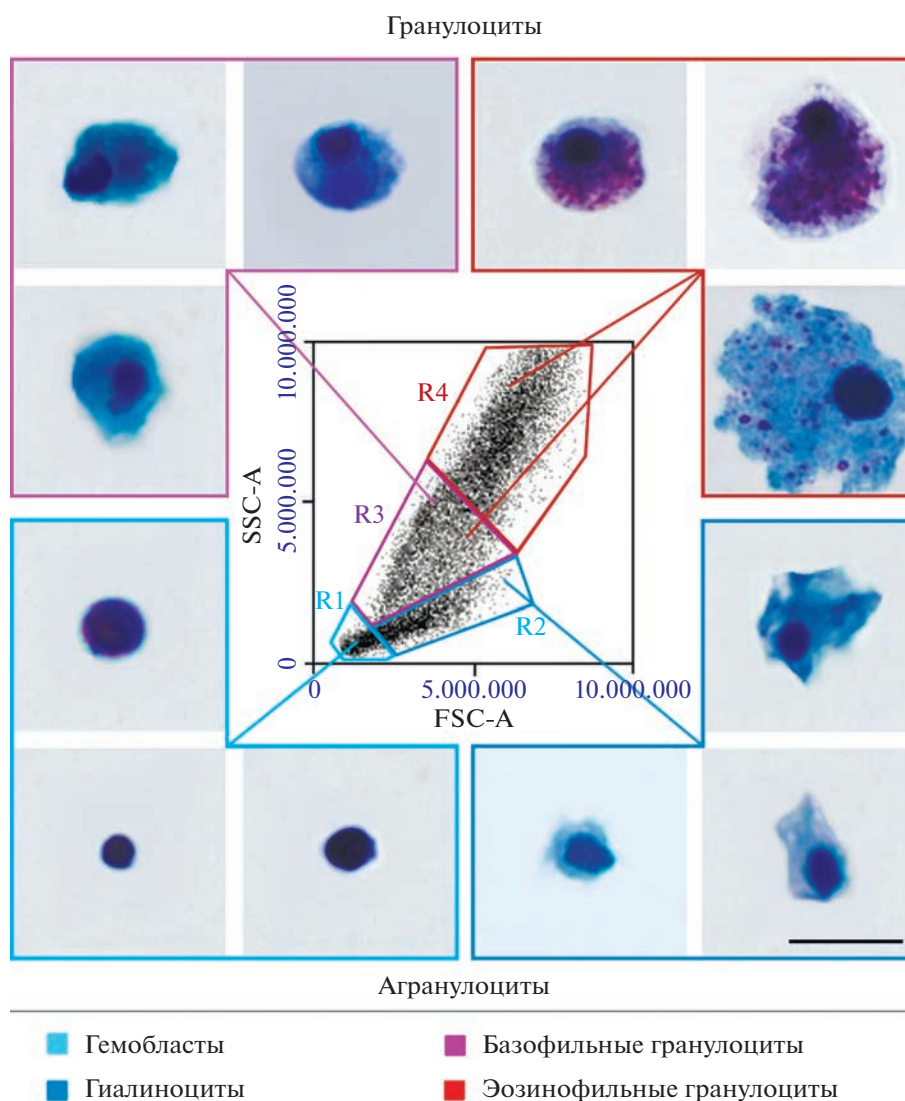


Рис. 2. Связь между длиной раковины и возрастом у двусторчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*. Время сбора моллюсков соответствует периоду половой инертности (конец октября, о-в Рейнеке). Коэффициент ранговой корреляции *r*-Спирмена 0.88 при  $p < 0.05$ .

становилось меньше агранулоцитов, в частности, гиалиноцитов, количество событий в R1 также уменьшалось, что привело к снижению общей концентрации клеток в гемолимфе. Те же закономерности выявлены при использовании длины раковины как косвенного показателя возраста, хотя некоторые корреляции при таком подходе исчезли, а именно: прямая корреляция с SSC и обратные — с общей концентрацией гемоцитов, количеством гиалиноцитов и долей клеток в R1. Помимо корреляционного анализа для оценки возрастной динамики мы применили парные сравнения Манна—Уитни, разбив выборку на две возрастные группы. Разделение на группы проводили поэтапно: сначала выборку разделили пополам, а затем из анализа последовательно исключали особей, находившихся в середине возрастного ряда. Наибольшее количество значимых различий получено при формировании групп по 7 особей. Группу 1 представляли молодые моллюски от 8 до 11 лет (81–97 мм), группу 2 — возрастные особи от 26 до 59 лет (126–160 мм) (рис. 4). При парных сравнениях обнаружены те же тенденции, что и при корреляционном анализе, за исключением снижения концентрации гемоцитов с возрастом (рис. 4а). По сравнению с молодыми, у возрастных мидий были повышены средние значения FSC ( $p = 0.005$ ) и SSC ( $p = 0.003$ ) гемоцитов (рис. 4б) и снижены количества клеток в R1 ( $p = 0.003$ ), R2 ( $p = 0.030$ ) и R3 ( $p = 0.048$ ) за счет прироста числа клеток в R4 ( $p = 0.005$ ) (рис. 4в). Также с возрастом становилось меньше агранулоцитов ( $p = 0.015$ ) вследствие снижения доли гиалиноцитов ( $p = 0.015$ ) и больше гранулоцитов ( $p = 0.015$ ) в результате возрастания доли эозинофилов ( $p = 0.011$ ) (рис. 4г). При этом в обеих группах значительно преобладали гранулоциты, большая часть которых была представлена эозинофильной формой (рис. 4г). В полной выборке из прибрежной зоны о-ва Рейнеке у 10 особей более 95% от



**Рис. 3.** Дифференциация гемоцитов двусторчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* методом проточной цитометрии и схема их позиционирования на гистограмме прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния. R1 – небольшие агранулярные клетки, R2 – слабогранулярные клетки среднего размера, R3 – умеренно-гранулярные клетки среднего размера, R4 – большие гранулярные клетки. Масштабная линейка 10 мкм.

всех клеток были представлены эозинофильными гранулоцитами; в группе молодых мидий среднее их количество составило  $60.3 \pm 8.4\%$  при медиане 67%, а максимальное – 80%, у возрастных –  $85.3 \pm 4.3\%$ , 87 и 99% соответственно. Количество всех гранулоцитов в группе 1 было определено как  $93.9 \pm 3.4\%$  при медиане 97%, в группе 2 – как  $99.6 \pm 0.3\%$  при медиане 100%. Аналогичные тренды получены при группировании особей по размеру раковины.

Для анализа летней выборки мидий из прол. Старка в качестве возрастного маркера использовали длину раковины. Ключевые эффекты, характерные для осенней выборки, были подтверждены и в этом случае: прямые корреляции между длиной раковины и средними значениями FSC

и SSC гемоцитов ( $r = 0.40$  и  $r = 0.41$  соответственно), а также обратная корреляция между длиной раковины и количеством клеток в R1 ( $r = -0.47$ ).

Ту же динамику наблюдали и в парных сравнениях при разделении выборки на две размерные группы. Различия в SSC и количестве клеток в R1 оказались значимыми даже при разделении выборки пополам ( $p = 0.040$  и  $p = 0.014$  соответственно), а различия в FSC ( $p = 0.049$ ) – при разделении на группы по 11 особей (26–76 и 85–121 мм). Наибольшее количество различий получено при разделении на группы по 7 особей: моллюски с длиной раковины 26–72 и 94–121 мм в группе 1 и 2 соответственно (рис. 5). Обозначенные выше тенденции приобрели характер убедительных закономерностей ( $p = 0.021$  для FSC,  $p =$

**Таблица 1.** Корреляции гематологических параметров с возрастом и размером особей у двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* в период половой инертности

| Переменная                               | Ранговые корреляции Спирмена |                                 | <i>r</i> |
|------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|----------|
| Возраст особей, годы<br>(от 8 до 59 лет) | Прямые                       | FSC гемоцитов, усл. ед.         | 0.50     |
|                                          |                              | SSC гемоцитов, усл. ед.         | 0.41     |
|                                          |                              | Доля клеток в регионе R4, %     | 0.52     |
|                                          |                              | Доля гранулоцитов, %            | 0.46     |
|                                          | Обратные                     | Концентрация гемоцитов, шт./мкл | –0.36    |
|                                          |                              | Доля клеток в регионе R1, %     | –0.41    |
|                                          |                              | Доля агранулоцитов, %           | –0.46    |
|                                          |                              | Доля гиалиноцитов, %            | –0.45    |
| Длина раковины, мм<br>(от 81 до 160 мм)  | Прямые                       | FSC гемоцитов, усл. ед.         | 0.50     |
|                                          |                              | Доля клеток в регионе R4, %     | 0.45     |
|                                          | Обратные                     | Доля гранулоцитов, %            | 0.37     |
|                                          |                              | Доля агранулоцитов, %           | –0.36    |

Условные обозначения. *r* – коэффициент ранговой корреляции Спирмена,  $p < 0.05$ .

= 0.005 для SSC и  $p = 0.001$  для R1) (рис. 5б, 5в). Кроме того, были найдены различия в концентрации гемоцитов, которая оказалась выше в группе 2 ( $p = 0.022$ ) (рис. 5а), а также в пропорции базофильных и эозинофильных гранулоцитов ( $p = 0.021$  и  $p = 0.018$  соответственно): первых с увеличением размера раковины стало больше, вторых – меньше (рис. 5г), что подтвердил и корреляционный анализ ( $r = 0.36$ ). Доля базофильных гранулоцитов прямо коррелировала с общим числом клеток ( $r = 0.42$ ).

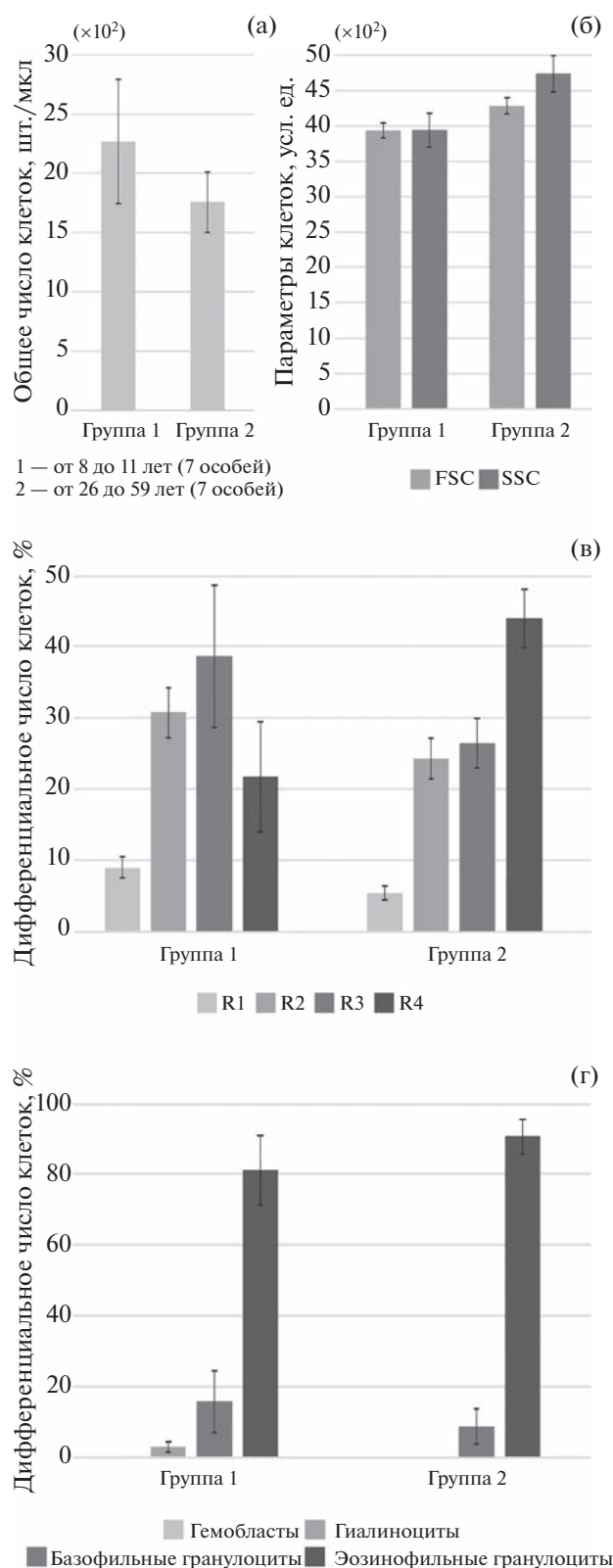
Таким образом, наряду с возрастными трендами, описанными для осенней выборки о-ва Рейнеке, у летних мидий из прол. Старка были выявлены и прямо противоположные эффекты. При объединении мидий всех возрастов и размеров (рис. 6) летняя выборка отличалась от осенней более низкими значениями FSC и SSC гемоцитов ( $p < 0.001$ ), а также более высоким содержанием агранулоцитов (медиана 3% против 2%,  $p = 0.03$ ) и базофильных гранулоцитов (медиана 15% против 10%,  $p = 0.008$ ). Чтобы исключить влияние неоднородности возрастного состава моллюсков на полученные различия, из каждой выборки были отобраны по 20 особей размером от 80 до 120 мм. При этом различия в пропорции гранулоцитов и агранулоцитов исчезли, но значения FSC и SSC гемоцитов у летних мидий по-прежнему были ниже ( $p = 0.004$  и  $p = 0.02$ ), а доля базофильных гранулоцитов – выше ( $p = 0.01$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

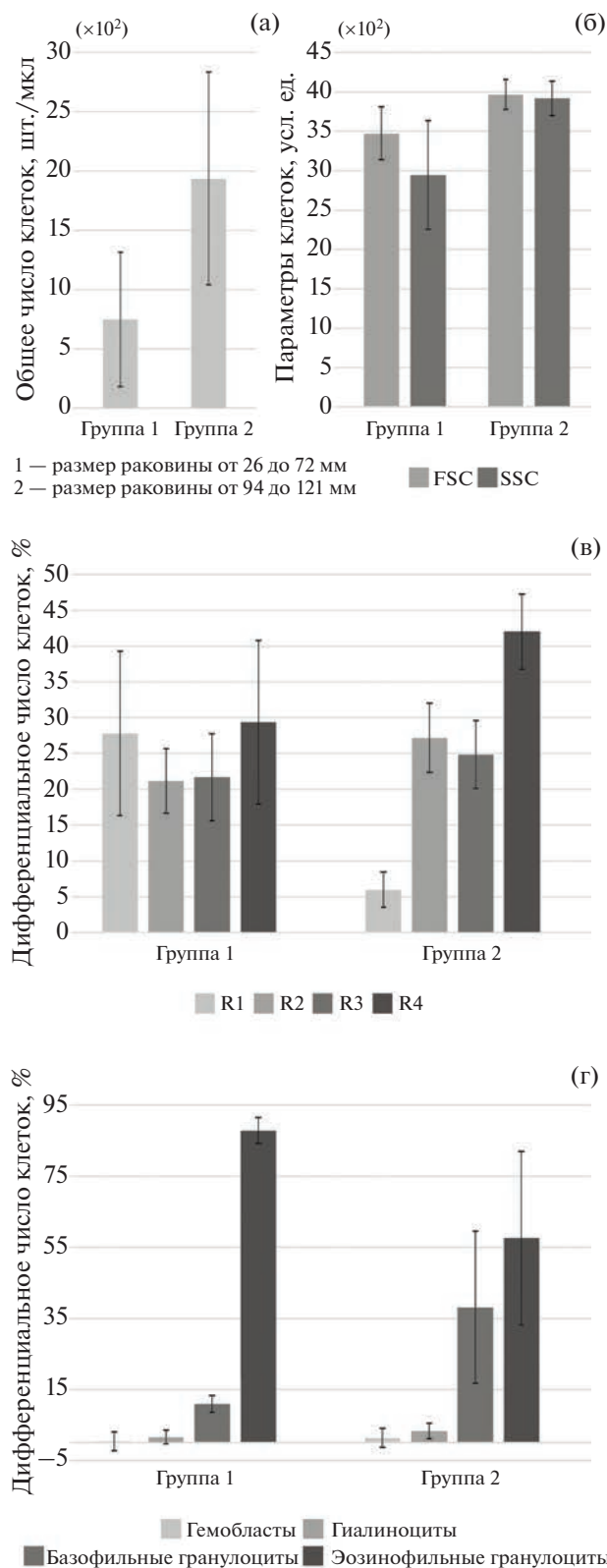
В предыдущем сообщении (Анисимова и др., 2022), посвященном общему анализу гемограммы у мидии Грея *Crenomytilus grayanus*, мы разделили гемоциты этого моллюска на пять морфотипов – гемобласты (малые агранулоциты), гиалиноциты (большие агранулоциты), а также базофильные, нейтрофильные и эозинофильные гранулоциты,

что согласуется с микроскопическими описаниями клеточного состава гемолимфы других митилид (Анисимова, 2012; Pipe et al., 1995; Carballal et al., 1997, 1998; Ottaviani et al., 1998; Wootton et al., 2003; Galimany et al., 2008; Le Foll et al., 2010; Renwrandt et al., 2013; Andreyeva et al., 2019; Burioli et al., 2019; Parrino et al., 2019). При этом в гемолимфе *C. grayanus* гранулоциты существенно преобладали над агранулоцитами, что, судя по всему, является характерной чертой моллюсков этого семейства (Анисимова, 2012; Carballal et al., 1998; Wootton et al., 2003; Le Foll et al., 2010; Renwrandt et al., 2013; Burioli et al., 2019), а наблюдаемые в ряде случаев отклонения от этой пропорции (Andreyeva et al., 2019; Parrino et al., 2019) свидетельствуют о влиянии на гемограмму мидий дополнительных факторов. Иногда разнятся сведения о соотношении гранул разных размеров и аффинности в цитоплазме гранулоцитов. Так, Буриоли и соавторы (Burioli et al., 2019) сообщают, что в гемолимфе исследованных ими мидий *Mytilus edulis* нейтрофильные гранулоциты отсутствовали, базофильные были редкостью, а эозинофильные представляли абсолютное большинство, при этом размер гранул варьировал в одной и той же клетке. Расхождение собственных данных с другими описаниями авторы объясняют разницей в физиологических состояниях и условиях обитания моллюсков.

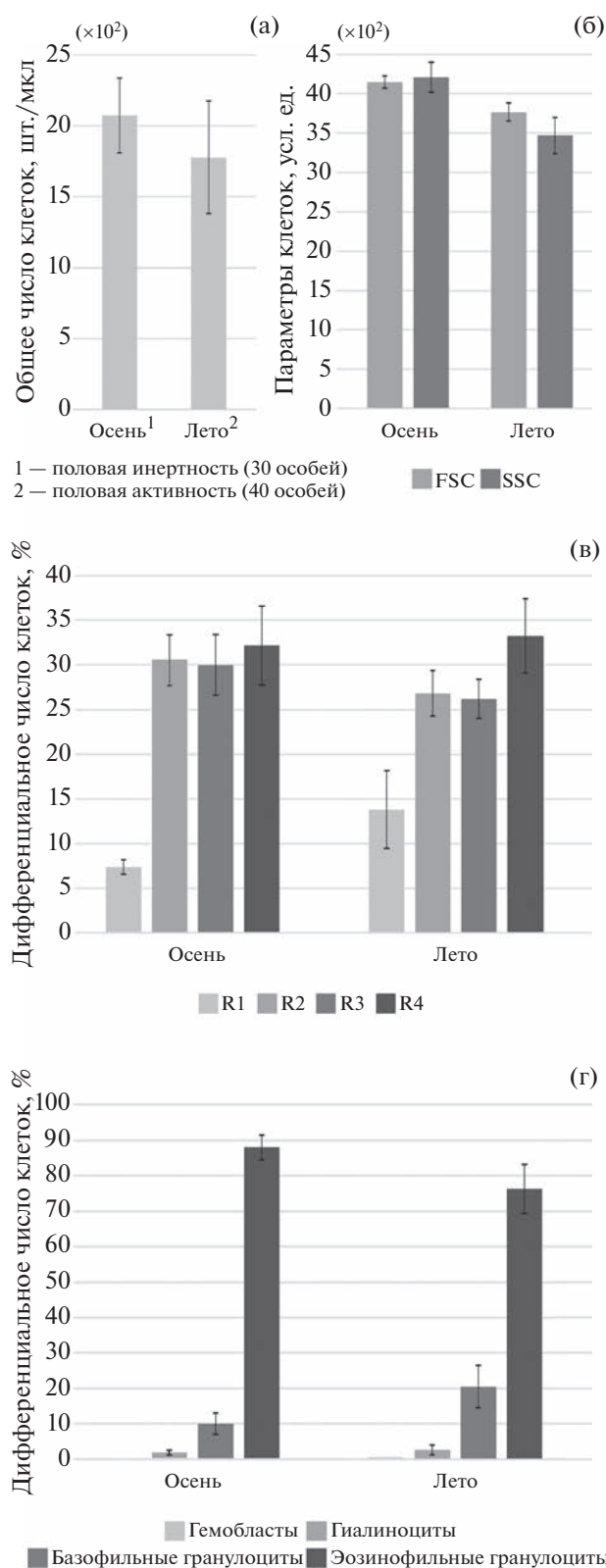
Нами показано, что гемоциты мидии Грея в большинстве случаев могут быть дифференцированы методом проточной цитометрии на четыре группы (региона), исходя из их размера и внутренней структуры, а общая морфология клеток и количественные отношения между разными их структурными типами свидетельствуют в пользу гистогенетической преемственности гиалиноцитов и гранулоцитов (Mih, 1976; Ottaviani et al., 1998; Hine, 1999). Однако из-за высокой лабильности морфофункциональных параметров гемо-



**Рис. 4.** Возраст-зависимые изменения параметров клеточной популяции гемоцитов у двусторчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* в период половой инертности (конец октября, о-в Рейнеке): а — концентрация клеток в гемолимфе (проточная цитометрия), б — средний размер (FSC) и средний уровень гранулярности (SSC) гемоцитов (проточная цитометрия), в — распределение гемоцитов по размеру и гранулярности (проточная цитометрия), г — распределение гемоцитов по морфотипам (световая микроскопия). На графике указаны средние значения в сопровождении 95% доверительных интервалов.



**Рис. 5.** Возраст-зависимые изменения параметров клеточной популяции гемоцитов у двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* в период нереста (начало сентября, прол. Старка): а — концентрация клеток в гемолимфе (проточная цитометрия), б — средний размер (FSC) и средний уровень гранулярности (SSC) гемоцитов (проточная цитометрия), в — распределение гемоцитов по размеру и гранулярности (проточная цитометрия), г — распределение гемоцитов по морфотипам (световая микроскопия). На графике указаны средние значения в сопровождении 95% доверительных интервалов.



**Рис. 6.** Сезонные различия параметров клеточной популяции гемоцитов у двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus*, полученные при сравнении полных возрастных рядов: а – концентрация клеток в гемолимфе (проточная цитометрия), б – средний размер (FSC) и средний уровень гранулярности (SSC) гемоцитов (проточная цитометрия), в – распределение гемоцитов по размеру и гранулярности (проточная цитометрия), г – распределение гемоцитов по морфотипам (световая микроскопия). На графике указаны средние значения в сопровождении 95% доверительных интервалов.

лимфы количество и степень дискретности регионов могут варьировать. Поэтому, несмотря на единство мнений в отношении структурной классификации гемоцитов митилид, количество клеточных “субпопуляций”, выделяемых методом проточной цитометрии, разнится даже для одного и того же вида. Так, гемоциты *M. galloprovincialis* группируются то в 2 (Andreyeva et al., 2019; Parrino et al., 2019), то в 3 (Le Foll et al., 2010; Sendra et al., 2020), то в 4 (Garcia-Garcia et al., 2008) кластера, что лишь подчеркивает последовательный характер и динамичность структурных преобразований в ходе созревания и функционирования клеток фагоцитарного типа.

Анализ клеточной популяции гемоцитов у *C. grayanus*, проведенный в настоящей работе с учетом возраста и/или размера моллюсков, обнаружил закономерности, которые следует трактовать как проявления возрастной динамики. Три выборки были взяты из трех фоновых акваторий Приморья (б. Киевка, прол. Старка и прибрежная зона о-ва Рейнеке) в разные сезоны (середина июля, начало сентября и конец октября соответственно), что позволило параллельно оценить степень влияния сопутствующих природных факторов на возраст-зависимые параметры гемограммы.

В ходе предварительного исследования, проведенного на 10 особях *C. grayanus* из б. Киевка в разгар нереста, была обнаружена прямая корреляция между общим числом клеток в гемолимфе и размером раковины моллюска. При этом у крупных особей был увеличен средний размер гемоцитов (FSC) за счет снижения числа событий в регионе R2, который у мидии Грея сформирован преимущественно молодыми клетками с низким содержанием гранул — гиалиноцитами и базофильными гранулоцитами (Анисимова и др., 2022). В некоторых других работах, напротив, наблюдали обратную корреляцию между концентрацией гемоцитов и их средним размером, но эти эффекты были связаны не с возрастной, а с годовой динамикой. Так, у *Ruditapes philippinarum* рост числа клеток в гемолимфе отмечали в весенне-летний сезон, одновременно с увеличением доли молодых гемоцитов небольшого размера (Soudant et al., 2004). В то же время с увеличением возраста и размера тела количества гиалиноцитов и гранулоцитов в гемолимфе *R. philippinarum* росли пропорционально друг другу (Flye-Sainte-Marie et al., 2009).

В двух других, более репрезентативных выборках мидии Грея, зависимость общей концентрации гемоцитов от возраста оказалась противоречивой. При разделении моллюсков летней выборки из прол. Старка на две размерные группы более крупные мидии также показали увеличение числа циркулирующих клеток по сравнению с мелкими особями; однако корреляционный анализ не подтвердил наличие этой связи. В эталонной осенней выборке из акватории о-ва Рейнеке и вовсе обнаружена обратная корреляция между

числом гемоцитов и возрастом моллюсков при отсутствии соответствующей связи с размером раковины, но при сравнении двух возрастных групп различия не подтвердились. Аналогичное сравнение особей *M. galloprovincialis* разных возрастов также не выявило различий в общей концентрации клеток, но показало более высокое содержание гранулоцитов у возрастных мидий (Carballal et al., 1998; Ottaviani et al., 1998).

Таким образом, общая концентрация клеток в гемолимфе мидий *C. grayanus* проявила себя как параметр, либо не имеющий возрастной динамики, либо в гораздо большей степени подверженный влиянию других причин. Колебания численности клеток в циркуляции могут быть связаны с индивидуальными особенностями метаболизма моллюсков, их разным иммунологическим статусом (активация или подавление иммунитета в связи с заражением), болезнями иммунной системы (повышенная пролиферация клеток в связи с неоплазией), а также сезонными явлениями — изменением температуры воды и периодизацией полового цикла (см. обзоры: Donaghy et al., 2009; Анисимова, 2013; Одинцова, 2020). Так, наблюдаемое у *R. philippinarum* увеличение числа клеток в гемолимфе в весенне-летний сезон авторы объясняют всплеском пролиферации гемоцитов на фоне повышения температуры (Soudant et al., 2004). Результаты оценки влияния природных факторов на гемолимфу моллюсков указывают на их сочетанный эффект. В естественных условиях обитания суммарный вклад внешних воздействий в изменение количества циркулирующих клеток у *R. philippinarum* не превышал 10%, при этом на долю наиболее значимого температурного фактора отводили всего 3.3% от общей вариабельности (Flye-Sainte-Marie et al., 2009). Между тем, половой цикл, который в природе четко скоррелирован с сезонными изменениями температуры воды, существенно влияет на гемограмму моллюсков. К примеру, установлено снижение концентрации гемоцитов у мидий *M. galloprovincialis* (Pipe et al., 1995) и устриц *Crassostrea virginica* (Fisher et al., 1996) в летний сезон; в обоих случаях авторы объясняют это перемещением клеток из гемолимфы в нерестовые гонады. Для устрицы *Crassostrea gigas* аналогичный эффект, полученный в эксперименте, связывают с подавлением пролиферации гемоцитов на фоне гаметогенеза, в пользу которого распределены энергетические ресурсы организма (Delaporte et al., 2006). Наконец, массовый выброс клеток в гемолимфу может быть спровоцирован стрессом различной природы (Malagoli et al., 2007; Renwrantz et al., 2013), тогда как в нормальных физиологических условиях концентрация циркулирующих гемоцитов снижается за счет их адгезии к стенкам гемальных синусов (Renwrantz et al., 2013). Еще раз подчеркнем, что общее количество клеток в гемолимфе, если и

имеет возрастную динамику, то опосредовано множеством дополнительных факторов как внутренних, так и внешних, которые нивелируют возрастные эффекты. Кроме того, если у мидии Грея и были выявлены прямые корреляции, то между числом гемоцитов и размером раковины, в то время как единственная корреляция с реальным возрастом, полученная для осенней выборки, была обратной. Возможно, моллюски с высокой концентрацией гемоцитов и, соответственно, более эффективной иммунной защитой, просто могут достигать более крупных размеров, чем особи того же возраста, у которых концентрация гемоцитов по какой-либо причине снижена.

Что касается среднего размера (FSC) и среднего уровня гранулярности (SSC) гемоцитов, у мидии Грея эти параметры четко и стабильно коррелировали как с возрастом, так и с размером раковины, независимо от сезона и места сбора моллюсков. Удобнее прокомментировать эту закономерность на примере осенней выборки из акватории о-ва Рейнеке, где следует ожидать наиболее чистых возрастных эффектов, не искаженных влиянием нереста. В этом случае динамика средних значений светорассеяния гемоцитов была ассоциирована с возраст-зависимым изменением пропорции клеточных морфотипов.

У возрастных мидий относительное количество гранулоцитов и их эозинофильных форм было выше, чем у молодых, что влияло на соотношение числа событий в цитометрических регионах в сторону увеличения количества клеток в R4 (крупные гемоциты с высоким уровнем гранулярности) и уменьшения в R1 (малые агранулярные гемоциты). Напомним, что накопление гранулоцитов с возрастом отмечали и у *M. galloprovincialis* (Carballal et al., 1998; Ottaviani et al., 1998). В одной из этих работ авторы сообщают об изменении доли гранулоцитов с 8.5% у молодых мидий до 26.6% у возрастных (Ottaviani et al., 1998), в другой — с 70 до 84% соответственно, однако тенденцию к увеличению числа гранулоцитов с возрастом наблюдали только зимой (Carballal et al., 1998). У молодых особей мидии Грея соответствующие значения в осенний период составляли  $93.9 \pm 3.4\%$ , а у возрастных —  $99.6 \pm 0.3\%$ ; в последнем случае почти все гранулоциты могли быть представлены эозинофилами:  $85.3 \pm 4.3\%$  в среднем и до 99% у отдельных особей. Эозинофильные гранулоциты, как известно, наиболее активны в отношении фагоцитоза и продукции АФК, и их можно рассматривать как терминально дифференцированные иммунocyты (Carballal et al., 1997; Wootton et al., 2003; Garcia-Garcia et al., 2008; Le Foll et al., 2010; Andreyeva et al., 2019). Таким образом, возраст-зависимое увеличение числа гранулоцитов, отмеченное и в других работах, по-видимому, должно быть связано с усилением иммунитета. У моллюсков *Chamelea gallina*, которым свойственно преобладание гиалиноцитов над гранулоцитами, концентрация последних все же повышалась с

увеличением размера тела, при этом закономерно росли и показатели фагоцитоза (Mosca et al., 2011). В то же время у *R. philippinarum* на фоне одновременного увеличения числа гранулоцитов и гиалиноцитов с возрастом наблюдали снижение доли клеток, вовлеченных в фагоцитоз (Flye-Sainte-Marie et al., 2009), что, вероятно, следует расценивать как проявление возрастной динамики без изменения пропорции молодых и зрелых клеточных форм, либо объяснять дополнительным влиянием какого-то сопутствующего фактора. Принимая во внимание модель последовательного созревания гиалиноцитов в гранулоциты в ходе гемопоэза у *Bivalvia* (Mix, 1976; Ottaviani et al., 1998; Hine, 1999), к которой склоняемся и мы (Анисимова и др., 2022), можно предположить, что у мидий скорость обновления популяции гемоцитов с возрастом снижается, за счет чего происходит смещение пропорции морфотипов в пользу терминально дифференцированных клеток — эозинофильных гранулоцитов. Возможно, этим и объясняется типичное для митилид преобладание гранулоцитов над агранулоцитами.

Основные события, связанные с размножением гемоцитов, у двустворчатых моллюсков происходят не в гемолимфе. Так, у устриц в подлежащем слое жаберного эпителия вблизи сосудов были обнаружены клетки, совмещающие пролиферативную активность с экспрессией генов Sox2 (один из маркеров стволовых клеток) и Cu/Zn-супероксиддисмутазы (маркер гемопоэза) (Jemaà et al., 2014). Массовое размножение клеток в гемолимфе двустворчатых моллюсков, как правило, ассоциировано с гемической неоплазией (см. обзор: Одинцова, 2020), хотя и в этом случае митотическая активность клеток в гемолимфе больных мидий может оставаться низкой, что подразумевает их активную пролиферацию в других тканях (Burioli et al., 2019; Skazina et al., 2021). Тем не менее, как репликативная (Mix, 1976; Renwrautz et al., 2013), так и митотическая (Matozzo et al., 2008; Cima, Matozzo, 2018) активности свойственны циркулирующим гемоцитам *Bivalvia* даже в отсутствии их опухолевой трансформации или иммунологической стимуляции. У *M. edulis* до 9.5% клеток в гемолимфе включали предшественник синтеза ДНК бромдезоксидеоксиридин без каких-либо митогенных стимулов, а после инъекции митогенов или отбора некоторого количества гемолимфы из аддуктора уровень пролиферации возрастал до 10–20% (Renwrautz et al., 2013). У *R. philippinarum* в течение 15 дней после экспериментального заражения бактериями пролиферативную активность начинали проявлять разные типы гемоцитов (Cima, Matozzo, 2018), хотя в отсутствии такой стимуляции митозы были обнаружены только в гемобластах (Matozzo et al., 2008; Cima, Matozzo, 2018). Анализ митотического цикла гемоцитов у мидии Грея, независимо от возраста и сезона, не выявил сколько-нибудь значимую их пролифера-

цию, даже среди гемобластов (Анисимова и др., 2022). Мы полагаем, что это отражает видовую особенность кинетики клеточных популяций *C. grayanus* — низкую скорость их обновления и, соответственно, долгий период жизни дифференцированных клеток, что может быть характерной чертой малоподвижных, а также долгоживущих организмов, к которым относится мидия Грея (Явнов, 2000). Некоторые факты демонстрируют радикальные отличия в стратегии поддержания тканевого гомеостаза у коротко- и долгоживущих видов. Так, долгоживущий моллюск *Arctica islandica* сохраняет стабильно высокий уровень антиоксидантной защиты в клетках мантии и жабр в возрастном диапазоне от 30 до 200 лет (Abele et al., 2008; цит. по: Strahl, Abele, 2010), за счет чего, вплоть до этого возраста, концентрация белковых карбониллов, появляющихся в результате окисления белков, остается низкой. В то же время в мантии короткоживущего гребешка *Aequipecten opercularis* всего лишь в течение двух лет наблюдали значительное снижение уровня антиоксидантной защиты и, соответственно, повышение концентрации белковых карбониллов до уровня 200-летних *A. islandica* (Strahl et al. 2007; цит. по: Strahl, Abele, 2010). Энегросберегающий стиль жизни *A. islandica* сокращает уровень окислительных повреждений и позволяет сохранять стабильное число клеток без частого их обновления, а высокозатратный метаболизм подвижного *A. opercularis*, коррелирующий с малой продолжительностью жизни, требует активной ротации клеточных популяций за счет высоких уровней пролиферации и апоптоза (Strahl, Abele, 2010). Описанные различия, по всей видимости, должны влиять и на функционирование системы клеточного иммунитета. Известно, что сила иммунного ответа и устойчивость к одним и тем же воздействиям не одинаковы у моллюсков разных видов, хотя эти свойства не всегда коррелируют с количеством гранулоцитов. Так, сравнение целого ряда иммунологических показателей у *Cerastoderma edule*, *Ensis siliqua* и *M. edulis* дает основание полагать, что у мидий при сходных параметрах гемограммы система иммунитета действует более эффективно, чем у двух других исследованных видов (Wootton et al., 2003). Вопрос видовой иммунологической специфики остается предметом обсуждений и требует дальнейших исследований с учетом комплексной характеристики объектов.

В летних выборках мидии Грея, несмотря на сохранение прямой корреляции между длиной раковины моллюска и средними показателями размера и гранулярности гемоцитов, возрастная динамика имела особенности. В июльской выборке из б. Киевка содержание эозинофильных гранулоцитов не зависело от возраста. В сентябрьской выборке из прол. Старка и вовсе с возрастом происходило снижение доли эозинофиль-

ных гранулоцитов, а относительное количество базофильных гранулоцитов росло пропорционально общему количеству клеток в циркуляции. Более того, исчезала прямая корреляция между размером тела и количеством всех гранулоцитов. В б. Киевка была отмечена дифференциация половозрелых особей на две группы по содержанию эозинофилов, что могло быть связано с асинхронностью вступления моллюсков в нерест. В этот период, как уже отмечалось выше, происходит перераспределение гранулоцитов между гемолимфой и гонадами, которое может быть настолько радикальным, что полностью инвертирует пропорцию морфотипов. Так, у *Corbicula japonica* в летний сезон из циркуляции практически полностью исчезали крупные гранулоциты (Анисимова и др., 2017). Нельзя исключить и влияние сезонных патогенов, которые могли спровоцировать как пролиферацию молодых гемоцитов, так и миграцию зрелых функционально активных фагоцитов в участки поражения для обеспечения локального иммунного ответа. Полагают, что не пролиферация, а именно перераспределение гемоцитов является причиной резких колебаний общего и дифференциального числа клеток в гемолимфе мидий. Например, рост относительного числа молодых базофильных клеток в гемолимфе *M. edulis*, вызванный инвазией токсичных микроводорослей, наблюдали одновременно со скоплением зрелых гранулоцитов вокруг пищеварительной железы — основной мишени токсического поражения (Galimany et al., 2008). Сходным образом при экспериментальном воздействии бактериальными липополисахаридами у *M. edulis* отмечали увеличение доли базофильных гранулоцитов на фоне снижения общей концентрации клеток и исчезновения эозинофильных гранулоцитов из циркуляции (Renwranz et al., 2013).

Итак, у *C. grayanus*, как и у других митилид, возрастная динамика популяции гемоцитов оказалась связана с увеличением средних показателей размера и гранулярности клеток за счет накопления в гемолимфе высококодифференцированных форм — эозинофильных гранулоцитов. Опосредованная сезоном стадия полового цикла и, очевидно, ряд сопутствующих внешних факторов оказывали влияние на соотношение клеточных морфотипов в гемолимфе, а общая концентрация гемоцитов хоть прямо и не зависела от возраста моллюска, но положительно коррелировала с количеством молодых базофильных гранулоцитов. Последний факт противоречит экспериментальным данным Ренвранца и соавторов (Renwranz et al., 2013), согласно которым повышение доли базофильных гранулоцитов у *M. edulis* коррелировало с уменьшением общего числа гемоцитов, что было связано с оттоком эозинофильных гранулоцитов в ткани. Однако примечательно, что в данной работе включения бромдеоксиуридина наблюдали только в ядрах базофильных гранулоцитов, а это указывает на их участие в восстановлении запаса функционально

активных эозинофильных гранулоцитов, которые затем покидали циркуляторное русло. Таким образом, выявленные в нашем исследовании прямые связи между общей концентрацией гемоцитов, количеством базофильных гранулоцитов и размером тела моллюска в летний сезон могут отражать повышенную готовность возрастных мидий к быстрому восполнению пула циркулирующих клеток, определяя их устойчивость к сезонным факторам, требующим экстренной мобилизации системы иммунитета.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке ДВФУ (Программа стратегического академического лидерства “Приоритет-2030”: Мировой океан).

### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят ст.н.с. лаборатории физиологии ННЦМБ ДВО РАН В.Я. Кавуна за содействие в сборе материала и ст.н.с. лаборатории систематики и морфологии ННЦМБ ДВО РАН Н.И. Селина за определение возраста моллюсков.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анисимова А.А. Идентификация клеточных субпопуляций гемоцитов *Modiolus kurilensis* (Bernard, 1983) (Bivalvia: Mytilidae) методами проточной цитометрии и световой микроскопии // Биол. моря. 2012. Т. 38. № 5. С. 400–408.
- Анисимова А.А. Морфофункциональные параметры гемоцитов в оценке физиологического состояния двустворчатых моллюсков // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 6. С. 389–399.
- Анисимова А.А., Пономарева А.Л., Гринченко А.В. и др. Состав и сезонная динамика клеточной популяции гемоцитов двустворчатого моллюска *Corbicula japonica* Prime, 1864 из эстуария реки Киевка (бассейн Японского моря) // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 2. С. 125–132.
- Анисимова А.А., Дягилева М.Н., Карушева О.А. и др. Состав и кинетика клеточной популяции гемоцитов у двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) // Биол. моря. 2022. Т. 48. № 4. С. 251–261.
- Одинцова Н.А. Лейкемия-подобный рак у двустворчатых моллюсков // Биол. моря. 2020. Т. 46. № 2. С. 75–84.
- Явнов С.В. Атлас двустворчатых моллюсков дальневосточных морей России. Владивосток: Дюма. 2000. 168 с.
- Andrejeva A.Y., Efremova E.S., Kukhareva T.A. Morphological and functional characterization of hemocytes in cultivated mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and effect of hypoxia on hemocyte parameters // Fish Shellfish Immunol. 2019. V. 89. P. 361–367.
- Batel I., Fafandel M., Smolaka Tanković M. et al. Cell cycle alterations in the mussel *Mytilus galloprovincialis* hemocytes caused by environmental contamination // Acta Adriat. 2018. V. 59. № 2. P. 161–172.
- Burioli E.A.V., Trancart S., Simon A. et al. Implementation of various approaches to study the prevalence, incidence and progression of disseminated neoplasia in mussel stocks // J. Invertebr. Pathol. 2019. V. 168. 107271. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107271>
- Carballal M.J., López C., Azevedo C., Villalba A. In vitro study of phagocytic ability of *Mytilus galloprovincialis* Lmk. Haemocytes // Fish Shellfish Immunol. 1997. V. 7. № 6. P. 403–416.
- Carballal M.J., Villalba A., López C. Seasonal variation and effects of age, food availability, size, gonadal development, and parasitism on the hemogram of *Mytilus galloprovincialis* // J. Invertebr. Pathol. 1998. V. 72. № 3. P. 304–312.
- Cima F., Matozzo V. Proliferation and differentiation of circulating haemocytes of *Ruditapes philippinarum* as a response to bacterial challenge // Fish Shellfish Immunol. 2018. V. 81. P. 73–82.
- Delaporte M., Soudant P., Lambert C. et al. Impact of food availability on energy storage and defense related hemocyte parameters of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* during an experimental reproductive cycle // Aquaculture. 2006. V. 254. № 1–4. P. 571–582.
- Donaghy L., Lambert C., Choia K-S., Soudant P. Hemocytes of the carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) and the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*): current knowledge and future prospects // Aquaculture. 2009. V. 297. № 1–4. P. 10–24.
- Dos Santos F.S., Neves R.A., Crapez M.A.C. et al. How does the brown mussel *Perna perna* respond to environmental pollution? A review on pollution biomarkers // J. Environ. Sci. 2022. V. 111. P. 412–428. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2021.04.006>
- Farrington J.W., Tripp B.W., Tanabe S. et al. Edward D. Goldberg’s proposal of “the Mussel Watch”: Reflections after 40 years // Mar. Pollut. Bull. 2016. V. 110. № 1. P. 501–510.
- Fisher W.S., Oliver L.M., Edwards P. Hematologic and serologic variability of Eastern oysters from Apalachicola Bay, Florida // J. Shellfish Res. 1996. V. 15. № 3. P. 555–564.
- Flye-Sainte-Marie J., Soudant P., Lambert C. et al. Variability of the hemocyte parameters of *Ruditapes philippinarum* in the field during an annual cycle // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2009. V. 377. № 1. P. 1–11.
- Galimany E., Place A.R., Ramón M. et al. The effects of feeding *Karlodinium veneficum* (PLY # 103; *Gymnodinium veneficum* Ballantine) to the blue mussel *Mytilus edulis* // Harmful Algae. 2008. V. 7. № 1. P. 91–98.
- Garcia-Garcia E., Prado-Alvarez M., Novoa B. et al. Immune responses of mussel hemocyte subpopulations are differentially regulated by enzymes of the PI 3-K, PKC, and ERK kinase families // Dev. Comp. Immunol. 2008. V. 32. № 5. P. 637–653.

- Hine P.M. The inter-relationships of bivalve haemocytes // Fish Shellfish Immunol. 1999. V. 9. № 5. P. 367–385.
- Jemaà M., Morin N., Cavalier P. et al. Adult somatic progenitor cells and hematopoiesis in oysters // J. Exp. Biol. 2014. V. 217. № 17. P. 3067–3077.
- Le Foll F., Rioult D., Boussa S., Pasquier J. Characterisation of *Mytilus edulis* hemocyte subpopulations by single cell time-lapse motility imaging // Fish Shellfish Immunol. 2010. V. 28. № 2. P. 372–386.
- Malagoli D., Casarini L., Sacchi S., Ottaviani E. Stress and immune response in the mussel *Mytilus galloprovincialis* // Fish Shellfish Immunol. 2007. V. 23. № 1. P. 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.10.004>
- Matozzo V., Marin M.G., Cima F., Ballarin L. First evidence of cell division in circulating haemocytes from the Manila clam *Tapes philippinarum* // Cell Biol. Int. 2008. V. 32. № 7. P. 865–868.
- 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.
- Mix M.C. A general model for leukocyte cell renewal in bivalve mollusks // Mar. Fish. Rev. 1976. V. 38. № 10. P. 37–41.
- Mosca F., Narcisi V., Cargini D. et al. Age-related properties of the Adriatic clam *Chamelea gallina* (L. 1758) hemocytes // Fish Shellfish Immunol. 2011. V. 31. № 6. P. 1106–1112. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.09.017>
- Oliver L.M., Fisher W.S. Appraisal of prospective bivalve immunomarkers // Biomarkers. 1999. V. 4. № 6. P. 510–530.
- Ottaviani E., Franchini A., Barbieri D., Kleisas D. Comparative and morphofunctional studies on *Mytilus galloprovincialis* hemocytes: Presence of two aging-related hemocyte stages // Ital. J. Zool. 1998. V. 65. № 4. P. 349–354.
- Parrino V., Costa G., Cannavà C. et al. Flow cytometry and micro-Raman spectroscopy: Identification of hemocyte populations in the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae) from Faro Lake and Tyrrhenian Sea (Sicily, Italy) // Fish Shellfish Immunol. 2019. V. 87. P. 1–8.
- Pipe R.K., Coles J.A., Thomas M.E. et al. Evidence for environmentally derived immunomodulation in mussels from the Venice Lagoon // Aquat. Toxicol. 1995. V. 32. № 1. P. 59–73. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)00076-3](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00076-3)
- Renault T. Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves // Fish Shellfish Immunol. 2015. V. 46. № 1. P. 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.04.011>
- Renwrtantz L., Siegmund E., Woldmann M. Variations in hemocyte counts in the mussel, *Mytilus edulis*: similar reaction patterns occur in disappearance and return of molluscan hemocytes and vertebrate leukocytes // Comp. Biochem. Physiol., Part A: Mol. Integr. Physiol. 2013. V. 164. № 4. P. 629–637.
- Sendra M., Carrasco-Braganza M.I., Yeste P.M. et al. Immunotoxicity of polystyrene nanoplastics in different hemocyte subpopulations of *Mytilus galloprovincialis* // Sci. Rep. 2020. V. 10. № 1. article ID 8637. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65596-8>
- Skazina M., Odintsova N., Maiorova M. et al. First description of a widespread *Mytilus trossulus*-derived bivalve transmissible cancer lineage in *M. trossulus* itself // Sci. Rep. 2021. V. 11. № 1. article ID 5809. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85098-5>
- Soudant P., Paillard C., Choquet G. et al. Impact of season and rearing site on the physiological and immunological parameters of the Manila clam *Venerupis* (= *Tapes* = *Ruditapes*) *philippinarum* // Aquaculture. 2004. V. 229. № 1–4. P. 401–418. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00352-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00352-1)
- Strahl J., Abele D. Cell turnover in tissues of the long-lived ocean quahog *Arctica islandica* and the short-lived scallop *Aequipecten opercularis* // Mar. Biol. 2010. V. 157. № 6. P. 1283–1292.
- Wootton E.C., Dyrinda E.A., Ratcliffe N.A. Bivalve immunity: comparisons between the marine mussel (*Mytilus edulis*), the edible cockle (*Cerastoderma edule*) and the razor-shell (*Ensis siliqua*) // Fish Shellfish Immunol. 2003. V. 15. № 3. P. 195–210. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(02\)00161-4](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(02)00161-4)

## Age-Related and Seasonal Dynamics of Hemocyte Population in the Mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853)

A. A. Anisimova<sup>a</sup>, M. N. Diagileva<sup>a</sup>, A. V. Sinenko<sup>a</sup>, and I. A. Dmitrieva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute of the World Ocean, Far Eastern Federal University, Vladivostok 690922, Russia

The cellular composition of the hemolymph of the mussel *Crenomytilus grayanus* is represented by hemoblasts, hyalinocytes, basophilic, neutrophilic and acidophilic granulocytes with a significant predominance of the latter. With the age of the mollusk, the average values of the size and granularity of hemocytes increased due to accumulation of granulocytes in the hemolymph (up to 100% of all cells) and their mature highly differentiated acidophilic forms (up to 99% of all cells); this indicates a decrease in the rate of renewal of the cell population. During the autumn period of sexual inertia, the number of cells in the hemolymph of mussels decreased with increasing age of mollusks but without any correlation with the shell size. However, in summer, during the spawning period, the concentration of hemocytes either did not change or increased with increasing body size, directly correlating with the number of young basophilic granulocytes. This correlation may indicate either a relationship between the number of hemocytes and the ability of mussels to reach large sizes, or a higher potency in aged mussels for emergency mobilization of the immune system in the summer season through rapid replenishment of the pool of circulating cells with subsequent redistribution of young and mature cell forms between hemolymph and the internal organs.

**Keywords:** hemocytes, hematopoiesis, age, season, mussels, *Crenomytilus grayanus*, Mytilidae, Bivalvia

УДК 591.13.15

## МОДЕЛЬ СТОХАСТИЧЕСКОГО РОСТА МИНТАЯ *GADUS CHALCOGRAMMUS* (PALLAS, 1814)

© 2023 г. В. В. Суханов<sup>1, 2, \*</sup>

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

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690001, Россия

\*e-mail: vsukhan@mail.ru

Поступила в редакцию 27.09.2022 г.

После доработки 24.11.2022 г.

Принята к публикации 24.11.2022 г.

Предлагается математическая модель, описывающая возрастную динамику вектора средних и ковариационной матрицы признаков особей сахалинской популяции минтая *Gadus chalcogrammus* (Pallas, 1814). Модель базируется на уравнениях Берталанффи и Гомпертца. Ковариационная матрица складывается из двух частей: шумовой (вызванной быстрыми случайными флюктуациями условий внешней среды) и структурной (обусловленной внутрипопуляционной изменчивостью параметров, входящих в уравнения роста). Модель неплохо воспроизводит возрастную динамику распределения рыб по количественным признакам особей. Описывается возрастное увеличение, прохождение через максимум в молодом возрасте, последующее снижение дисперсий и их стабилизация на низких уровнях у длины и массы тела взрослых рыб. Объясняется возрастное снижение корреляции между длиной и массой тела.

**Ключевые слова:** Уравнение Фоккера—Планка—Колмогорова, модель Берталанффи—Гомпертца, ковариационная матрица длины и массы тела, шумовая и структурная изменчивость признаков

**DOI:** 10.31857/S0134347523020080, **EDN:** DVWGFD

Изучение изменчивости признаков у организмов составляет одно из важных направлений теоретической биологии. Организмы растут в процессе взросления. В этом процессе изменчивость их признаков также демонстрирует закономерную динамику. Количественное описание таких закономерностей представляется важным как в теоретическом плане (выявление общих законов, управляющих онтогенетической изменчивостью), так и в прикладных аспектах (более точные расчеты популяционной структуры, управление искусственным отбором по размерам особей).

Полезную роль здесь должны играть математические модели стохастического роста организмов. С их помощью большое количество фактической информации можно свернуть в малый набор модельных параметров, а затем работать уже не с исходными эмпирическими таблицами, а с аппроксимирующими их модельными уравнениями. Одна из моделей, претендующих на такую роль, предлагается в настоящей статье. Эта модель представляет собой дальнейшее развитие идей, изложенных в ранней работе автора (Суханов, 1980).

### Построение модели

Случайный процесс роста особи опишем системой стохастических дифференциальных уравнений следующего вида:

$$\frac{dx_i}{dt} = f_i(x_i) + g_i(x_i)n_i(t); \quad i = 1, \dots, m.$$

Здесь  $t$  — время (возраст поколения);  $x_i$  — значение  $i$ -го элемента в векторе, включающем  $m$  количественных признаков особи;  $f_i$  и  $g_i$  — функции от  $x_i$ , которые будут определены далее;  $n_i(t)$  — белый гауссовский шум в смысле Ито (Тихонов, Миرون, 1977) с нулевой средней, отражающий влияние быстрых случайных флюктуаций среды на рост данного  $i$ -го признака.

Согласно модели, средняя скорость роста  $i$ -го признака, описываемая функцией  $f_i(x_i)$ , не зависит от значений остальных признаков. Это существенное упрощение модели вводится в самом начале для более понятного изложения. Материалы по росту минтая не дают оснований для построения более общей модели (Sukhanov, 2019) со взаимовлияниями признаков.

Несмотря на отсутствие детерминированных взаимодействий, признаки могут быть сцеплены друг с другом посредством статистических взаимосвязей. Один из важных типов таких взаимосвязей проявляется в коррелированности между белыми шумами  $n_i(t)$  и  $n_j(t)$  для признаков  $x_i$  и  $x_j$ .

Данное обстоятельство заставляет рассматривать совокупность представленных стохастических уравнений именно как взаимосвязанную систему. Этой системе соответствует следующее уравнение Фоккера-Планка-Колмогорова:

$$\frac{\partial P}{\partial t} = - \sum_{i=1}^m \frac{\partial}{\partial x_i} \left[ f_i(x_i) P - \frac{1}{2} \sum_{j=1}^m \frac{\partial}{\partial x_j} (\rho_{ij} \beta_i \beta_j g_i(x_i) g_j(x_j) P) \right]. \quad (1)$$

Здесь  $P = P(x_1, \dots, x_m, t)$  — совместная вероятностная плотность распределения признаков  $x_1, \dots, x_m$  в момент времени  $t$ , постоянная  $\beta_i^2 = \text{const}$  — интенсивность белого шума для  $i$ -го признака,  $\rho_{ij} = \text{const}$  — коэффициент корреляции между шумами для  $i$ -го и  $j$ -го признаков, причем  $\rho_{ii} = 1$ .

Для нахождения приближенного решения уравнения (1) воспользуемся методом интегральных моментов (Коздоба, 1975; Тихонов, Миронов, 1977). В результате умножения правой и левой части этого уравнения на сомножители вида  $x_i, x_i^2, x_i x_j$  и последующего интегрирования по пространству состояний  $(x_1, \dots, x_m)$  исходное уравнение (1) в частных производных заменяется системой обыкновенных дифференциальных уравнений. Эти уравнения описывают возрастную динамику вектора средних арифметических и динамику ковариационной матрицы у распределения  $P$ . Для нашей модели (1) данная система имеет вид:

$$\begin{aligned} \frac{dE_i}{dt} &= f_i(E_i); \\ \frac{dv_{ij}}{dt} &= \rho_{ij} \beta_i \beta_j g_i(E_i) g_j(E_j) + \\ &+ \left( \frac{\partial f_i(E_i)}{\partial E_i} + \frac{\partial f_j(E_j)}{\partial E_j} \right) v_{ij}, \end{aligned} \quad (2)$$

где  $i, j = 1, \dots, m$ ;  $E_i$  — средняя арифметическая для  $i$ -го признака;  $v_{ij}$  — ковариация между  $i$ -м и  $j$ -м признаками; функция  $f_i(E_i)$  имеет своим аргументом “свою” среднюю арифметическую  $E_i$ , то же относится и к функциям  $g_i(E_i)$ ; параметры  $\rho_{ij}, \beta_i, \beta_j$  сохраняют прежний смысл.

В большинстве практически важных случаев распределение  $P$  можно аппроксимировать  $m$ -мерным нормальным законом. Тогда система (2) вместе с заданными начальными условиями исчерпывающе определяет возрастную динамику такого распределения. Отметим, что нормальное распределение стремится к нулю при  $x_i \rightarrow \pm\infty$ . Тем самым обеспечивается выполнение естественных граничных условий, использованных при интегрировании уравнения (1).

Таким образом, быстрые случайные шумовые флуктуации условий внешней среды, действующие на растущий организм, приводят к возникновению особого рода изменчивости признаков. Назовем ее шумовой изменчивостью (рис. 1а). Кроме нее в дисперсионной матрице присутствует еще один компонент. Он обусловлен генетической изменчивостью и разнообразием местообитаний популяции. Подобного рода изменчивость воплощается в вариабельности параметров, входящих в уравнения роста признаков. Такую изменчивость мы будем называть параметрической или структурной (рис. 1б). Перейдем к ее модельному описанию.

Пусть в функции  $x_i(t), \dots, x_m(t)$ , описывающие траектории признаков во времени, входит вектор параметров роста  $p_1, \dots, p_n$ . Численные значения этих параметров (коэффициентов функций) варьируют от особи к особи. Пусть  $Q$  означает ковариационную матрицу, описывающую их популяционную изменчивость. В соответствии с Томовичем и Вукобратовичем (1972), отклик величины признака  $x_i$  на малые вариации  $l$ -го параметра  $p_l$  назовем коэффициентом чувствительности и обозначим как  $\phi_{il} = \partial x_i / \partial p_l$ . Выведем уравнения возрастной динамики для коэффициентов  $\phi_{il}$ .

Вернемся к уравнению роста  $dx_i/dt = f_i(x_i, p_1, \dots, p_n)$ , в котором опустим за ненадобностью слагаемое  $g_i(x_i)$ , поскольку шумовую изменчивость мы уже описали. Продифференцируем правую и левую части этого уравнения по параметру  $p_l$ :  $\partial(dx_i/dt)/\partial p_l = (\partial f_i/\partial p_l) + (\partial f_i/\partial x_i)(\partial x_i/\partial p_l)$ . Здесь использовано цепное правило. Изменим порядок дифференцирования левой части этого равенства:  $\partial(dx_i/dt)/\partial p_l = d(\partial x_i/\partial p_l)/dt$ . С учетом обозначения  $\phi_{il} = \partial x_i/\partial p_l$  получаем:

$$\frac{d\phi_{il}}{dt} = \frac{\partial f_i}{\partial p_l} + \frac{\partial f_i}{\partial x_i} \phi_{il}; \quad i = 1, \dots, m; \quad l = 1, \dots, n. \quad (3)$$

Эта система уравнений определяет возрастную динамику коэффициентов чувствительности. Дифференцированием по параметрам начальных условий для  $x_i$  при  $t = 0$  можно задать начальные условия для  $\phi_{il}$ , так что  $\phi_{il}|_{t=0} = \partial x_i/\partial p_l$ . Таким об-

разом, решение уравнений (3) определяет возрастную динамику коэффициентов чувствительности  $\varphi_{il}$ .

Пусть нам известна ковариационная матрица параметров  $Q = \|q_{lh}\|$ ;  $l, h = 1, \dots, n$ . Воспользуемся формулой переноса ошибок (Бард, 1979) и вычислим структурную ковариацию  $S_{ij}$  между признаками  $x_i$  и  $x_j$ , задающую параметрическую изменчивость в кривых роста особей:

$$S_{ij} = \sum_{l=1}^n \left[ \varphi_{il} \varphi_{jl} q_{ll} + \sum_{h=l+1}^n q_{lh} (\varphi_{il} \varphi_{jh} + \varphi_{ih} \varphi_{jl}) \right]. \quad (4)$$

Общая ковариационная матрица  $\|\sigma_{ij}^2\|$  складывается из двух компонентов: шумовой матрицы  $\|v_{ij}\|$  и структурной (параметрической) матрицы  $\|S_{ij}\|$ :

$$\sigma_{ij}^2 = v_{ij} + S_{ij}; \quad i, j = 1, \dots, m. \quad (5)$$

Как отдельные слагаемые в правой части этого равенства, так и их сумма изменяются в соответствии с полученными выше уравнениями (2, 3 и 4).

Подведем итоги данного раздела. Мы разделили параметры модели на две группы. В первую группу входят параметры роста, быстро и случайно флуктуирующие во времени. Они не фигурируют в модельных уравнениях детерминированного роста явно, а задаются в форме белых гауссовских шумов. Эти параметры порождают описанную выше шумовую изменчивость в признаках организма.

Во вторую группу входят параметры, медленно изменяющиеся во времени — так, что в течение жизни особи их можно считать постоянными. Естественная вариабельность этих параметров у особей, входящих в одновозрастное поколение, вызвана генетическим и средовым разнообразиями. Она порождает структурный компонент в общей изменчивости признаков, описанный выше.

Существует и третья группа параметров роста, динамика которых по своим характерным скоростям вполне сопоставима со скоростями роста  $f_i(E_i)$ . В качестве примера вспомним периодические колебания в скорости роста организмов, вызванные сезонными изменениями факторов внешней среды, в первую очередь температуры и пищевой обеспеченности. Компактное модельное представление таких случайных процессов непросто. Тем не менее если их включение в модель обязательно, то это приведет к неавтономным дифференциальным уравнениям роста. Тогда внешние “среднескоростные” неслучайные или случайные возмущения должны описываться явно заданными функциями от времени. В данной работе мы не касаемся этой особой задачи.

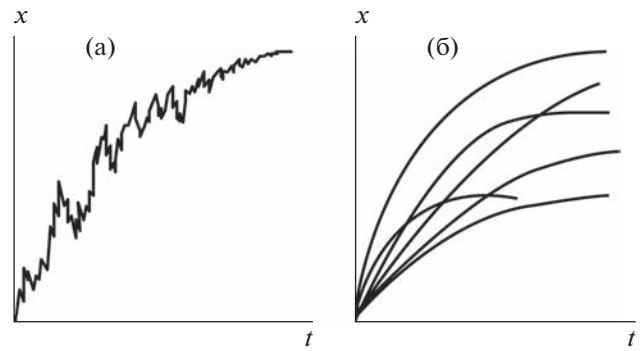


Рис. 1. Схема формирования шумовой (а) и структурной (б) изменчивости в размерах тела. Абсциссы  $t$  — возраст, ординаты  $x$  — размер.

### Многомерное стохастическое обобщение модели Бераланффи

Уравнения нашей модели представлены в общем виде. Для решения реальных задач их нужно конкретизировать. Остановимся на самой популярной и простой модели Бераланффи. В этой модели скорость роста признака описывается функцией  $f(x) = k(a - x)$ , где  $a = \text{const}$  — дефинитивная величина признака, к которой стремятся старые, взрослые организмы;  $k = \text{const}$  — относительная скорость затухания роста.

Функцию  $g(x)$  из системы (2) зададим в следующем виде:  $g(x) = f^\gamma(x)$ , где  $\gamma = \text{const} \geq 0$ . Эта связь означает, что, согласно развиваемой модели, амплитуда шумовых флуктуаций у скорости роста тем выше, чем больше сама эта скорость роста. При  $\gamma = 0$  шум аддитивен, и его амплитуда не зависит от  $f$ , при  $\gamma = 1$  шум мультипликативен, и эта амплитуда пропорциональна  $f$ . При  $0 < \gamma < 1$  шум влияет промежуточным образом. Тогда систему (2) можно представить в следующей форме:

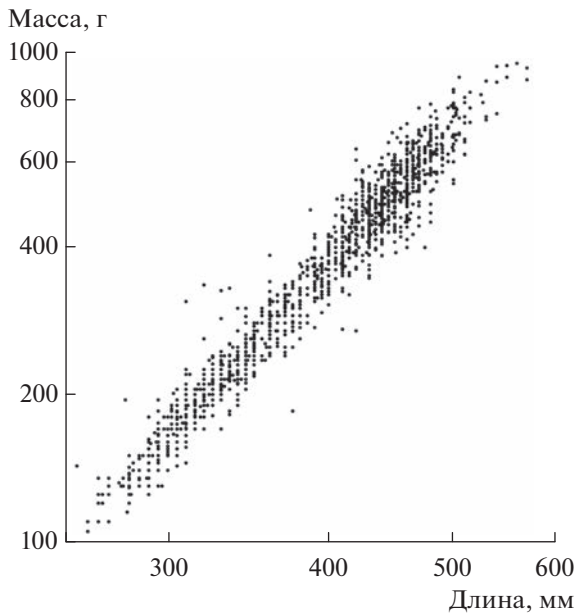
$$\begin{aligned} \frac{dE_i}{dt} &= k_i(a_i - E_i), \\ \frac{dv_{ij}}{dt} &= \rho_{ij}\beta_i\beta_j[k_i(a_i - E_i)k_j(a_j - E_j)]^\gamma - \\ &\quad - (k_i + k_j)v_{ij}. \end{aligned}$$

Решение этой системы с начальными условиями  $E_i = c_i = \text{const}$ ,  $v_{ij} = v_{0ij} = \text{const}$  при  $t = 0$  имеет следующий вид:

$$E_i = a_i(1 - e^{-k_it}) + c_i(1 - e^{-k_it}), \quad (6)$$

$$v_{ij} = v_{0ij}e^{-K_{ij}t} + \frac{\rho_{ij}\beta_i\beta_j[k_i(a_i - c_i)k_j(a_j - c_j)]^\gamma}{(1 - \gamma)K_{ij}} \times [e^{-\gamma K_{ij}t} - e^{-K_{ij}t}]. \quad (7)$$

Здесь для компактности записи обозначено  $K_{ij} = k_i + k_j$ .



**Рис. 2.** Связь между длиной (мм) и массой (г) тела минтая. Оси координат представлены в логарифмической шкале. Каждая точка — отдельная особь.

Теперь систему уравнений (3) для коэффициентов чувствительности также можно конкретизировать:

$$\frac{d\varphi_{ik_i}}{dt} = a_i - E_i(t) - k_i\varphi_{ik_i}; \quad \varphi_{ik_i}|_{t=0} = 0.$$

$$\frac{d\varphi_{ia_i}}{dt} = k_i(1 - \varphi_{ia_i}); \quad \varphi_{ia_i}|_{t=0} = 0.$$

$$\frac{d\varphi_{ic_i}}{dt} = -k_i\varphi_{ic_i}; \quad \varphi_{ic_i}|_{t=0} = 1.$$

В этой записи коэффициентов чувствительности вместо подстрочного индекса  $i$ , обозначающего в уравнениях (3) номер того или иного параметра модели, использовано непосредственно само буквенное обозначение этого параметра  $p_i$ . Так, например,  $\varphi_{ik_i}$  представляет собой частную производную  $\partial x_i / \partial k_i$ . Решения выписанных уравнений имеют вид:

$$\varphi_{ik_i} = (a_i - c_i)te^{-k_it}; \quad \varphi_{ia_i} = 1 - e^{-k_it}; \quad \varphi_{ic_i} = e^{-k_it}. \quad (8)$$

При этом  $\varphi_{ik_j} = \varphi_{ia_j} = \varphi_{ic_j} = 0$ , если  $i \neq j$ .

Окончательное представление модели сформировано из следующих элементов. Вектор средних арифметических определяется уравнениями (6). Общая ковариационная матрица согласно (5), складывается из шумового компонента (7) и структурного компонента. Последний вычисляется подстановкой коэффициентов чувствительности

(8) вместе с матрицей параметрических ковариаций  $\|S_{ij}\|$  в уравнение (4).

#### Подгонка параметров модели по данным роста минтая

Модель иллюстрируется материалами по стохастическому росту сахалинской популяции минтая *Gadus chalcogramma*. Они представляют собой данные массовой промысловой статистики, собранные в научно-поисковой экспедиции Сахалинского отделения ТИНРО в 1966 г. Данные представлены измерениями длины АС и общей массы тела по 1228 особям в возрасте от 3 до 8 лет. Самцы и самки не отличались достоверно друг от друга по изучавшимся характеристикам роста, поэтому материалы по обоим полам были объединены. Связь между длиной и массой тела в исходных единицах измерения показана на рис. 2. Надо подчеркнуть, что в логарифмическом масштабе эмпирические точки группируются вдоль прямой линии. Это говорит о том, что в первоначальных координатах длины и массы тела минтая эта регрессия описывается классической степенной зависимостью.

Проведем конкретизацию модели. Обозначим через  $x_1$  натуральный логарифм длины тела особи (мм, по Смитсу), через  $x_2$  — натуральный логарифм общей массы тела (г). Средние арифметические, среднеквадратические отклонения и коэффициент корреляции между этими переменными обозначим соответственно через  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$ ,  $R$ . В качестве базовой модели для исходных признаков (непосредственно длины и массы тела) возьмем уравнение Гомпертца, которое логарифмированием зависимой переменной превращается в нужное нам уравнение Берталанффи.

Итоговая модель после завершения подгонки описывается следующими уравнениями:

$$\begin{aligned} E_1 &= a_1(1 - e^{-kt}) + c_1e^{-kt}; \quad E_2 = a_2(1 - e^{-kt}) + c_2e^{-kt}; \\ \sigma_1 &= \left[ \beta_1^2(a_1 - c_1)^{2\gamma} F + A_1^2(1 - e^{-kt})^2 + D_1^2e^{-2kt} \right]^{\frac{1}{2}}; \\ \sigma_2 &= \left[ \beta_2^2(a_2 - c_2)^{2\gamma} F + A_2^2(1 - e^{-kt})^2 \right]^{\frac{1}{2}}; \quad (9) \\ R &= \beta_1\beta_2(a_1 - c_1)^{\gamma}(a_2 - c_2)^{\gamma} \frac{F}{\sigma_1\sigma_2}; \\ F &= \frac{k^{2\gamma-1}}{2(1-\gamma)}(e^{-2\gamma kt} - e^{-2kt}). \end{aligned}$$

Модель имеет 11 параметров:  $k$  — константа относительной скорости затухания роста, оказавшаяся одинаковой для обоих признаков;  $\gamma$  — степенной параметр в функции  $g(x) = f^{\gamma}(x)$  из системы (2);  $a_1$  и  $a_2$  — дефинитивные значения средних;  $c_1$  и  $c_2$  — начальные значения средних

при  $t = 0$ ;  $\beta_1^2, \beta_2^2$  — интенсивности белого шума для 1-го и 2-го признаков;  $A_1^2, A_2^2$  — структурные дисперсии параметров  $a_1$  и  $a_2$  (дисперсии дефинитивных значений признаков). Последний параметр  $D_1^2$  является суммой двух слагаемых. Первое слагаемое — это начальная шумовая дисперсия, то есть параметр  $v_{011}$  в уравнении (7) для признака  $x_1$ . Второе слагаемое — структурная дисперсия для параметра  $c_1$ . Характер использованного материала не позволил оценить каждое слагаемое этой суммы по отдельности.

Слагаемое  $D_2^2 e^{-2kt}$  отсутствует в уравнении для  $\sigma_2$  в системе (9). Оно не отличалось достоверно от нуля по материалам для сахалинской популяции минтая. Кроме того, в представленном списке модельных коэффициентов не фигурируют также и другие структурные дисперсии и ковариации, указанные в первоначальном полном описании модели (уравнения 4–8). Их оценки, полученные на промежуточных этапах идентификации модели, оказались плохо определены, то есть с большими ошибками. Поэтому такие коэффициенты были приравнены к нулю. Коэффициент корреляции  $\rho_{12}$  между шумами для признаков  $x_1$  и  $x_2$  не отличался достоверно от единицы и был принят равным ей, поэтому в уравнении для  $R$  в системе (9) он отсутствует явно.

В процессе идентификации применялось последовательное упрощение модели. Исходная модель (4–8) строилась как бы “на вырост” и поэтому сначала включала в себя избыточное количество подгоняемых параметров. Исходя из фактического материала, имевшегося в нашем распоряжении, некоторые из этих параметров были определены с неприемлемо большими ошибками, а они влияют на доверительные интервалы самой модели. Поэтому на следующей итерации эти параметры из модели исключались: заменялись нулями или очевидными не подгоняемыми константами. В результате следующая версия модели упрощалась, и это приводило к уменьшению ошибок у оставшихся для оценивания параметров (это хорошо). При этом качество подгонки модели под материал, разумеется, несколько снижалось (это плохо). После достижения субъективного компромисса между этими двумя противоречащими друг другу целями, процесс идентификации модели завершился.

Подгонка параметров модели (9) проводилась с помощью градиентной процедуры Марквардта (Бард, 1979) с использованием штрафных функций для соблюдения естественных ограничений, запрещающих получение отрицательных значений у всех параметров. В качестве целевой функции, подлежащей минимизации, выбрана остаточная сумма квадратов — сразу по всем пяти воз-

растным рядам переменных  $E_1, E_2, \sigma_1, \sigma_2, R$ . Такая процедура сложения здесь допустима, поскольку все переменные имеют одинаковую размерность, точнее, они безразмерны. Напомним, что признаки  $x_1$  и  $x_2$  представляют собой натуральные логарифмы длины и массы тела.

Попутно заметим, что если “обезразмеривание” комплекса признаков нецелесообразно или невозможно, стоит воспользоваться обобщенным алгоритмом для системы модельных уравнений, описанным в книге Барда (1979). При этом в качестве целевой функции полезно использовать многомерное обобщение понятия дисперсии (Животовский, 1984).

Не останавливаясь на конкретных этапах многошаговой процедуры идентификации, приведем окончательный список оптимальных оценок для всех одиннадцати параметров модели:

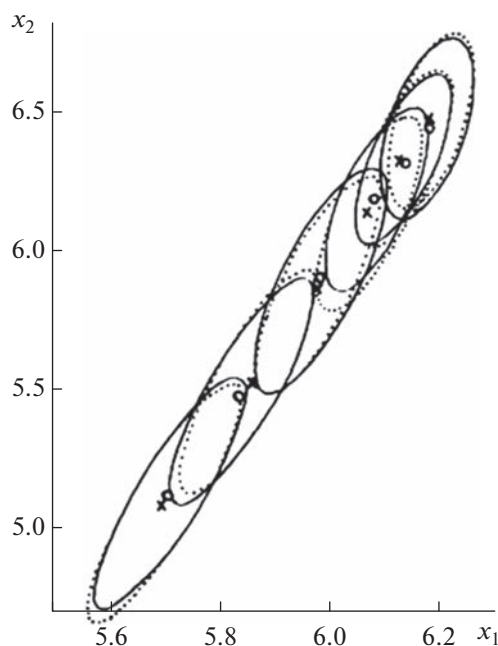
$$\begin{aligned} k &= 0.2876 \pm 0.0284, \quad \beta_1 = 0.04859 \pm 0.01307, \\ \beta_2 &= 0.1426 \pm 0.0188, \quad \gamma = 0.7148 \pm 0.03277, \\ a_1 &= 6.339 \pm 0.040, \quad a_2 = 6.896 \pm 0.096, \\ c_1 &= 4.826 \pm 0.117, \quad c_2 = 2.627 \pm 0.272, \\ D_1 &= 0.04602 \pm 0.02564, \quad A_1 = 0.02031 \pm 0.0291, \\ A_2 &= 0.1220 \pm 0.0406. \end{aligned} \quad (10)$$

Здесь после знаков  $\pm$  указаны среднеквадратические ошибки оценок.

Анализ представленных результатов подгонки свидетельствует о следующем. Оценки коэффициентов  $k, \gamma, a_1, a_2, c_1, c_2$  и  $\beta_2$  получены с неплохой точностью. Оценки для  $\beta_1, A_2$  и  $D_1$  определены хуже: их ошибки составляют десятки процентов от самих оценок параметров. Коэффициент  $A_1$  определен плохо. Несмотря на большую ошибку, мы оставили его в списке коэффициентов модели, так как без него возрастной ряд для сигмы  $\sigma_1$  заметно хуже описывался модельной кривой.

Качество подгонки модели для средних арифметических оказалось неплохим. Остаточная дисперсия для переменной  $E_1$  составляет всего лишь 0.5% от общей эмпирической дисперсии и 0.6% для переменной  $E_2$ . Качество подгонки для сигм несколько хуже: остаточная дисперсия равна 6.3% для  $\sigma_1$  и 15.4% для  $\sigma_2$ . Возрастной ряд для коэффициента корреляции  $R$  приемлемо аппроксимируется моделью: остаточная дисперсия равна 2.0%.

Возрастная динамика модельных кривых имеет следующие характерные особенности. Средние  $E_1$  и  $E_2$  с замедлением растут во времени. При этом относительная скорость роста (параметр  $k$ ) у них одинакова, а различия в углах наклона кривых вызваны разницей в начальных значениях  $c_1$  и  $c_2$  этих средних. Среднеквадратические отклонения  $\sigma_1$  и  $\sigma_2$  снижаются во времени, причем для



**Рис. 3.** Возрастная последовательность 90%-х корреляционных эллипсов для связи между логарифмами длины (ось  $x_1$ ) и логарифмами массы тела (ось  $x_2$ ) минтая. Сплошные эллипсы — эмпирика, пунктирные — модель. Центры эллипсов: маленькие кружки — эмпирика, крестики — модель. Возраст увеличивается снизу слева, вверх направо от 3 до 8 лет.

$\sigma_2$  это снижение идет более круто. Для старших поколений рыб стандартные отклонения обоих признаков стабилизируются на сравнительно невысоких дефинитивных уровнях.

Нужно еще раз напомнить, что признаки  $x_1$  и  $x_2$  представляют собой логарифмы длины (мм) и массы (г) тела рыб. Монотонное возрастное снижение дисперсий этих признаков вовсе не означает, что и в исходных шкалах (миллиметры и граммы) будет сохраняться такая же тенденция. Дисперсии непосредственно длины тела  $\exp(x_1)$  и массы тела  $\exp(x_2)$  вначале относительно быстро растут во времени и только затем, перевалив через свои максимумы, снижаются и, в конце концов, устанавливаются на своих низких дефинитивных предельных уровнях. Такая же картина обнаружена и для размеров раковины у приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* (Jay, 1857) (Суханов, Селин, 2018).

#### *Возрастная динамика связи длины и массы тела у минтая*

На примере с ростом минтая покажем необычный и редко обсуждаемый феномен. Оказывается, что связь между признаками организма не остается постоянной во времени, но демонстрирует закономерные возрастные изменения. Модель вос-

производит такие изменения и дает объяснение этому явлению.

Коэффициент корреляции  $R$  между логарифмами длины и массы тела для сеголетков (возраст 0+) близок к единице, а затем монотонно уменьшается во времени. Согласно модельным оценкам асимптотическое (дефинитивное) значение  $R$  можно считать равным нулю.

Эта тенденция наглядно изображена на рис. 3. Здесь представлен возрастной ряд корреляционных эллипсов для  $x_1$  и  $x_2$ , каждый из которых охватывает суммарную вероятность, равную 90%. Отметим неплохое сходство между эмпирическим и модельным рядами этих корреляционных эллипсов.

Центры эллипсов лежат на одной прямой. Эта важная особенность является следствием того, что параметр  $k$  один и тот же для обоих признаков. Точнее, различия между величинами этого параметра для обоих признаков оказались статистически недостоверными и поэтому были проигнорированы. Именно по этой причине в качестве исходной базовой модели здесь выбрано уравнение Гомпертца, а длина и масса тела представлены в логарифмических шкалах. В первоначальных арифметических шкалах эта простая линейная взаимозависимость была бы искажена нелинейностью степенной связи между непосредственно длиной и массой тела.

По мере взросления рыб корреляционные эллипсы движутся вверх направо, уменьшаются в размерах и становятся все более округлыми (рис. 3). Таким образом, в процессе роста и развития особой отнесенной изменчивости каждого из признаков снижается. Параллельно с этим сила связи между признаками слабеет.

Высокое значение коэффициента корреляции  $R$  на начальных этапах роста рыб и последующее его снижение объясняется следующим. Коэффициент корреляции  $\rho_{12}$  между шумами, “раскачивающими” траектории роста признаков, практически равен единице. Это означает, что и на длину, и на массу тела рыб фактически воздействует один и тот же источник шума. По всей видимости, он непосредственно связан со случайными вариациями потока ассимилированной пищи, идущего на приросты длины и массы тела. По мере взросления рыб скорость роста каждого из этих признаков уменьшается. Вследствие этого снижается и амплитуда флюктуаций у скорости роста, поскольку параметр  $\gamma$  близок к единице (см. список 10). В связи с этим величина ковариации между признаками также снижается к нулю. Вместе с тем даже при полном прекращении роста обе величины дисперсий остаются ненулевыми:  $\sigma_1 \rightarrow A_1$ ,  $\sigma_2 \rightarrow A_2$ . Наличие структурных (параметрических) компонентов в общей дефинитивной изменчивости признаков, а также снижение шумовой ковариации между признаками во времени, вызванное затуха-

нием роста приводят к возрастному падению коэффициента корреляции  $R$ .

Организм представляет собой как бы жестко образованную конструкцию, реагирующую на шумовые флуктуации внешней среды как единое целое. Эта целостность особенно ярко проявляется у быстрорастущих организмов: скорости роста отдельных признаков флуктуируют около своих средних скоростей взаимно согласованно. По мере снижения скоростей роста амплитуды этих флуктуаций снижаются, и на первый план выступает не шумовая, а структурная изменчивость параметров  $a_1$  и  $a_2$ . При этом по крайней мере для нашего примера дефинитивная структурная коррелированность у взрослых особей практически отсутствует. Это позволяет прояснить механизм онтогенетической изменчивости и коррелированности признаков у организмов.

Величину коэффициента корреляции  $R$  можно рассматривать как меру цельности, связности организма как системы. Тогда естественно заключить, что молодые особи являются высокоинтегрированными системами с хорошо работающим механизмом гомеостаза. С возрастом целостность организмов и, вероятно, их регуляторные способности постепенно ослабевают в онтогенезе.

Похожий результат обнаружен и на примере двусторчатого моллюска приморского гребешка (Суханов, Селин, 2018). Используемая там версия модели оказалась несколько проще, чем описанная здесь. Тем не менее у приморского гребешка также обнаружено возрастное снижение коэффициента корреляции между признаками.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно напомнить одну очевидную закономерность. Каждое нетривиальное развитие модели приводит к усложнению ее описания, а также к росту усилий по оцениванию ее параметров.

Простейшая детерминированная модель Берталанффи требует нескольких строк для своего описания. Для оценивания ее параметров методом Форда-Уолфорда (Мина, Клевезаль, 1976) нужно рассчитать простую линейную регрессию методом наименьших квадратов.

Для построения уравнений в первой версии модели одномерного стохастического роста (Суханов, 1980) хватило одной страницы рукописи. Кроме того, оценивание параметров потребовало обобщения метода Форда-Уолфорда, хотя и осталось в рамках метода линейной регрессии.

При построении данной стохастической многомерной версии модели понадобилось более 6 страниц. При оценивании ее параметров потребовался весьма непростой алгоритм нелинейного оценивания, который был реализован автором при помощи программы на языке Free Pascal. Из-

ложение результатов модельной подгонки растянулось более чем на 3 страницы, и это без описания самого алгоритма расчетов, здесь он опущен за ненадобностью.

С новыми шагами количество усилий увеличивалось в геометрической прогрессии. На каждом этапе трудоемкость кратно возрастала, в среднем примерно в четыре раза.

Аналогичную закономерность автор обнаружил ранее при работе над дискретной моделью роста личинок мотыля *Chironomus thummi* (Суханов, Лопатин, 1988). Исходная модель – степенное уравнение роста с двумя параметрами, предложенное еще Шмальгаузен (1935) – развернулась в систему из 6 уравнений. Их вывод занял около 10 страниц рукописи. Подгонка параметров также потребовала привлечения методов нелинейного оценивания.

Все это приводит к ограничению сложности моделей, которые можно создать “в одной голове”. Как выйти за пределы такого барьера – пока неясно.

Нельзя забывать и про доступность понимания читателями новых версий моделей. При попытках экологов полноценно их освоить требуются знания из несмежных областей науки. Недавно говорят, что каждая формула в научной публикации уменьшает количество потенциальных читателей вдвое. Тем самым затрудняется вхождение в научный арсенал новых, более сложных моделей.

Дадим резюме по обсуждаемой модели. Основанная на уравнениях Берталанффи-Гомпертца модель многомерного стохастического роста организмов проверена на данных по росту длины и массы тела сахалинской популяции минтая. Проверка показала неплохое соответствие между моделью и реальными данными.

Сформулированы два главных нетривиальных вывода. Во-первых, дисперсии длины и массы тела достигают своих максимумов в молодом возрасте. Это обусловлено разной возрастной динамикой у шумовой и структурной изменчивости признаков. Шумовая изменчивость признаков проходит максимум, а потом идет к нулю. Структурная изменчивость признаков постепенно возрастает. Во-вторых, сила межпризнаковых корреляций монотонно падает в процессе старения. Это явление, также объяснимое с помощью модели, представляется важным для теории онтогенеза и, возможно, геронтологии.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность своему учителю В.Л. Андрееву за переданные материалы по сахалинской популяции минтая, собранные в одном из рейсов СахНИРО.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бард Й. Нелинейное оценивание параметров. М.: Статистика. 1979. 349 с.
- Животовский Л.А. Интеграция полигенных систем в популяциях. М.: Наука. 1984. 182 с.
- Коздоба Л.А. Методы решения нелинейных задач теплопроводности. М.: Наука. 1975. 227 с.
- Мина М.В., Клевезаль Г.А. Рост животных. М.: Наука. 1976. 291 с.
- Суханов В.В. Стохастическая модель роста рыб // Вопр. ихтиологии. 1980. Т. 20. № 4. С. 615–624.
- Суханов В.В., Лопатин О.Е. Математическое моделирование роста и развития *Chironomus thummi* // Деп. в ВИНИТИ 30.06.88 № 5244-B88. Владивосток. 1988. 57 с.
- Суханов В.В., Селин Н.И. Модель стохастического многомерного роста *Mizuhopecten yessoensis* (Jay, 1857) (Bivalvia: Pectinidae) // Биол. моря. 2018. Т. 44. № 5. С. 1–8.
- Тихонов В.И., Миронов М.А. Марковские процессы. М.: Сов. радио. 1977. 488 с.
- Томович Р., Вукобратович М. Общая теория чувствительности. Серия “Библиотека технической кибернетики”. М.: Сов. радио. 1972. 240 с.
- Шмальгаузен И.И. Определение основных понятий и методика исследования роста. Л.: Биомедгиз. 1935. 53 с.
- Sukhanov V.V. Generalization of Bertalanffy-Gompertz model for multidimensional stochastic growth of organisms // Marine Biodiversity for a Healthy Ocean – Biodiversity, Functional Groups and Ocean Health. Proc. of the Russia-China Bilateral Workshop. October 10–11, 2019. Vladivostok, Russia. P. 130–132.

Stochastic Growth Model of Pollack *Gadus chalcogrammus* (Pallas, 1814)

V. V. Sukhanov<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup>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 690001, Russia

A mathematical model is proposed that describes the age-related dynamics of the vector of means and the covariance matrix of characters of individuals in the Sakhalin pollock population *Gadus chalcogrammus* (Pallas, 1814). The model is based on the Bertalanffy and Gompertz equations. The covariance matrix is composed of two parts: noise (caused by rapid random fluctuations in environmental conditions) and structural (due to intrapopulation variability of the parameters included in the growth equations). The model well reproduces the age dynamics of the distribution of fish according to the quantitative characters of individuals. The age-related increase, the passing through a maximum at a young age, the subsequent decrease in dispersions and their stabilization at low levels in the length and mass of the body of adult fish have been described. The age-related decrease in the correlation between length and body mass has been explained.

**Keywords:** Fokker-Planck-Kolmogorov equation, Bertalanffy-Gompertz model, body length and mass covariance matrix, noise and structural variability of characters

УДК 575.86:597.553.2

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ФИЛОГЕОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЧЕТЫРЕХ ВИДОВ РЫБ (SALMONIDAE И CYPRINIDAE) В СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ПАЦИФИКЕ

© 2023 г. Вл. А. Брыков<sup>1</sup>, \*, В. В. Маляр<sup>1</sup>

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

\*e-mail: vlbrykov@mail.ru

Поступила в редакцию 31.05.2022 г.

После доработки 12.11.2022 г.

Принята к публикации 24.11.2022 г.

Исследована генетическая изменчивость митохондриальных генов *COI* и *cytb* в выборках крупночешуйной краснопёрки *Tribolodon hakonensis* (Günther, 1877) и мелкочешуйной краснопёрки *Tribolodon brandtii* (Dybowski, 1872) у побережья о-ва Сахалин и материкового побережья Японского моря. Выявленные закономерности сопоставлены с данными, полученными на сходном ареале для сахалинского тайменя *Parahucho perryi* (Brevoort, 1856) и кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792). Сравнительный анализ показал, что формирование внутривидовых линий мтДНК у четырех видов рыб связано с палеоклиматическими изменениями в регионе северо-западной Пацифики в период плейстоцена и в значительной степени синхронизировано по времени. Во многих случаях рассчитанное время дивергентной эволюции генеалогических линий мтДНК совпадает, что говорит о влиянии сходных факторов эволюции на исследованные виды.

**Ключевые слова:** *Tribolodon hakonensis*, *Tribolodon brandtii*, *Parahucho perryi*, *Oncorhynchus keta*, митохондриальная ДНК, филогеография

DOI: 10.31857/S0134347523020031, EDN: DVBEAX

Сравнительный анализ генетической изменчивости видов в географических регионах позволяет выявить наличие внутривидовой структуры, определить время дивергенции основных генеалогических линий и выявить наиболее существенные факторы, которые влияли в прошлом или влияют в настоящее время на популяционно-генетическую структуру видов (Maug, 1963; Avise, 2000).

Благодаря материнскому наследованию, быстрой эволюции и, как правило, отсутствию рекомбинаций, митохондриальная ДНК (мтДНК) представляет собой наиболее удобную молекулу для эволюционного и популяционного анализа (Brown et al., 1979). Филогеографический подход, основанный на анализе изменчивости мтДНК, оказался универсальным для понимания путей и механизмов формирования таксонов и отдельных внутривидовых единиц (Templeton et al., 1995; Avise, 2000). Ограничение генетического обмена между популяциями приводит к появлению различий в мтДНК особей в разных популяциях в результате накопления мутаций и стохастических процессов, а продолжительное независимое существование популяций во времени — к возникновению отличающихся филогрупп мтДНК. В дальнейшем при формировании видов эти различия увеличиваются (Avise et al., 1998). Филогео-

графический подход на основе анализа изменчивости мтДНК позволяет реконструировать события дивергенции внутри видов и групп видов и отнести их к тому или иному историческому периоду, используя молекулярные часы (Avise, 2000; Crête-Lafrenière et al., 2012).

Цель настоящей работы — анализ генетической изменчивости мтДНК у двух эндемичных дальневосточных полупроходных видов рыб, краснопёрок *Tribolodon hakonensis* (Günther, 1877) и *Tribolodon brandtii* (Dybowski, 1872) (семейство Cyprinidae) и сравнение полученных данных с ранее опубликованными результатами по проходным видам: кете *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792) и сахалинскому тайменю *Parahucho perryi* (Brevoort, 1856).

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Рыб отлавливали ставной сетью или на удочку. Анализ включал особей мелкочешуйной краснопёрки *Tribolodon brandtii* из выборок материкового побережья Японского моря (зал. Восток) и о-ва Сахалин (соединенное протокой с морем оз. Тунайча, побережье Охотского моря), а также выборки крупночешуйной краснопёрки *Tri-*

**Таблица 1.** Встречаемость гаплотипов мтДНК в исследуемых популяциях крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis*

| Гаплотип | Популяции   |            | Число особей |
|----------|-------------|------------|--------------|
|          | зал. Восток | р. Ильинка |              |
| ТН1      | 0           | 2 (100)    | 2            |
| ТН2      | 0           | 1 (100)    | 1            |
| ТН3      | 0           | 1 (100)    | 1            |
| ТН4      | 0           | 1 (100)    | 1            |
| ТН5      | 0           | 1 (100)    | 1            |
| ТН6      | 7 (100)     | 0          | 7            |
| ТН7      | 0           | 1 (100)    | 1            |
| ТН8      | 0           | 1 (100)    | 1            |
| ТН9      | 0           | 1 (100)    | 1            |
| ТН10     | 0           | 1 (100)    | 1            |
| ТН11     | 1 (100)     | 0          | 1            |
| ТН12     | 1 (100)     | 0          | 1            |

Примечание. Относительное число особей каждого гаплотипа указано в скобках (%).

*bolodon hakonensis* с материкового побережья Японского моря (зал. Восток) и о-ва Сахалин (устье р. Ильинка).

Кусочки тканей плавников фиксировали в 96%-ном этаноле. Выделение ДНК, условия амплификации и определение нуклеотидных последовательностей фрагментов генов *COI* и *cytb* мтДНК описаны ранее (Маляр, Брыков, 2016).

Множественное выравнивание и анализ нуклеотидных последовательностей исследуемых фрагментов генов осуществляли с использованием программного обеспечения MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011) по алгоритму CLUSTAL W (Thompson et al., 1994). Выравненные последовательности генов для каждой особи исследуемых видов объединяли в комбинированные последовательности. Подбор оптимальной модели нуклеотидного замещения для каждого раздела данных осуществляли в программе jModelTest 2.1.7 (Darriba et al., 2012), используя байесовский информационный критерий (BIC).

Для визуализации разных филогрупп мтДНК построены медианные сети гаплотипов в программе SplitsTree4 (Huson, Bryant, 2006) по алгоритму MJ (Median-Joining) (Bandelt et al., 1999). Значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия для каждой популяции, а также распределение различий между гаплотипами (*mismatch distribution*) рассчитывали, используя программу DnaSP v5.10 (Librado, Rozas, 2009).

Внутривидовые генеалогии и датировки дивергенции устанавливали с помощью байесовского подхода в пакете программ BEAST 1.10.4 (Drummond et al., 2012) на базе высокопроизводительного кластера CIPRES (Miller et al., 2010) при следующих условиях: диапазон значений скоростей эволюции с минимальной границей 0.76% за 1 млн лет (Zardoya, Doadrio, 1999) и максимальной границей на уровне 1.7% за 1 млн лет (Stepien et al., 2000); значения параметра *ucl.d.mean* с нормальным распределением; модель нуклеотидного замещения для последовательностей *COI* крупночешуйной и мелкочешуйной красноперки — НКУ, *cytb* крупночешуйной красноперки — TrN, мелкочешуйной красноперки — TrN+I; модель молекулярных часов — свободные часы с некоррелированным логарифмически нормальным распределением; длина цепи Маркова равна 30 млн поколений с отбором каждого тысячного состояния и значением burn-in 10%, суммирование деревьев по алгоритму *maximum clade credibility*.

Дополнительные филогенетические реконструкции комбинированных последовательностей кеты проводили по методу ближайшего связывания (NJ) и максимального правдоподобия (ML) в программе MEGA 5.05.

Последовательности фрагментов генов *COI* и *cytb* крупночешуйной и мелкочешуйной красноперок депонированы в GenBank NCBI под номерами KY615261–KY615279, KY615280–KY615298; KY615299–KY615318 и KY615319–KY615338.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Крупночешуйная красноперка *Tribolodon hakonensis*

Длина полученных нуклеотидных последовательностей составила 1623 нуклеотидные пары. Анализ последовательностей у исследованных особей выявил наличие 12 гаплотипов мтДНК (табл. 1). Выборка крупночешуйной красноперки из р. Ильинка характеризуется наибольшим количеством гаплотипов (9). В материковой выборке насчитывается всего 3 гаплотипа.

Гаплотипы, обнаруженные в выборках р. Ильинка и зал. Восток, не перекрываются и встречаются только в одной из выборок. В материковой популяции выделяется наиболее частый гаплотип ТН6, объединяющий 7 особей выборки. Гаплотипы сахалинской популяции из р. Ильинка (ТН1–ТН5, ТН7–ТН10) практически все уникальны.

Распределение гаплотипов подтверждается значениями гаплотипической и нуклеотидной изменчивости. Наиболее высокие значения гаплотипической ( $0.978 \pm 0.054$ ) и нуклеотидной ( $0.00704$ ) изменчивости выявлены в выборке из р. Ильинка о-ва Сахалин, в материковой выборке из зал. Восток эти значения меньше практически в два раза,  $0.417 \pm 0.191$  и  $0.00027$  соответственно.

В результате использования различных алгоритмов филогенетического анализа получены де-

ревя с общей топологией (рис. 16). Анализ показал наличие трех выраженных кластеров особей *Tribolodon hakonensis* с достоверными значениями бутстреп-поддержки и апостериорных вероятностей. В кластер А вошли все исследованные гаплотипы особей с о-ва Сахалин (р. Ильинка), в то время как кластер В объединил гаплотипы особей материкового побережья (зал. Восток). Клада А включает субклады А1 и А2 с высокими показателями достоверности по всем использованным алгоритмам.

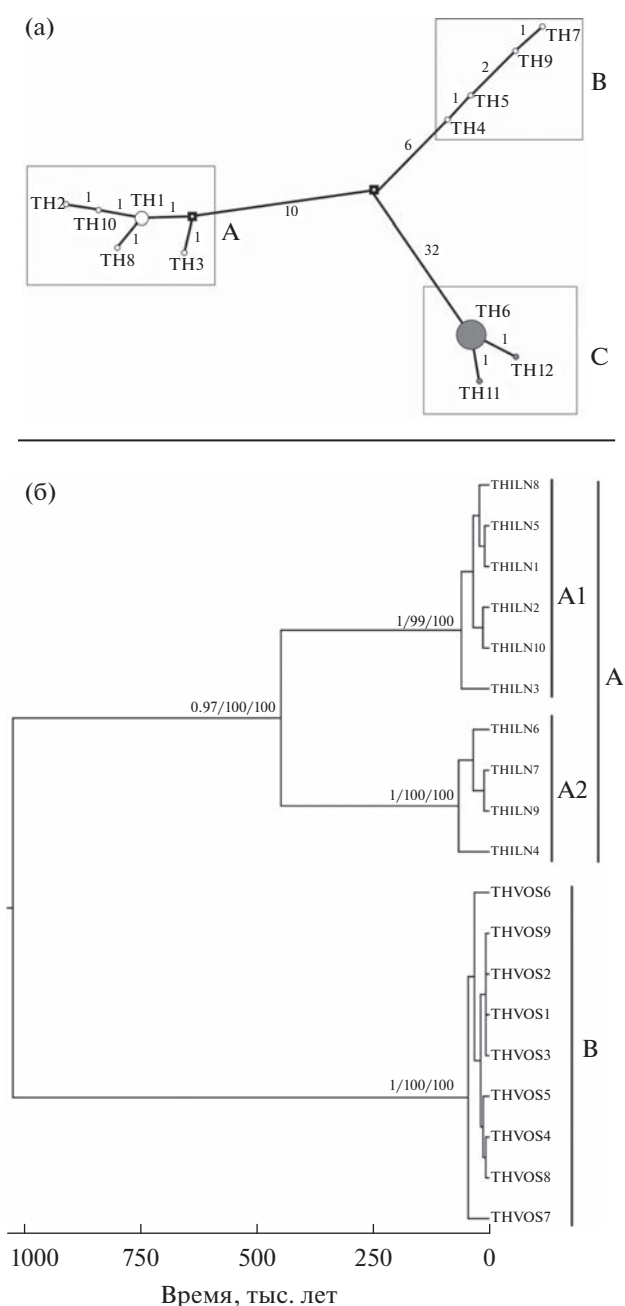
При реконструкции сети гаплотипов выделены три группы особей *T. hakonensis* (А, В и С) (рис. 1а). Филогруппы А и С содержат по одному центральному гаплотипу (ТН1 и ТН6). Остальные гаплотипы отличаются от них 1–2 нуклеотидными заменами. Филогруппа В объединяет гаплотипы ТН4, ТН5, ТН9 и ТН7, которые различаются 1–2 нуклеотидными заменами. Все гаплотипы из филогруппы С характерны для особей крупнотелой красноперки из зал. Восток (материковое побережье), в то время как филогруппы А и В встречаются у особей в популяции из р. Ильинка (о-в Сахалин). Гаплотипы группы А отделяются 16 нуклеотидными заменами от ближайшего гаплотипа из филогруппы В. Материковая филогруппа С в значительной степени удалена от групп А и В на 42 и 38 нуклеотидных замен соответственно.

#### Мелкочешуйная красноперка *Tribolodon brandtii*

Длина полученных нуклеотидных последовательностей составила 1564 нуклеотидные пары. Анализ нуклеотидных последовательностей у исследованных особей мелкочешуйной красноперки выявил 6 гаплотипов (табл. 2). Популяция мелкочешуйной красноперки материкового побережья из зал. Восток включает наибольшее количество гаплотипов (5), характерных только для данной популяции. При этом чаще всего встречается гаплотип ТВ1, тогда как гаплотипы ТВ2, ТВ3, ТВ4 и ТВ6 уникальны. Особи из оз. Тунайча характеризуются одним гаплотипом ТВ5. Общих гаплотипов среди исследованных особей из выборки материкового побережья и о-ва Сахалин не обнаружено.

Высокие значения гаплотипической ( $0.576 \pm 0.163$ ) и нуклеотидной (0.00227) изменчивости характерны для популяции из зал. Восток. В сахалинской выборке из оз. Тунайча генетической изменчивости не выявлено.

Топология филогенетических деревьев, реконструированных по объединенным последовательностям мтДНК мелкочешуйной красноперки, была идентичной при использовании разных алгоритмов построения (рис. 26). Анализ выявляет наличие трех обособленных кластеров особей *T. brandtii*. Клада В включает особей красноперок из оз. Тунайча (о-в Сахалин). В кладе А выборки из материковой популяции обнаруживаются субклады А1 и А2, формирование которых поддержа-



**Рис. 1.** Генеалогическая сеть гаплотипов, полученная на основании данных анализа нуклеотидных последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК крупнотелой красноперки *Tribolodon hakonensis* (а), и байесовское консенсусное филогенетическое дерево, отражающее генетическую изменчивость популяций и время дивергенции основных генеалогических линий *Tribolodon hakonensis* (б). Размеры окружностей пропорциональны числу особей с указанным гаплотипом. Доля особей кеты с материкового побережья Японского моря отмечена серым цветом. На ветвях сети указано количество нуклеотидных замен между группами гаплотипов. Обозначения гаплотипов как в табл. 1. Достоверность ветвления указана в виде величин апостериорных вероятностей (В1) и бутстреп-индексов (% от 1000 реплик) объединения соседей (NJ) и максимального правдоподобия (ML) (PP/BP/BP).

**Таблица 2.** Встречаемость гаплотипов мтДНК в исследуемых популяциях мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii*

| Гаплотип | Популяции   |             | Число особей |
|----------|-------------|-------------|--------------|
|          | зал. Восток | оз. Тунайча |              |
| ТВ1      | 8 (100)     | 0           | 8            |
| ТВ2      | 1 (100)     | 0           | 1            |
| ТВ3      | 1 (100)     | 0           | 1            |
| ТВ4      | 1 (100)     | 0           | 1            |
| ТВ5      | 0           | 8 (100)     | 8            |
| ТВ6      | 1 (100)     | 0           | 1            |

Примечание. Относительное число особей каждого гаплотипа указано в скобках (%).

но относительно слабо. Только в случае байесовской филограммы значение апостериорных вероятностей оказалось близким к достоверным (0.94).

Полученные сети гаплотипов свидетельствуют о присутствии среди особей мелкочешуйной красноперки трех филогрупп (А, В и С) (рис. 2а). Особи материкового побережья из зал. Восток формируют группы В и С с центральными гаплотипами ТВ1 и ТВ2 соответственно. Данные группы отличаются в среднем шестью нуклеотидными заменами. Гаплотипы в филогруппе С отличаются 1–2 нуклеотидными заменами. Группа А включает всех представленных особей мелкочешуйной красноперки с о-ва Сахалин и отделяется от материковых групп 14 нуклеотидными заменами.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Закономерности пространственного распределения генетической изменчивости

Характеристика и сравнение распределения генетической изменчивости у двух видов красноперок рода *Tribolodon* (семейство Cyprinidae) и двух видов лососевых рыб (семейство Salmonidae) (Маляр, Брыков, 2016), имеющих разные истории происхождения и в значительной степени отличающихся биологическими характеристиками, ареалами распространения и численностью, позволили выявить как особенности, так и сходство их формирования и распространения на исследованном ареале.

Известно, что общий уровень генетической изменчивости определяется несколькими параметрами: временем существования вида, ареалом, численностью и историческими изменениями численности (Martin, Palumbi, 1993; Avise, 2000). Несмотря на то, что исследованные нами виды отличаются по этим параметрам, общие значения гаплотипической изменчивости внутри видов высоки. Для крупночешуйной красноперки характерно более длительное существование как вида среди других таксонов в роде *Tribolodon* (приблизительно 9 млн лет, при этом среднее значение времени ди-

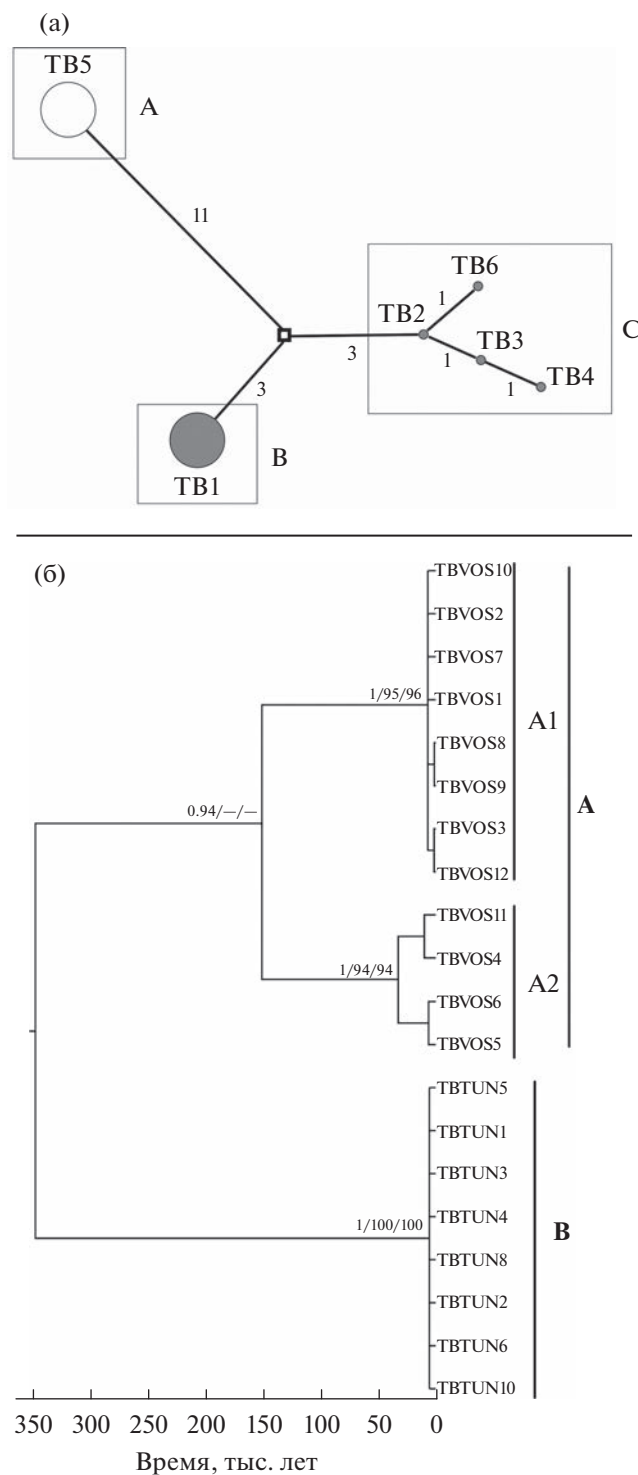
вергенции внутри рода составляет около 4–6 млн лет) (Sasaki et al., 2007; Watanabe et al., 2018). Как следствие, у данного вида более высокие оценки гаплотипической и нуклеотидной изменчивости ( $0.871 \pm 0.00525$  и  $0.01528$  соответственно), чем у мелкочешуйной красноперки ( $0.705 \pm 0.00488$  и  $0.00542$ ). Исследование биологии этих рыб на юге Приморского края и результаты мечения позволяют предположить, что дальневосточным красноперкам свойственны определенные места нагула, т.е. они, вероятно, обладают способностью различать водоемы и возвращаться после нагула в одни и те же реки для нереста и зимовки (Большаков, 2013).

При сравнении генетической изменчивости у четырех видов рыб из разных географических локальностей обнаруживаются определенные закономерности. Так, например, уровень нуклеотидного разнообразия в сахалинских популяциях тайменя *Parahucho perryi* на порядок превышает нуклеотидное разнообразие популяций материкового побережья. Одна из внутривидовых линий мтДНК локализована исключительно в популяции зал. Набильский, а популяция из оз. Айнское характеризуется наивысшим гаплотипическим разнообразием на о-ве Сахалин (Маляр, Брыков, 2016).

Сходная закономерность обнаруживается у крупночешуйной красноперки, уровень гаплотипической изменчивости сахалинской выборки которой в два раза превышает значения для популяции материкового побережья (табл. 1). ПДРФ-анализ множества выборок крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* при сравнении географически удаленных популяций также показал значительные различия, связанные с изоляцией расстоянием и, следовательно, с ограничением потока генов. По результатам AMOVA теста 98% изменчивости приходилось на внутривидовую компоненту (Брыков и др., 2013).

Значительная удаленность материковой филогруппы С в сети гаплотипов обусловлена присутствием “южной формы”, выделяемой некоторыми авторами в отдельный близкий вид *Tribolodon* sp. (Гудков и др., 2010; Рязанова, Полякова, 2012; Маляр, 2017) (рис. 1а). Относительная молодость вида выражается низким уровнем гетерогенности мтДНК (зал. Восток, табл. 1), что также соответствует данным по расширенным выборкам в предыдущих работах (Семина и др., 2006; Брыков и др., 2013). У первоописанного вида *T. hakonensis* (“северная форма”) в популяциях о-ва Сахалин выявляются две сильнодивергировавшие эволюционные линии (филогруппы А и В, рис. 1а).

Иной характер распределения показателей генетического разнообразия обнаружен в популяциях кеты и мелкочешуйной красноперки, у которых высокий уровень гаплотипического и нуклеотидного разнообразия зафиксирован в материковых популяциях Приморья и существенно более низкий — в сахалинских (Маляр, Брыков, 2016).



**Рис. 2.** Генеалогическая сеть гаплотипов, полученная на основании данных анализа нуклеотидных последовательностей генов *COI* и *cytb* мтДНК мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii* (а), и байесовское консенсусное филогенетическое дерево, отражающее генетическую изменчивость популяций и время дивергенции основных генеалогических линий *Tribolodon brandtii* (б). Размеры окружностей пропорциональны числу особей с указанным гаплотипом. Доля особей кеты с материкового побережья Японского моря отмечена серым цветом. На ветвях сети указано количество нуклеотидных замен между группами гаплотипов. Обозначения гаплотипов как в табл. 1. Достоверность ветвления указана в виде величин апостериорных вероятностей (BI) и бутстреп-индексов (% от 1000 реплик) объединения соседей (NJ) и максимального правдоподобия (ML) (PP/BP/VP).

Распределение генетического разнообразия в выборках мелкочешуйной красноперки совпадает с полученными ранее данными ПДРФ-анализа мтДНК. По данным Брыкова с соавторами (2013), значительная часть изменчивости приходилась на различия между сахалинской выборкой (зал. Анива) и материковыми популяциями.

Высокая изменчивость особей материковой выборки и топология филогенетических реконструкций мелкочешуйной красноперки подтверждают существование предкового рефугиума на территории материкового побережья Японского моря (рис. 2б). Наличие материковых филогрупп гаплотипов В и С (рис. 2а) указывает на присутствие как минимум двух предковых линий мелкочешуйной красноперки. Ранее наличие сходной популяционно-генетической структуры вида было установлено с помощью методов ПДРФ-анализа мтДНК и изменчивости аллозимов (Брыков и др., 2013; Sakai et al., 2002).

Как следует из полученных ранее данных, у кеты филогруппы в значительной степени разделены в пространстве. Показано, что все выявленные гаплотипы из одной филогруппы обнаруживаются в материковых популяциях Японского моря, а большая часть гаплотипов другой филогруппы — в выборке Охотского моря (Маляр, Брыков, 2016). Более полное исследование изменчивости мтДНК кеты, включающее большую часть ареала, выявило четыре статистически значимо выраженные группы популяций: побережье Японского моря, побережье Охотского моря и западная зона Берингова моря, северо-запад Аляски и зал. Аляска (Yoon et al., 2008).

Так как наибольшее генетическое разнообразие у видов встречается в регионах, расположенных в местах возникновения видов или в предполагаемых предковых рефугиумах, то центром происхождения (или рефугиумом в период оледенений) для сахалинского тайменя и крупночешуйной красноперки, вероятно, был о-в Сахалин (Охотское море), а для кеты и мелкочешуйной красноперки — материковое побережье Японского моря.

Таким образом, сравнительный анализ гаплотипических сетей у четырех видов показал наличие, по крайней мере, двух больших филогрупп гаплотипов. Образование филогрупп определялось изоляцией популяций в прошлой истории вида, а генетический обмен между ними отсутствовал или был незначителен на протяжении многих поколений. Такой сценарий формирования двух и более филогрупп подтверждается в случае кеты и мелкочешуйной красноперки, где выявленные филогруппы до сих пор в значительной мере разобщены в пространстве. Иная картина наблюдается в случае крупночешуйной красноперки и тайменя, где отличающиеся филогруппы встречаются в одних и тех же выборках. Для такого распределения мы предполагаем тот же аллопатрический сценарий формирования филогрупп, в ходе которого накопление мутаций

происходило в генетически независимых популяциях. Однако впоследствии, в силу палеогеологических событий в регионе и биологических особенностей видов (например, большая подвижность или меньший уровень “хоминга”), произошло объединение особей с отличающимися филогруппами мтДНК в одну панмиксную популяцию. Таким образом, события географического разделения в прошлом отразились в митохондриальном геноме видов.

#### *Датировка этапов дивергенции филогрупп мтДНК гаплотипов*

Байесовские хронограммы исследованных видов рода *Tribolodon* позволяют выделить несколько этапов дивергенции (табл. 3). Начальный этап формирования эволюционных линий крупночешуйной красноперки связан с дивергенцией “северной” (о-в Сахалин) и “южной” (материковое побережье, Приморье) форм около 1 млн лет назад, что соответствует видовому уровню. Второй этап датирован 450 тыс. лет назад, третий — около 70–10 тыс. лет. У мелкочешуйной красноперки первый этап соответствует 350 тыс. лет назад, второй — 150 тыс. лет и третий — около 35–10 тыс. лет.

Полученные оценки времени дивергенции филогенетических линий мтДНК у дальневосточных красноперок соответствуют плейстоценовой эпохе. Как отмечалось в предыдущих наших работах, в периоды глубоких климатических изменений плейстоцена в регионе северо-западной Пацифики заметно менялись основные характеристики Охотского и Японского морей. Снижение уровня океана в результате осцилляций климата и частичная или полная изоляция от океана с опреснением внутренних морей могли быть основными факторами, определяющими дивергенцию пресноводных и морских рыб. В результате подобных преобразований менялись такие значимые факторы как температура и соленость (Korotky et al., 1997; Каплин, Селиванов, 1999).

При сравнении полученных датировок образования генеалогических линий красноперок с данными по другим видам выявляются общие временные этапы (табл. 3). Так, у сахалинского тайменя и крупночешуйной красноперки близкие значения периодов дивергенции, которые датируются 450–430 тыс. лет назад и приходятся на миндельский (окский) ледниковый период (478–424 тыс. лет назад). У сахалинского тайменя и кеты — практически идентичные значения в 220 тыс. лет, датируемые рисским (днепровским) ледниковым периодом (347–130 тыс. лет назад) (Маляр, Брыков, 2016). Близок к этим оценкам период дивергенции сахалинских и материковых популяций у мелкочешуйной красноперки — 350 тыс. лет, приуроченный к окончанию межледниковой эпохи на границе миндель-рисс. Предпоследний период дивергенции и формирования внутривидовых линий мтДНК у трех из четырех обсуждаемых видов приходится на период 150–70 тыс. лет назад и

**Таблица 3.** Датировка этапов дивергенции внутривидовых единиц исследуемых групп рыб

| Вид                          | Плейстоцен        |                                  |                               |                           | Голоцен                       |
|------------------------------|-------------------|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
|                              | Эоплейстоцен      | Неоплейстоцен                    |                               |                           |                               |
|                              |                   | Миндель<br>(478—424 тыс.<br>лет) | Рисс<br>(347—130 тыс.<br>лет) | Вюрм<br>(110—12 тыс. лет) |                               |
| <i>Parahucho perryi</i>      | —                 | 1 этап<br>(430 тыс. лет)         | 2 этап<br>(220 тыс. лет)      | 3 этап<br>(70 тыс. лет)   | 4 этап<br>(50—10<br>тыс. лет) |
| <i>Tribolodon hakonensis</i> | 1 этап(1 млн лет) | 2 этап<br>(450 тыс. лет)         | —                             | —                         | 3 этап<br>(70—10<br>тыс. лет) |
| <i>Oncorhynchus keta</i>     | —                 | —                                | 1 этап<br>(220 тыс. лет)      | 2 этап<br>(100 тыс. лет)  | 3 этап<br>(50—10<br>тыс. лет) |
| <i>T. brandtii</i>           | —                 | 1 этап (350 тыс. лет)            |                               | 2 этап<br>(150 тыс. лет)  | 3 этап<br>(55—10<br>тыс. лет) |

совпадает с вюрмским (валдайским) оледенением (110–12 тыс. лет назад). Последний этап “взрывного” образования гаплотипов приходится на период 70–10 тыс. лет назад и, очевидно, связан с отступлением ледников и расширением ареалов у исследуемых видов в голоцене (Маляр, 2017).

Таким образом, полученные нами данные дают основание считать, что палеоклиматические и, возможно, палеогеологические процессы в прошлой истории региона оказывали значительное влияние на дивергентную эволюцию ихтиофауны. В ряде случаев обнаруживаются близкие временные значения периодов внутривидовой дивергенции и сходные закономерности распределения генетической изменчивости у разных видов. Это может свидетельствовать, что в эти периоды факторы дивергенции влияли на разные виды сходным образом.

## 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

Большаков С.Г. Некоторые особенности биологии, рост и возраст мелкочешуйной *Tribolodon brandtii* и крупночешуйной *T. hakonensis* дальневосточных

красноперок на юге Приморья // Изв. ТИНРО. 2013. С. 127–144.

Брыков Вл.А., Полякова Н.Е., Семина А.В. Сравнительный анализ изменчивости митохондриальной ДНК у четырех видов дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* (Pisces, Cyprinidae) // Генетика. 2013. Т. 49. № 3. С. 355–365.

Гудков П.К., Полякова Н.Е., Семина А.В., Назаркин М.В. Сравнительный морфологический анализ крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* Günther, 1877 (Cyprinidae, Cypriniformes) // Вopr. ихтиологии. 2010. Т. 50. № 6. С. 772–776.

Каплин П.А., Селиванов А.О. Изменения уровня морей России и развитие берегов: прошлое, настоящее, будущее. М.: ГЕОС. 1999. 299 с.

Маляр В.В., Брыков В.А. Генетическая изменчивость у анадромных рыб кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792) и сахалинского тайменя *Parahucho perryi* (Brevoort, 1856) из северо-западной Пацифики как отражение осцилляций палеоклимата // Биол. моря. 2016. Т. 42. № 4. С. 289–299.

Маляр В.В. Сравнительная филогеография четырех видов рыб семейств Salmonidae и Cyprinidae в Японском и Охотском морях: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток. 2017. 26 с.

Рязанова И.Н., Полякова Н.Е. Дифференциация крупночешуйной красноперки *Tribolodon hakonensis* (Pisces: Cyprinidae) на российской части ареала по данным кариологического анализа и ПЦР-ПДРФ-анализа митохондриальной ДНК // Генетика. 2012. Т. 48. № 2. С. 225–234.

Семина А.В., Полякова Н.Е., Брыков Вл.А. Генетический анализ выявляет криптический вид у дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* // Докл. Академии наук. 2006. Т. 407. № 4. С. 571–573.

Avice J.C. Phylogeography. The History and Formation of Species. Cambridge: Harvard University Press. 2000. 447 p.

Avice J.C., Walker D.E., Johns G.C. Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography //

- Proc. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. 1998. V. 265. № 1407. P. 1707–1712.
- Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
- Brown W.M., George M., Wilson A.C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA // Proc. Natl. Acad. Sci. 1979. V. 76. № 4. P. 1967–1971.
- Crête-Lafrenière A., Weir L.K., Bernatchez L. Framing the Salmonidae family phylogenetic portrait: a more complete picture from increased taxon sampling // PLoS One. 2012. V. 7. № 10. P. e46662.
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing // Nat. Methods. 2012. V. 9. № 8. P. e772.
- Drummond A.J., Suchard M.A., Xie D., Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 // Mol. Biol. Evol. 2012. V. 29. № 8. P. 1969–1973.
- Huson D.H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies // Mol. Biol. Evol. 2006. V. 23. № 2. P. 254–267.
- Korotky A., Grebennikova T., Razjigaeva N. et al. Marine terraces of western Sakhalin Island // Catena. 1997. V. 30. № 1. P. 61–81.
- Librado P., Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // Bioinformatics. 2009. V. 25. № 11. P. 1451–1452.
- Martin A.P., Palumbi S.R. Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular clock // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1993. V. 90. № 9. P. 4087–4091.
- Mayr E. Animal Species and Evolution. Cambridge: Harvard University Press. 1963. 797 p.
- Miller M.A., Pfeiffer W., Schwartz T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees // Proc. Gateway Computing Environments Workshop (GCE). New Orleans. 2010. P. 1–8.
- Sakai H., Goto A., Jeon S.R. Speciation and dispersal of *Tribolodon* species (Pisces, Cyprinidae) around the Sea of Japan // Zool. Sci. 2002. V. 19. № 11. P. 1291–1303.
- Sasaki T., Kartavtsev Y.P., Chiba S.N. et al. Genetic divergence and phylogenetic independence of Far Eastern species in subfamily Leuciscinae (Pisces: Cyprinidae) inferred from mitochondrial DNA analyses // Genes and Genetic Systems. 2007. V. 82. № 4. P. 329–340.
- Stepien C.A., Dillon A.K., Patterson A.K. Population genetics, phylogeography, and systematics of the thorny-head rockfish (*Sebastolobus*) along the deep continental slopes of the North Pacific Ocean // Canadian J. Fish. Aqua. Sci. 2000. V. 57. № 8. P. 1701–1717.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods // Mol. Biol. Evol. 2011. V. 28. № 10. P. 2731–2739.
- Templeton A.R., Routman E., Phillips C.A. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum* // Genetics. 1995. V. 140. № 2. P. 767–782.
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions specific gap penalties and weight matrix choice // Nucleic Acids Res. 1994. V. 22. № 22. P. 4673–4680.
- Watanabe K., Sakai H., Sanada T., Nishida M. Comparative phylogeography of diadromous and freshwater daces of the genus *Tribolodon* (Cyprinidae) // Ichthyol. Res. 2018. V. 65. P. 383–397.
- Yoon M., Sato S., Seeb J.E. et al. Mitochondrial DNA variation and genetic population structure of chum salmon *Oncorhynchus keta* around the Pacific Rim // J. Fish Biol. 2008. V. 73. № 5. P. 1256–1266.
- Zardoya R., Doadrio I. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids // J. Mol. Evol. 1999. V. 49. № 2. P. 227–237.

## Comparative Phylogeographic Analysis of Mitochondrial DNA Variability in Four Fish Species (Salmonidae and Cyprinidae) in the Northwest Pacific

VI. A. Brykov<sup>a</sup> and V. V. Malyar<sup>a</sup>

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

The genetic variability of the mitochondrial genes *COI* and *cytb* was studied in specimens of the big-scaled redbfin *Tribolodon hakonensis* (Günther, 1877) and the small-scaled redbfin *Tribolodon brandtii* (Dybowski, 1872) collected off the coast of Sakhalin Island and the mainland coast of the Sea of Japan. The fragments of the mitochondrial genomes of these taxa are compared to data obtained for the Sakhalin taimen *Parahucho perryi* (Brevoort, 1856) and chum salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792) from similar habitats. A comparative analysis of intraspecific mtDNA indicate that the formation of mtDNA lineages in four species of fish are associated with paleoclimatic changes in the northwestern Pacific region during the Pleistocene and are largely synchronous. In many instances, the calculated time of divergent evolution of mtDNA genealogical lineages coincide, which suggests the influence of similar evolutionary factors on the studied species.

**Keywords:** *Tribolodon hakonensis*, *Tribolodon brandtii*, *Parahucho perryi*, *Oncorhynchus keta*, mitochondrial DNA, phylogeography

УДК 597.08.591.3

## ПЕРВОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ КЛАДOK ИКРЫ ПРОМЕЖУТОЧНОГО ШЛЕМОНОСЦА *Gymnocanthus intermedius* (TEMMINCK ET SCHLEGEL, 1843) (COTTIDAE) В ЗАЛИВЕ ПЕТРА ВЕЛИКОГО (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

© 2023 г. В. В. Панченко<sup>1</sup>, \*, А. А. Баланов<sup>1</sup>

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

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

Поступила в редакцию 11.07.2022 г.

После доработки 24.11.2022 г.

Принята к публикации 24.11.2022 г.

Впервые сообщается о находке в зал. Петра Великого (Японское море) кладок икры промежуточного шлемоносца *Gymnocanthus intermedius* (Temminck et Schlegel, 1843) и обнаружении самца, охраняющего одну из кладок. Икра донная найдена в постзимовальный период при водолазном погружении на глубине 12 м. Приводятся точные данные о глубине обнаружения кладок, их структуре, численности икринок в кладках и о половой принадлежности охраняющего родителя. Сообщаются характеристики икры; дается описание субстрата, на который были отложены кладки. Приводятся диагностические признаки самца, на основании которых он был отнесен к виду *G. intermedius*.

**Ключевые слова:** *Gymnocanthus intermedius*, нерест, самец, кладки икры, зал. Петра Великого, Японское море

**DOI:** 10.31857/S0134347523020067, **EDN:** DVSELG

Промежуточный шлемоносец *Gymnocanthus intermedius* (Temminck et Schlegel, 1843) — низкобореальный приазиатский вид, обитающий в Японском море, в южной части Охотского моря и у тихоокеанского побережья Японии и южных Курильских о-вов. Биология этого вида, в том числе и вопросы размножения, изучена слабо. Известно, что его нерест приурочен к зимнему периоду (Новиков и др., 2002; Kim et al., 2005; Соколовский и др., 2009). В одной из работ упоминается, что в водах Японии икрометание *G. intermedius* проходит зимой у скал на песчаный грунт (Yamazaki et al., 2020), но нет описания мест и глубин нереста, характеристики отложенных кладок икры также отсутствуют. В настоящем сообщении приведено описание места обнаружения кладок *G. intermedius* и рассмотрены некоторые особенности его размножения в зал. Петра Великого.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В основу работы положены данные водолазного погружения 15 марта 2022 г. в б. Парис (о-в Русский) в районе с координатами 43°01' с.ш.—131°56' в.д. на глубине 9–12 м при температуре воды около 0°C. Сборщики: К.К. Дудка и В.В. Панченко.

При погружении, проводившемся для оценки ихтиофауны и отбора ихтиологических проб, с глубины 12 м поднято две кладки икры и шлемоносный бычок из рода *Gymnocanthus*. Бычок пойман ручным сачком и в настоящее время хранится в Музее Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (г. Владивосток) (МНЦМБ № 43493).

Определены стандартная (*SL*) и полная (*TL*) длина тела шлемоносного бычка и меристические признаки: *D1*, *D2*, *A*, *P*, *V* — число лучей в спинных, анальном, грудном и брюшном плавниках. Подсчет лучей в непарных плавниках выполнен по рентгенограмме, полученной на цифровом рентгеноаппарате Faxitron MX-20.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе водолазного погружения были обнаружены две визуально схожие кладки икры. Расстояние между ними составляло около 15 м. На илистом грунте наряду с кладками эпизодически присутствовали: водная растительность, двусторчатые моллюски, асцидии и трубки полихет. Здесь же пойман самец шлемоносного бычка (*TL* 135 мм, *SL* 112 мм, масса 33 г), лежавший

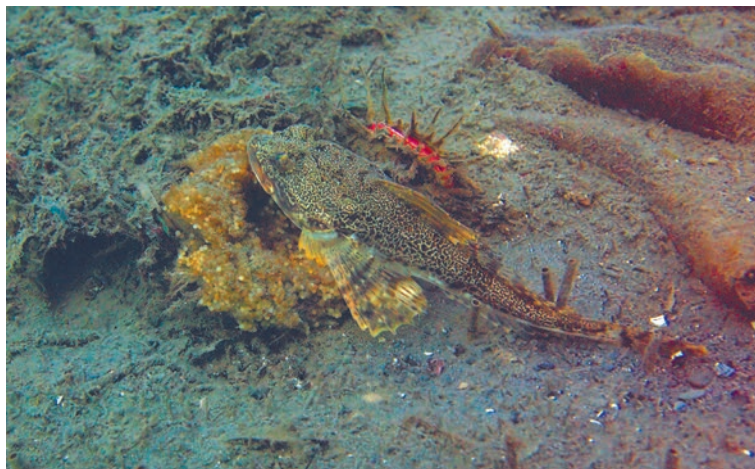


Рис. 1. Самец промежуточного шлемоносца *Gymnocanthus intermedius* на кладке икры.

сверху над одной из кладок и, по-видимому, охранявший ее (рис. 1). Другая кладка никем не охранялась.

Исследование пойманного экземпляра выявило следующие меристические признаки: D1 IX, D2 15, A 16, P 18, V1 3. Кроме того, у него обнаружены длинные заглазничные усики (2.5 раза в диаметре глаза), длинная плечевая игла и узкий, слегка вогнутый межглазничный промежуток. Совокупность этих признаков, по описанию Вильсона (Wilson, 1973) и Накабо (Nakabo, 2002), известна только у одного вида рода *Gymnocanthus* — *Gymnocanthus intermedius*. В зал. Петра Великого (Японское море) помимо *G. intermedius* обитают еще 3 вида из рода *Gymnocanthus*. Но у *G. detrisus* Gilbert & Burke 1912 широкий межглазничный промежуток (vs. — узкий у *G. intermedius*), у *G. herzensteini* Jordan & Starks 1904 16—17 лучей в D2 (vs. — 14—15), у *G. pistilliger* (Pallas 1814) короткая плечевая игла и развитые затылочные бугры (vs. — длинная плечевая игла и почти незаметные затылочные бугры). Ни у одного из сравниваемых видов, за исключением *G. intermedius*, во взрослом состоянии нет заглазничных усиков (Wilson, 1973; Линдберг, Красюкова, 1987; Nakabo, 2002). На основании этих данных исследованный экземпляр определен как *G. intermedius* (Temminck et Schlegel, 1843) и, соответственно, обнаруженные кладки икры отнесены к этому же виду.

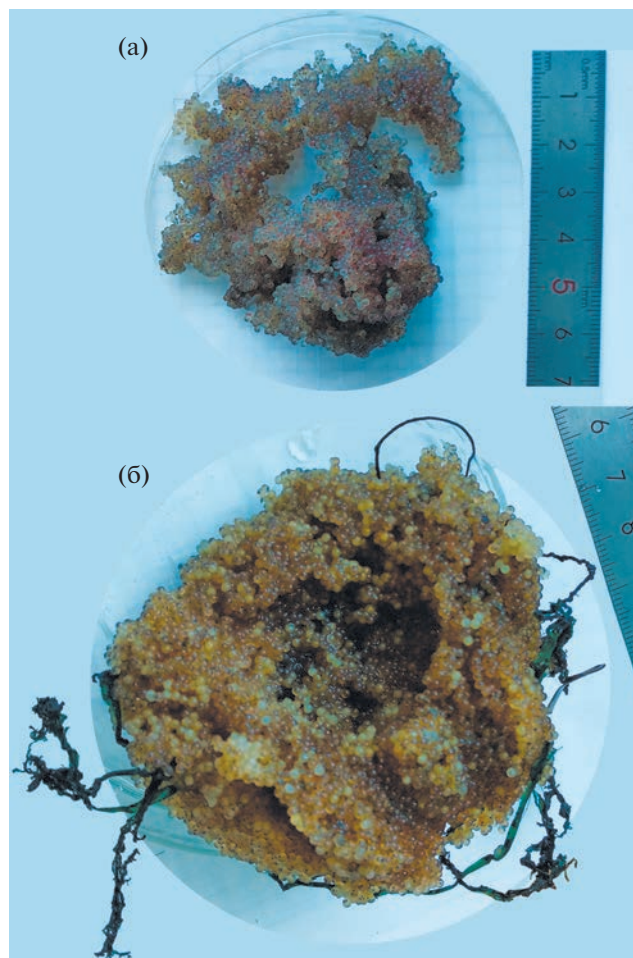
Кладки имели неправильную овальную форму; диаметр первой — 6—7 см (рис. 2а), второй — 7—8 см (рис. 2б). Посередине обе кладки имели характерную вмятину (рис. 2), которая, возможно, была сделана одним из родителей (самцом?) сразу после оплодотворения икры. Нечто похожее описано для терпугов рода *Hexagrammos*, у которых са-

мец после нереста прижимает кладку грудными плавниками к субстрату (Munehara et al., 2000).

Кладка, у которой не было охраняющего самца, содержала 11141 икринку. Число икринок в другой кладке было гораздо больше — 24880 экз. Возможно, разное количество икринок обусловлено различием в размерах выметавших их самок. Не исключено, что меньшая кладка по каким-то причинам осталась без охраны и была частично съедена.

Размеры икринок в поднятых кладках *G. intermedius* варьировали от 1.3 до 1.5 мм. Икринки имели уплощенную закругленную форму. Небольшая часть икринок не содержала живых развивающихся эмбрионов и имела белесый цвет, но более 90% икринок темного цвета содержали подвижные эмбрионы с видимыми сквозь яйцевую оболочку глазами (рис. 2).

Отмеченная нами в середине марта степень развития эмбрионов вполне закономерна, т.к. известно, что в апреле в зал. Петра Великого в планктонных пробах появляются личинки *G. intermedius* (Фадеев, 2005; Соколовский, Соколовская, 2008). В сходные сроки личинки этого вида начинают встречаться в планктоне и в прибрежных водах Японии (Munehara et al., 2009; Yamazaki et al., 2020). Следует отметить, что Ямазаки с соавторами (Yamazaki et al., 2020) в разделе “Введение” (без ссылки на материал или публикацию) указывали, что у берегов Японии *G. intermedius* откладывает икру вдоль скал на песчаный грунт. В б. Парис зал. Петра Великого кладки обнаружены на илистом грунте, который находился не у выходов скальных пород, а на значительном удалении от прибрежной каменистой осыпи.



**Рис. 2.** Кладки икры промежуточного шлемоносца *Gymnocanthus intermedius*: а – без охраняющего самца, б – с охраняющим самцом.

Охрана икры самцами у представителей семейства Cottidae описана неоднократно, в том числе и у представителя рода *Gymnocanthus*. Известно, что у *G. tricuspis* (Reinhardt, 1830) кладки яиц охраняются самцом-родителем вплоть до вылупления личинок (Yamazaki et al., 2020).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность сотруднику Водолазного отдела ННЦМБ ДВО РАН К.К. Дудка,

участвовавшему в сборе материала для настоящего сообщения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Линдберг Г.У., Красюкова З.В. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей. Л.: Наука. 1987. Ч. 5. 526 с.
- Новиков Н.П., Соколовский А.С., Соколовская Т.Г., Яковлев Ю.М. Рыбы Приморья. Владивосток: Дальрыбвтуз. 2002. 552 с.
- Соколовский А.С., Соколовская Т.Г. Атлас икры, личинок и мальков рыб российских вод Японского моря. Владивосток: Дальнаука. 2008. 223 с.
- Соколовский А.С., Соколовская Т.Г., Яковлев Ю.М. Рыбы залива Петра Великого. Владивосток: Дальнаука. 2009. 376 с.
- Фадеев Н.С. Справочник по биологии и промыслу рыб северо-западной части Тихого океана. Владивосток: ТИНРО-Центр. 2005. 366 с.

- Kim I.S., Choi Y., Lee C.L. et al. Illustrated book of Korean fishes. Seoul: Kyo-Hak Publ. 2005. 615 p. (кор. яз.).
- Munehara H., Kanamoto Z., Miura T. Spawning behavior and interspecific breeding in three Japanese greenlings (Hexagrammidae) // Ichthyol. Res. 2000. V. 47. № 3. P. 287–292.
- Munehara H., Tanaka Y., Futamura T. Novel sledge net system employing propulsion vehicles for sampling demersal organisms on sandy bottoms // Estuarine, Coastal Shelf Sci. 2009. V. 83. P. 371–377. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009.04.004>
- Nakabo T. Fam. Cottidae // Fishes of Japan with pictorial keys to the species. Tokyo: Tokai Univ. Press. 2002. V. 1. P. 628–650, 1525.
- Wilson D.E. Revision of the cottid genus *Gymnocanthus*, with a description of their osteology. M.Sc. thesis. Univ. of British Columbia. Vancouver. Canada. 1973. 223 p.
- Yamazaki A., Ogino A., Munehara H. Dispersion and settlement of two sympatric sculpins of the genus *Gymnocanthus* // J. Fish Biol. 2020. V. 96. P. 1004–1013. <https://doi.org/10.1111/jfb.14291>

## First Finding of Egg Masses of the Whip Sculpin *Gymnocanthus intermedius* (Temminck et Schlegel, 1843) (Cottidae) in Peter the Great Bay (Sea of Japan)

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

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

For the first time, we report the finding of egg masses and an egg-guarding male of the whip sculpin *Gymnocanthus intermedius* (Temminck et Schlegel, 1843) in Peter the Great Bay (Sea of Japan). Bottom eggs were found in the post-wintering period during a scuba dive at a depth of 12 m. Exact data on the depth of occurrence and structure of the egg masses, the number of eggs per mass, and the sex of the guarding parent fish are provided. Egg characteristics and the substrate, on which the egg masses were laid, are described. The diagnostic features of the male that allowed it to be assigned to *G. intermedius* are given.

**Keywords:** *Gymnocanthus intermedius*, spawning, male, egg masses, Peter the Great Bay, Sea of Japan