



ISSN 2499-9768 print
ISSN 2499-9776 online

**МОРСКОЙ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

Том 4 № 1

2019

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

включён в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Российской Федерации.
Журнал реферируется Международной информационной системой по водным наукам и рыболовству
Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts (ASFA, ProQuest),

Всероссийским институтом научно-технической информации (ВИНИТИ),

а также Российским индексом научного цитирования (РИНЦ) на базе Научной электронной библиотеки *elibrary.ru*.

Все материалы проходят независимое двойное слепое рецензирование.

Редакционная коллегия

Главный редактор

Егоров В. Н., акад. РАН, д. б. н., проф., ИМБИ РАН

Заместитель главного редактора

Солдатов А. А., д. б. н., проф., ИМБИ РАН

Ответственный секретарь

Корнийчук Ю. М., к. б. н., ИМБИ РАН

Адрианов А. В., акад. РАН, д. б. н., проф.,
ИБМ ДВО РАН

Азовский А. И., д. б. н., проф., МГУ

Генкал С. И., д. б. н., проф., ИБВВ РАН

Довгаль И. В., д. б. н., проф., ИМБИ РАН

Зуев Г. В., д. б. н., проф., ИМБИ РАН

Коновалов С. К., чл.-корр. РАН, д. г. н., МГИ РАН

Мильчакова Н. А., к. б. н., ИМБИ РАН

Миронов О. Г., д. б. н., проф., ИМБИ РАН

Неврова Е. Л., д. б. н., ИМБИ РАН

Празукин А. В., д. б. н., ИМБИ РАН

Руднева И. И., д. б. н., проф., ИМБИ РАН

Рябушко В. И., д. б. н., ИМБИ РАН

Самышев Э. З., д. б. н., проф., ИМБИ РАН

Совга Е. Е., д. г. н., проф., МГИ РАН

Трапезников А. В., д. б. н., ИЭРиЖ УрО РАН

Финенко З. З., д. б. н., проф., ИМБИ РАН

Arvanitidis Chr., D. Sc., HCMR, Greece

Bat L., D. Sc., Prof., Sinop University, Turkey

Ben Souissi J., D. Sc., Prof., INAT, Tunis

Kociolek J. P., D. Sc., Prof., CU, USA

Magni P., D. Sc., CNR-IAS, Italy

Moncheva S., D. Sc., Prof., IO BAS, Bulgaria

Pešić V., D. Sc., Prof., University of Montenegro,

Montenegro

Zaharia T., D. Sc., NIMRD, Romania

Editorial Board

Editor-in-Chief

Egorov V. N., Acad. of RAS, D. Sc., Prof., IMBR RAS

Assistant Editor

Soldatov A. A., D. Sc., Prof., IMBR RAS

Executive Secretary

Kornychuk Yu. M., PhD, IMBR RAS

Adrianov A. V., Acad. of RAS, D. Sc., Prof.,
IMB FEB RAS, Russia

Arvanitidis Chr., D. Sc., HCMR, Greece

Azovsky A. I., D. Sc., Prof., MSU, Russia

Bat L., D. Sc., Prof., Sinop University, Turkey

Ben Souissi J., D. Sc., Prof., INAT, Tunis

Dovgal I. V., D. Sc., Prof., IMBR RAS

Finenko Z. Z., D. Sc., Prof., IMBR RAS

Genkal S. I., D. Sc., Prof., IBIW RAS, Russia

Kociolek J. P., D. Sc., Prof., CU, USA

Konovalev S. K., Corr. Member of RAS, D. Sc.,

Prof., MHI RAS, Russia

Magni P., D. Sc., CNR-IAS, Italy

Milchakova N. A., PhD, IMBR RAS

Mironov O. G., D. Sc., Prof., IMBR RAS

Moncheva S., D. Sc., Prof., IO BAS, Bulgaria

Nevrova E. L., D. Sc., IMBR RAS

Pešić V., D. Sc., Prof., University of Montenegro, Montenegro

Prazukin A. V., D. Sc., IMBR RAS

Rudneva I. I., D. Sc., Prof., IMBR RAS

Ryabushko V. I., D. Sc., IMBR RAS

Samyshev E. Z., D. Sc., Prof., IMBR RAS

Sovga E. E., D. Sc., Prof., MHI RAS, Russia

Trapeznikov A. V., D. Sc., IPAE UB RAS, Russia

Zaharia T., D. Sc., NIMRD, Romania

Zuyev G. V., D. Sc., Prof., IMBR RAS

Адрес редакции и издателя

Институт морских биологических исследований
имени А. О. Ковалевского РАН.

Пр. Нахимова, 2, Севастополь, 299011, Россия.

Телефон: +7 8692 54-41-10.

E-mail: mbj@imbr-ras.ru.

Address of the Editorial Office

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research
Russian Academy of Sciences.

2 Nakhimov ave., Sevastopol, 299011, Russian Federation.

Tel.: +7 8692 54-41-10.

E-mail: mbj@imbr-ras.ru.

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
ИНСТИТУТ МОРСКИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ИМЕНИ А. О. КОВАЛЕВСКОГО

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

2019 Том 4 № 1

Основан в феврале 2016 г.

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Выходит 4 раза в год

СОДЕРЖАНИЕ

Научные сообщения

Беляев Б. Н., Береговая Н. М.

Новая технология культивирования черноморского гелидиума
Gelidium spinosum (S. G. Gmelin) P. C. Silva (Rhodophyta) 3–11

Буруковский Р. Н.

Состав пищи креветки *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Crustacea Decapoda, Palaemonidae)
в Каркинитском заливе Чёрного моря в сентябре 2016 г. 12–23

Вялова О. Ю.

Рост и сроки получения товарной триплоидной устрицы в лимане Донузлав
(Чёрное море, Крым) 24–32

Железнова С. Н.

Продукционные характеристики морской диатомовой водоросли
Cylindrotheca closterium (Ehrenb.) Reimann et Lewin
в интенсивной культуре при различных источниках азота в питательной среде 33–44

Зуев Г. В.

Современная популяционная структура европейского анчоуса *Engraulis encrasicolus* L.
(Engraulidae: Pisces) в Чёрном и Азовском морях и история её формирования 45–62

Климова Т. Н., Субботин А. А., Мельников В. В., Серебренников А. Н., Подрезова П. С.

Пространственное распределение ихтиопланктона у Крымского полуострова
в летний сезон 2013 г. 63–80

Романова Д. Ю.

Разнообразие клеточных типов у гаплотипа H4 Placozoa sp. 81–90

Смирнов Д. Ю., Аганесова Л. О., Ханайченко А. Н.

Изменчивость размерных характеристик и выживаемости науплиусов крымских артемий
Artemia spp. (Branchiopoda: Anostraca) при питании микроводорослями разных видов 91–99

Тренкеншу Р. П.

Расчёт удельной скорости роста микроводорослей 100–108

Заметки

Смирнова М. М.

Микроцистины в литорали Куршского залива в 2017 г.
по данным иммунохроматографического анализа 109–111

Хроника и информация

Памяти Александра Романовича Болтачева (21.07.1952 – 30.01.2019) 112–114

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
ZOOLOGICAL INSTITUTE
KOVALEVSKY INSTITUTE
OF MARINE BIOLOGICAL RESEARCH

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

2019 Vol. 4 no. 1

Established in February 2016

SCIENTIFIC JOURNAL

4 issues per year

CONTENTS

Scientific communications

Belyaev B. N., Beregovaya N. M.

New technology of Black Sea algae *Gelidium spinosum* (S. G. Gmelin)
P. C. Silva (Rhodophyta) cultivation (in Russ.) 3–11

Burukovsky R. N.

Food composition of the shrimp *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Crustacea Decapoda, Palaemonidae)
in Karkinitsky Bay of the Black Sea in September 2016 (in Russ.) 12–23

Vyalova O. Yu.

Growth and terms of obtaining marketable triploid oysters
in Donuzlav Liman (Black Sea, Crimea) (in Russ.) 24–32

Zheleznova S. N.

Production characteristics of the diatom
Cylindrotheca closterium (Ehrenb.) Reimann et Lewin
grown in an intensive culture at various nitrogen sources in the medium (in Russ.) 33–44

Zuyev G. V.

Current population structure of European anchovy *Engraulis encrasicolus* L.
(Engraulidae: Pisces) in the Sea of Azov – Black Sea basin and history of its formation (in Russ.) 45–62

Klimova T. N., Subbotin A. A., Melnikov V. V., Serebrennikov A. N., Podrezova P. S.

Spatial distribution of ichthyoplankton near the Crimean Peninsula
in the summer spawning season 2013 (in Russ.) 63–80

Romanova D. Y.

Cell types diversity of H4 haplotype Placozoa sp. (in Russ.) 81–90

Smirnov D. Yu., Aganesova L. O., Khanaychenko A. N.

Variability of size characteristics and survival of the nauplii of Crimean brine shrimp
Artemia spp. (Branchiopoda: Anostraca) feeding on different species of microalgae (in Russ.) 91–99

Trenkenshu R. P.

Calculation of the specific growth rate of microalgae (in Russ.) 100–108

Notes

Smirnova M. M.

Presence of microcystins in the littoral zone of the Curonian Lagoon
by the data of immunochromatographic analysis in 2017 (in Russ.) 109–111

Chronicle and information

To the memory of Alexander Boltachev (21.07.1952 – 30.01.2019) (in Russ.) 112–114



НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 582.273:573.6(262.5)

**НОВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЧЕРНОМОРСКОГО ГЕЛИДИУМА
GELIDIUM SPINOSUM (S. G. GMELIN) P. C. SILVA (RHODOPHYTA)**

© 2019 г. **Б. Н. Беляев, Н. М. Береговая**

Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

E-mail: belyaevbob@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.04.2018; после доработки 19.07.2018;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Приведены результаты многолетних исследований условий культивирования красной черноморской водоросли *Gelidium spinosum* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) в системах инженерного типа для повышения содержания в ней R-фикоэритрина. Защищённые патентами методики разработаны после изучения влияния на рост биомассы гелидиума ряда факторов (температура, освещённость и режим протока питательной среды, насыщаемой биогенами и углекислым газом) и способов борьбы с обрастаниями. Актуальность исследования определяется ценностью гелидиума как источника R-фикоэритрина — натурального пигмента, пищевого красителя, а также мощного и дорогого антиоксиданта, используемого в иммунной диагностике, микроскопии и цитометрии. Цель работы — оптимизировать условия культивирования черноморского гелидиума в береговых системах инженерного типа для увеличения выхода R-фикоэритрина с единицы площади культиваторов. В качестве материала использовали гелидиум из обрастаний скал и берегоукрепительных сооружений в районе Севастополя, который культивировали в лабораторной установке при температуре 15–27 °С и освещённости 10–25 клк в режиме 18 ч день : 6 ч ночь (06:00–00:00 и 00:00–06:00 соответственно) в вариациях протока питательной среды на основе фильтрованной черноморской воды с добавками поваренной соли, солей азота, фосфора, железа, магния и марганца. Урожай в экспериментах 2017 г. — $(96,2 \pm 8,8) \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$ сырой массы гелидиума. При минимальном урожае $87,4 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2}$, минимуме сухого вещества в 36 % и содержании в нём фикоэритрина до $12 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ выход R-фикоэритрина составит $378,6 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$. В перспективе береговая система культиваторов глубиной 0,5 м и зеркальной площадью в 1 га при её работе 300 дней в году позволит получать продукцию не менее 1100 кг R-фикоэритрина.

Ключевые слова: макрофиты, гелидиум, культивирование, R-фикоэритрин, борьба с эпифитами, состав и подвижность питательной среды, температура, освещённость

Макрофиты обладают способностью извлекать питательные вещества из смеси морской и сточной воды. В 1970-х гг. крупномасштабные инженерные системы, предназначенные для культивирования этих растений на берегу, стали рассматривать с точки зрения пригодности для мелиорации среды [18]. Что касается гелидиума, его культивирование во всём мире традиционно вызывало большой интерес в связи с высоким содержанием (от 25 до 50 % сухого вещества) и качеством добываемого из него агара (намного более ценного по своим показателям, чем агар, получаемый из других макрофитов) [19, 20]. Широко распространено его использование в кулинарии, кондитерской промышленности и медицине (среди ценных свойств агара — укрепление суставов, а также разжижение крови и удаление из неё излишков холестерина). В настоящее время расфасованный

в мешки по 25 кг агар, который производится в разных странах от Чили до Японии, предлагается многими фирмами в России по цене от 1100 до 1950 руб. за килограмм [1]. Между тем более ценным компонентом гелидиума является R-фикоэритрин — натуральный пигмент, пищевой краситель, а также мощный антиоксидант, используемый в иммунной диагностике, микроскопии и цитометрии [17], стоимость которого — 3250–14000 долларов (примерно 182130–784560 руб.) за 1 грамм [15]. Максимальные запасы гелидиума, обнаруженные в Чёрном море в 1960-е гг., составляли лишь три тонны [13]. С учётом всего вышеизложенного был сделан вывод о целесообразности проведения исследований по культивированию красной черноморской водоросли (прежде всего как источника R-фикоэритрина) в системах инженерного типа.

Первый опыт культивирования гелидиума в ФГБУН ИМБИ с учётом установленного дальневосточными исследователями факта не сопряжения функций роста биомассы макрофита и накопления в ней специфических веществ [11] проводили с недельным циклом в два этапа:

- 1 — активный рост при ежедневном повышении начальной концентрации азота ($3 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) и фосфора ($0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) пропорционально увеличению биомассы;
- 2 — «отдых» при пониженной освещённости и температуре [12].

Этот способ не мог быть внедрён в практику из-за сильного обрастания гелидиума эпифитами. Такой приём для подавления эпифитов, как ежедневное обсушивание и импульсное питание, который с успехом был использован при разработке способа культивирования черноморской водоросли *Laurencia papillosa* (Forsk.) Grev. [10], не давал требуемого эффекта при культивировании гелидиума, у которого ветви талломов в 1,2–1,5 раза тоньше, а значит, отношение площади поверхности к биомассе больше. При увеличении продолжительности обсушивания до 100 минут страдал и сам базифит: снижались темпы весового роста, в том числе из-за потери времени на обсушивание.

Гелидиум подвержен обрастанию эпифитами в процессе интенсивного культивирования. В связи с этим возник вопрос о возможности постоянного (круглогодичного) сохранения определённого объёма исходного материала в системах инженерного типа: это давало бы возможность запускать процесс независимо от погодных условий. Был проведён эксперимент по содержанию красной черноморской водоросли в лаборатории, состоящий из семи этапов [6]. На первом этапе гелидиум, собранный 05.10.2006, содержали в 250-литровом аквариуме с фильтрованной черноморской водой солёностью 17–18‰ в течение 112 суток при барботаже сжатым воздухом, температуре 10–12 °С и освещённости не более 0,3 клк. На последующих шести этапах (вплоть до 22.10.2007) гелидиум вовлекали в интенсивное культивирование в лабораторной установке с восемью рабочими объёмами [3] с подкормкой азотом, фосфором и железом, чередовавшееся с фазами «отдыха» в аквариуме. Это давало 100%-ную гарантию однородности экспериментального материала.

Путь борьбы с эпифитами был определён при исследовании влияния на продуктивность гелидиума такого фактора, как солёность: её повышение до 26–34‰ не только ингибировало эпифиты, но и увеличивало удельную скорость весового роста водоросли [4]. Кроме того, были повышены начальные концентрации азота (до $6 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) и фосфора (до $1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$), и их дополнительно увеличивали ежедневно на 5–7% по мере наращивания биомассы. В качестве стимулятора роста использовали хлорное железо в виде $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в диапазоне концентраций $1,68\text{--}2,16 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, сваренное с $13\text{--}17 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ EDTA- Na_2 . Всё это в совокупности позволило увеличить урожай гелидиума с единицы зеркальной поверхности культиватора в 1,7 раза — с (56 ± 2) до $(97 \pm 6) \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$ — при уменьшении в 3,5 раза количества эпифитов. На этот способ культивирования гелидиума был выдан патент UA 96379 [16]. Между тем при увеличении удельной скорости весового роста гелидиума μ в 1,3 раза содержание R-фикоэритрина по упомянутой ранее причине [11] не превышало таковое в исходном свежем материале. Этот способ давал низкий [менее 0,56% от абсолютно сухого вещества (далее — АСВ)] выход R-фикоэритрина, поэтому были проанализированы результаты влияния на его содержание добавок двух форм железа — хлорного и сернокислого [7].

Во-первых, оказалось, что использование обеих добавок в качестве стимулятора роста биомассы приводило к уменьшению процентного содержания фикоэритрина по сравнению со средним нулевым вариантом $[(0,82 \pm 0,10) \%$ сухого веса], причём оно не восстанавливалось за время «отдыха» в аквариуме, через который не осуществляли проток питательной среды. Его среднее содержание для вариантов с хлорным железом составило $(0,48 \pm 0,08) \%$, а с сернокислым — $(0,67 \pm 0,10) \%$. Между тем при большем суммарном приросте за 33 дня биомассы гелидиума в трёх культиваторах с хлорным железом (23,03 г), чем в трёх культиваторах с сернокислым железом (20,77 г), общее количество R-фикоэритрина в вариантах с сернокислым железом было на 26 % выше.

Во-вторых, нерегламентированное повышение солёности питательной среды до 26‰ для подавления эпифитов, например с помощью поваренной соли, при производстве которой удаляют соединения марганца и магния, причисляемых к «металлам жизни» и совершенно необходимых при фотосинтезе (они активируют ферменты, участвующие в процессе фосфорилирования), приводит к уменьшению процентного содержания этих металлов в питательной среде по отношению к таковому ионов натрия и хлора. Это могло отрицательно повлиять на содержание R-фикоэритрина в культивируемом гелидиуме. Обнаружено, что добавки магния в диапазоне $80\text{--}120 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в питательную среду приводят к увеличению его содержания в водорослях в 1,5 раза [8]. Также выявлено, что добавки марганца в количестве $0,55 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ в питательную среду, обогащённую азотом ($4,8 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), фосфором ($0,8 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), хелатированным железом ($0,5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$) и магнием ($50 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), приводят к увеличению содержания R-фикоэритрина на 30 % [9].

Ежедневное приготовление новой питательной среды — довольно трудоёмкий процесс, и при постоянном протоке среды он не решает задачу оптимального обеспечения биогенами непрерывно увеличивающейся биомассы. Более того, установлено, что с её ростом при постоянном объёме питательной среды удельная скорость потребления азота в течение суток падает с 71 до $37 \text{ мкг}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$, а фосфора — с 9,6 до $6,4 \text{ мкг}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$ [5].

Анализ всех перечисленных недостатков и свежих экспериментальных данных лёг в основу разработки нового способа культивирования черноморского гелидиума.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили талломы черноморского гелидиума *Gelidium spinosum* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) высотой 35–55 мм, традиционно собираемые вручную на глубине до 1 м с камней и берегоукрепительных сооружений вблизи радиобиологического корпуса ФГБУН ИМБИ (Чёрное море, Севастополь, б. Мартынова, б. Карантинная). Однородность талломов удостоверяли сотрудники отдела биотехнологий и фиторесурсов с. н. с. к. б. н. Евстигнеева И. К. и м. н. с. Танковская И. Н.

В промежутках между экспериментами материал содержали в 250-литровом аквариуме с протоком 0,5 объёма в сутки фильтрованной черноморской воды солёностью 17,5–18,0‰, при температуре 10–12 °С и дневной освещённости 0,2–0,5 клк. Эксперименты по поиску оптимальных условий культивирования гелидиума проводили с использованием математических методов планирования [2] на лабораторной установке с восемью рабочими объёмами ёмкостью 1,5 л со скошенным дном [3] в диапазоне температур 15–27 °С и освещённости 10–25 клк в режиме 18 ч день : 6 ч ночь (06:00–00:00 и 00:00–06:00 соответственно). Питательную среду на основе фильтрованной черноморской воды, солёность которой повышали до 26‰ с помощью поваренной соли, насыщали азотом от 2,4 до $8,54 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде KNO_3 или NaNO_3 ; фосфором — от 0,8 до $1,77 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде KH_2PO_4 ; железом — от 0,35 до $1,39 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ или $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в сочетании с 8–17 мг EDTA- Na_2 на 1 г соли; марганцем — до $0,55 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$; кобальтом — до $0,3 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$; цинком — до $0,06 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; магнием — от 40 до $120 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ в виде $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

В качестве выходных параметров использовали прирост биомассы, содержание R-фикоэритрина и среднюю удельную скорость весового роста, которую вычисляли по формуле:

$$\mu = \frac{\ln W_t - \ln W_0}{t}, \quad (1)$$

где W_0 — начальная масса, г;

W_t — конечная масса, г;

t — время между взвешиваниями, сутки.

Концентрацию R-фикоэритрина определяли по стандартной методике [14]. Солёность измеряли зондом HI98130 Combo фирмы HANNA Instruments [4] с точностью $\pm 2\%$ ($\pm 0,35\text{‰}$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как и в способе по патенту UA 96379, недельное циклическое выращивание включало фазы «отдыха» в аквариуме при температуре 10–12 °С и дневной освещённости 0,2–0,5 клк, приготовление питательной среды на основе фильтрованной черноморской воды, доведённой до солёности 26 ‰, засев среды фрагментами гелидиума с начальной плотностью 2,0–2,5 кг·м⁻² при освещённости на поверхности воды 18–20 клк в режиме 18 ч день : 6 ч ночь, температуре питательной среды 15–19 °С в феврале, марте и ноябре, 19–23 °С в апреле, мае, сентябре и октябре, 23–27 °С в летние месяцы, удержание её в течение 36–48 ч от начала цикла вблизи верхней границы диапазона, оптимального для текущего периода, и снижение её к концу цикла. Такой приём предполагал «пробуждение» водоросли после «отдыха» при пониженной температуре и освещённости.

Не изменился и режим барботирования среды сжатым воздухом, обеспечивающий объёмное вращение водорослей, поддержание pH среды на уровне 7,9–8,2 путём добавления углекислоты из расчёта 25–30 г на 1 кг водорослей в сутки, проток питательной среды, которую насыщают биогенами в виде солей, содержащих азот, фосфор и хелатированное железо, предварительно проваренное в дистилляте совместно с EDTA-Na₂, сбор урожая и отбор для последующих циклов наиболее целых и чистых от обрастаний водорослей.

Существенное отличие разрабатываемого способа от других заключалось в изменении состава питательной среды — в замене хлорного железа на серноокисное и в добавлении солей марганца и магния при использовании пищевой соли NaCl для повышения солёности питательной среды. Кроме того, значительно была упрощена технология. Вместо ежедневного приготовления новых порций добавок питательных веществ в среду, возрастающих пропорционально росту биомассы гелидиума, была определена их оптимальная исходная концентрация, и в зависимости от начальной плотности посадки гелидиума задавался проток питательной среды от 1,0–1,7 объёма в сутки в начале цикла до 1,6–2,2 — в его конце.

Эксперимент по этому способу выращивания гелидиума с недельным циклом проводили 56 суток (с 27 февраля по 24 апреля 2017 г.) с материалом, который собрали в сентябре — октябре 2016 г. из обрастаний волнолома перед зданием радиобиологического корпуса ФГБУН ИМБИ и содержали в проточном 250-литровом многосекционном аквариуме при дневной освещённости 0,2–0,5 клк, температуре 10–12 °С и протоке фильтрованной черноморской воды около 1 л·ч⁻¹.

За две недели до начала эксперимента водоросли в аквариуме перебрали и промыли, через него запустили со скоростью 0,5 л·ч⁻¹ проток питательной среды на основе фильтрованной черноморской воды с солёностью 17,5 ‰, на каждый литр которой добавляли 8,5 г поваренной соли; 43,5 мг KNO₃; 6,15 мг KH₂PO₄·3H₂O; 5,76 мг FeSO₄·7H₂O, предварительно проваренного в дистилляте совместно с 15 мг EDTA-Na₂; 2,47 мг MnCl₂·4H₂O; 1,03 г MgSO₄·7H₂O (так, чтобы суммарная солёность не превышала 27,5 ‰). Для подращивания гелидиума использовали те же два культиватора размером 0,3×0,3×0,5 м (площадью 0,09 м², объёмом 45 л), что и при разработке известного способа [16].

В культиватор № 1 (К-1) из секции 1 аквариума (рис. 1) загрузили 180 г гелидиума, а в культиватор № 2 (К-2) — 225 г из его секции 3. Температуру среды, прошедшей через фильтр (Ф), в аквариуме поддерживали с помощью терморегулятора Тр-1 на уровне $(10 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, а освещённость в дневное время — на уровне не более 0,5 клк. Заполнив культиваторы № 1 и 2 приготовленной питательной средой, установили её проток через К-1 — $2 \text{ л}\cdot\text{ч}^{-1}$ ($1,07 \text{ об}\cdot\text{сут}^{-1}$) — и через К-2 — $3 \text{ л}\cdot\text{ч}^{-1}$ ($1,6 \text{ об}\cdot\text{сут}^{-1}$), увеличивая ежесуточно на $0,2 \text{ л}\cdot\text{ч}^{-1}$. Температуру питательной среды на входе в культиваторы в течение первых 36 ч первого цикла с помощью терморегулятора ТР-2 поддерживали на уровне $(19 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, а последующие пять суток — на уровне $16\text{--}17^\circ\text{C}$. Освещённость на поверхности воды в культиваторах — $(20 \pm 0,3)$ клк. Значения рН среды поддерживали на уровне 7,9–8,2 подачей углекислоты из расчёта 25–30 г на 1 кг водорослей в сутки: в К-1 — $4,6 \text{ г}\cdot\text{сут}^{-1}$, а в К-2 — $6,7 \text{ г}\cdot\text{сут}^{-1}$. Культиваторы барботировали сжатым воздухом для создания объёмного вращения питательной среды вместе с талломами водорослей.

Через семь суток сырую биомассу гелидиума взвесили и, промыв, вернули в секции 1 и 3 аквариума, а в очищенные культиваторы загрузили 180 и 225 г гелидиума из секций 2 и 4. Культивирование проводили при тех же условиях освещённости, температуры и питания, что и в первом цикле. По окончании второго цикла гелидиум взвесили, промыли и вернули в секции 2 и 4 аквариума. Для запуска третьего цикла освободили секции 1 и 3, отобрали, соответственно, 180 и 225 г наиболее чистых и здоровых талломов и загрузили в культиваторы 1 и 2, а приросты биомасс использовали в качестве урожая, определив в них содержание АСВ и общее количество

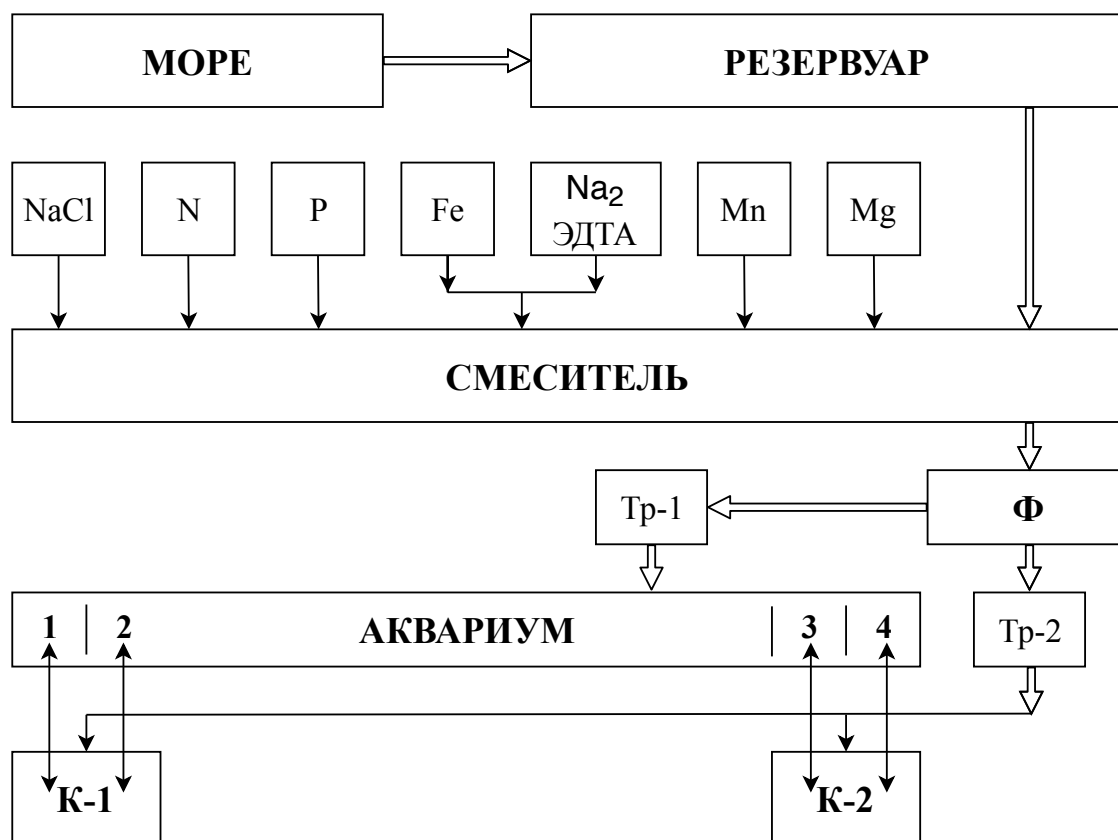


Рис. 1. Схема выращивания черноморского гелидиума для получения R-фикоэритрина. К-1, К-2 — культиваторы; Ф — фильтр; Тр-1, Тр-2 — терморегуляторы

Fig. 1. Scheme of growing of Black Sea gelidium for obtaining R-phycoerythrin. К-1, К-2 – cultivators; Ф – filter; Тр-1, Тр-2 – thermoregulators

R-фикоэритрина. Среднюю температуру питательной среды в культиваторах повышали каждые два цикла на 1 °С. В каждом культиваторе провели по восемь циклов. Результаты представлены в табл. 1, где:

- ΔW_n , г — приращение (урожай) сырой биомассы гелидиума за неделю;
- μ — удельная скорость весового роста;
- % АСВ — процент абсолютно сухого вещества в пробе;
- R-фэ, мг·г⁻¹ АСВ — содержание R-фикоэритрина на грамм абсолютно сухого вещества;
- R-фэ, мг — общее количество R-фикоэритрина в приросте.

Таблица 1. Прирост биомассы гелидиума и концентрация R-фикоэритрина в течение восьми недель эксперимента

Table 1. Growth of gelidium biological mass and concentration of R-phycoerythrin during eight weeks of the experiment

№ цикла	Культиватор № 1					Культиватор № 2				
	ΔW_n , г	μ	% АСВ	R-фэ, мг·г ⁻¹ АСВ	R-фэ, мг	ΔW_n , г	μ	% АСВ	R-фэ, мг·г ⁻¹ АСВ	R-фэ, мг
1	23,0	0,017	40,4	12,8	119,0	27,8	0,017	39,6	13,8	151,9
2	25,4	0,019	39,1	12,0	119,1	29,7	0,018	38,7	14,4	148,3
3	49,7	0,035	38,5	13,3	254,5	54,1	0,031	37,9	12,9	264,5
4	50,4	0,035	38,0	14,7	281,5	58,3	0,033	38,1	14,0	311,0
5	68,7	0,046	37,0	13,9	357,1	83,2	0,045	38,5	13,7	438,8
6	77,6	0,051	37,9	14,4	423,5	88,3	0,047	37,9	13,2	441,7
7	79,5	0,052	36,1	15,1	433,4	94,1	0,050	36,5	12,7	436,2
8	76,2	0,050	37,2	16,2	459,2	93,7	0,050	37,0	13,1	454,2
Σ	440,5				2447,3	529,2				2646,6

Суммарный урожай (прирост) сырой массы гелидиума для культиватора № 1 за восемь недель составил 440,5 г (87,4 г·м⁻²·сут⁻¹), а для культиватора № 2 — 529,2 г (105,0 г·м⁻²·сут⁻¹) (в среднем — (96,2 ± 8,8) г·м⁻²·сут⁻¹). Этот результат вполне сопоставим с результатом наращивания биомассы по известному способу [16] на аналогичном оборудовании (461,5 г и 520,0 г). Между тем по количеству получаемого R-фикоэритрина методы отличаются весьма существенно — (14,1 ± 2,1) мг·г⁻¹ АСВ для К-1 и (13,55 ± 0,85) мг·г⁻¹ АСВ для К-2 против (6,7 ± 1,0) мг·г⁻¹ АСВ [7].

Таким образом, если взять минимальный урожай сырой массы гелидиума 87,4 г·м⁻²·сут⁻¹, то при минимальном содержании сухого вещества 36 % и при содержании в нём фикоэритрина до 12 мг·г⁻¹ система культиваторов с глубиной не менее 0,5 м и общей площадью зеркальной поверхности 1 га обеспечит урожай не менее 1100 кг чистого R-фикоэритрина при работе не более 300 дней в году.

Заключение. Принципиальное отличие предлагаемой технологии культивирования гелидиума как источника R-фикоэритрина от других методик заключается в изменении состава питательной среды, а именно в замене хлорного железа серноокислым и в добавлении солей марганца и магния при повышении её солёности поваренной солью для подавления эпифитов.

Прогрессивным и значительно упрощающим технологию оказался метод подачи в культиваторы питательной среды, скорость протока которой при постоянной концентрации биогенов повышают пропорционально увеличению культивируемой биомассы. Всё это вместе с осуществлением постоянного слабого протока питательной среды через аквариум, где водоросли находятся в режиме «отдыха» при пониженной температуре и освещённости, способствовало увеличению накопления R-фикоэритрина в талломах гелидиума более чем в 2 раза по сравнению с результатом, достигаемым при применении известной ранее технологии.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации АААА-А18-118021350003-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Агар в Севастополе* [Электронный ресурс]. URL: <https://sevastopol.tiu.ru/Agar.html> [дата обращения 31.03.2018]. [*Agar v Sevastopole* [Electronic resource]. URL: <https://sevastopol.tiu.ru/Agar.html> [accessed 31.03.2018]. (in Russ.)]
2. Адлер Ю. П., Маркова Е. В., Грановский Ю. В. *Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий*. Москва : Наука, 1976. 280 с. [Adler Yu. P., Markova E. V., Granovskiy Yu. V. *Planirovanie eksperimenta pri poiske optimalnykh usloviy*. Moscow: Nauka, 1976, 280 p. (in Russ.)]
3. Беляев Б. Н. Техническое обеспечение культивирования макрофитов // *Рыбное хозяйство Украины*. 2001. № 5. С. 21–24. [Belyaev B. N. Tehnicheskoe obespechenie kultivirovaniya makrofitov. *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 2001, no. 5, pp. 21–24. (in Russ.)]
4. Беляев Б. Н., Береговая Н. М., Далекая Л. Б. Влияние солености на продуктивность красной черноморской водоросли *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. // *Рыбное хозяйство Украины*. 2005. № 6(41). С. 12–17. [Belyaev B. N., Beregovaya N. M., Dalekaya L. B. Vliyanie solenosti na produktivnost' krasnoi chernomorskoj vodorosli *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 2005, № 6 (41), pp. 12–17. (in Russ.)]
5. Беляев Б. Н. Скорость потребления биогенов при культивировании *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) // *Альгология*. 2008. Т. 18, № 3. С. 256–263. [Belyaev B. N. Consumption of biogen rate by cultivation of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta). *Algologiya*, 2008, vol. 18, no. 3, pp. 256–263. (in Russ.)]
6. Беляев Б. Н. Перспективы интенсивного культивирования черноморской красной водоросли *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) // *Рыбное хозяйство Украины*. 2009. № 4. С. 13–18. [Belyaev B. N. Perspektivy intensivnogo kultivirovaniya chernomorskoj krasnoi vodorosli *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta). *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 2009, no. 4, pp. 13–18. (in Russ.)]
7. Беляев Б. Н., Береговая Н. М. Оптимизация условий культивирования для накопления Р-фикоэритрина, суммарных каротиноидов и хлорофилла *a* в талломах гелидиума *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) // *Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона* : материалы VII Междунар. конф., Керчь, 20–22 июня 2012 г. Керчь : ЮгНИРО, 2012. Т. 2. С. 120–124. [Belyaev B. N., Beregovaya N. M. Optimization of culture conditions for accumulation of R-phycocerythrin, total lipochromes and chlorophyll *a* in thallomes of helidium *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta). In: *Sovremennye rybokhozyaistvennyye i ekologicheskiye problemy Azovo-Chernomorskogo regiona* : materialy VII Mezhdunar. konf., Kerch, 20–22 June, 2012. Kerch: YugNIRO, 2012, vol. 2, pp. 120–124. (in Russ.)]
8. Беляев Б. Н., Береговая Н. М. Влияние состава культуральной среды на количество агара, пигментов и рост черноморского гелидиума *Gelidium spinosum* // *Морской биологический журнал*, 2016. Т. 1, № 4. С. 3–11. [Belyaev B. N., Beregovaya N. M. The influence of culture medium on the quantity of agar, pigments and growth of *Gelidium spinosum* from the Black Sea. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2016, vol. 1, no. 4, pp. 3–11. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2016.01.4.01>
9. Беляев Б. Н., Береговая Н. М. Влияние микродобавок Mn, Co, Zn на рост и биохимический состав черноморского гелидиума // *Морские биологические исследования: достижения и перспективы* : в 3-х т. : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, приуроч. к 145-летию Севастопольской биологической станции, Севастополь, 19–24 сент. 2016 г. / под общ. ред. А. В. Гаевской. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2016. Т. 3. С. 346–348. [Belyaev B. N., Beregovaya N. M. Influence of microaddings Mn, Co, Zn on a height and biochemical composition of Black Sea gelidium. In: *Morskiye biologicheskiye issledovaniya: dostizheniya i perspektivy* : v 3-kh t. : sb. materialov Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, priuroch. k 145-letiyu

- Sevastopol'skoi biologicheskoi stantsii, Sevastopol, 19–24 Sept., 2016 / A. V. Gaevskaya (Ed.). Sevastopol: EKOSI-Gidrofisika, 2016, vol. 3, pp. 346–348. (in Russ.)]
10. Декл. пат. UA №42208 А, МКИ 7 С12N1/12, А01G 33/00. Спосіб вирощування чорноморської червоної водорості *Laurencia papillosa* (Forsk) Grev. / Беляев Б. М., Євстігнєєва І. К. ; заявник Інститут біології південних морів ім. А. О. Ковалевського НАН України (UA). №20001116443 ; заявл. 14.11.00 ; друк. 15.10.01. Бюл. №9. [Dekl. pat. UA №42208 А, МКУ 7 С12N1/12, А01G 33/00. Sposib vyroshchuvannia chornomorskoї chervonoї vodorosti *Laurencia papillosa* (Forsk) Grev. / Beliaiev B. M., Yevstihneieva I. K.; zaiavnyk Instytut byolohii pıvdennykh moriv im. A. O. Kovalevskoho NAN Ukrainy (UA). No. 20001116443; zaiavl. 14.11.00; druk. 15.10.01. Biul. №9. (in Ukr.)]
 11. Дзизюров В. Д., Жильцова Л. В. Возможности сопряжения функций роста и накопления в ней гелеобразующих полисахаридов у двух видов агарофитов – *Ahnfeltia tobuchinsis* и *Gracilaria lichenides* // III Всесоюзная конференция по морской биологии : тез. докл., Севастополь, октябрь 1988 г. Киев, 1988. Ч. 2. С. 202–203. [Dzizyurov V. D., Zhil'tsova L. V. Vozmozhnosti sopryazheniya funktsii rosta i nakopleniya v nei geleobrazuyushchikh polisakharidov u dvukh vidov agarofitov – *Anfeltia tobuchinsis* i *Gracilaria lichenides*. In: III Vsesoyuznaya konferentsiya po morskoi biologii : tez. dokl., Sevastopol, October 1988. Kiev, 1988, pt. 2, pp. 202–203. (in Russ.)]
 12. Заявка 94063376. Україна, МКИ 6 С 12N 1/12. Спосіб культивування чорноморської червоної водорості *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. / Беляев Б. Н., Силкин В. А. (Україна); ИнБИОМ НАНУ (Україна). № В – 4602186 ; заявлено 15.06.94 ; друк. 29.08.97. Пром. власн. оф. бюл. №4. [Zayavka 94063376. Ukraine, MKI 6 C 12N 1/12. Sposib kultyvuvannya chornomors'koi chervonnoi vodorosti *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. / Belyaev B. N., Silkin V. A. (Ukraine), InBYuM NANU (Ukraine). No. B – 4602186; zayavleno 15.06.94; druk. 29.08.97. Prom. vlasn. of. byul. no. 4. (in Ukr.)]
 13. Калугина А. А., Грюнер В. С., Соколова Н. Н. Агар из черноморской водоросли гелидиум // *Рыбное хозяйство*. 1964. №4. С. 68–70. [Kalugina A. A., Gryuner V. S., Sokolova N. N. Agar iz chernomorskoї vodorosli gelidium. *Rybnoe khozyaistvo*, 1964, no. 4, pp. 68–70. (in Russ.)]
 14. Красновский А. А. Выделение фикоэритрина из красных водорослей, его спектральные и фотохимические свойства // *Доклады Академии наук СССР*, 1952. Т. 82, №6. С. 947–950. [Krasnovskii A. A. Vydelenie fikoeritrina iz krasnykh vodoroslei, ego spektral'nye i fotokhimicheskie svoystva. *Doklady Akademii nauk SSSR*, 1952, vol. 82, no. 6, pp. 947–950. (in Russ.)]
 15. Минюк Г. С., Дробецкая И. В., Чубчикова И. Н. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор // *Морской экологический журнал*. 2008. Т. 7, №2. С. 5–23. [Minyuk G. S., Drobetskaya I. V., Chubchikova I. N. Unicellular algae as renewable biological resource: A review. *Morskoy ekologicheskij zhurnal*, 2008, vol. 7, no. 2, pp. 5–23. (in Russ.)]
 16. Пат. UA 96379 С2, МПК А01G 33/00. Спосіб культивування чорноморської водорості *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) / Беляев Б. Н. (UA) ; заявник Інститут біології південних морів ім. А. О. Ковалевського НАН України (UA). № а 201008755 ; заявл. 13.07.2010 ; друк. 25.10.2011. Бюл. № 20. [Pat. UA 96379 S2, МПК А01G 33/00. Sposib kultyvuvannia chornomorskoї vodorosti *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta) / Beliaev B. N. (UA); zaiavnyk Instytut byolohii pıvdennykh moriv im. A. O. Kovalevskoho NAN Ukrainy (UA). № a 201008755; zaiavl. 13.07.2010; druk. 25.10.2011. Biul. № 20. (in Ukr.)]
 17. Стадничук И. Н. *Фиколипипротейны*. Москва : ВИНТИ, 1990. 196 с. (Итоги науки и техники. Сер. Биологическая химия). [Stadnichuk I. N. *Fikobiliproteiny*. Moscow: VINITI, 1990, 196 p. (Itogi nauki i tekhniki. Ser. Biologicheskaya khimiya). (in Russ.)]
 18. Huguenin J. E. En examination of problems and potentials for future large scale intensive seaweed culture systems. *Aquaculture*, 1976, no. 9, pp. 313–342. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(76\)90074-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(76)90074-0)
 19. Kaliaperumal N., Rao M. U. Studies on the standing crop and phycocolloid of *Gelidium pusillum* and *Pterocladia heteroplata*. *Indian Journal of Botany*, 1981, vol. 4, no. 2, pp. 91–95.
 20. Huang L. Preliminary observations on the growth of *Gelidium amansii* Lamx. in the sporelings stage. *Acta Oceanologica Sinica*, 1982, vol. 4, no. 2, pp. 223–230.

**NEW TECHNOLOGY OF BLACK SEA ALGAE
GELIDIUM SPINOSUM (S. G. GMELIN) P. C. SILVA (RHODOPHYTA) CULTIVATION**

B. N. Belyaev, N. M. Beregovaya

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: belyaevbob@yandex.ru

The results of long-term studies of conditions of cultivation of red Black Sea algae *Gelidium spinosum* (S. G. Gmelin) P. C. Silva (Rhodophyta) in Silva P. C., Basson P. W. & Moe R. L. 1996: 141 in the systems of engineering type aimed at increasing R-phycoerythrin concentration are given. The systems were developed on the basis of studying the influence of temperature, light and regimes of the nutrient medium flow saturated with carbon dioxide on the biomass growth and were protected by several patents. Anti-fouling methods were also taken into consideration while developing the systems. The relevance of the work is determined by the value of *G. spinosum*, which is a natural pigment and food dye, a powerful antioxidant used in immune diagnosis, microscopy and cytometry, the cost of which is estimated at \$3250–14000 per 1 gram. The aim of the work was to optimize Black Sea *G. spinosum* cultivation conditions in the coastal systems of engineering type for increasing the yield of the R-phycoerythrin per unit of the area of cultivators. As the material we used *G. spinosum* from fouling of the rocks and shore protection structures in the vicinity of Sevastopol, which was cultivated in the laboratory setup at the temperature in the range of 15–27 °C, light intensity 10–25 klx in the regime of 18 h day : 6 h night, variations of flow of the nutrient medium using the Black Sea water with addition of salt, salts of nitrogen, phosphorus, iron, magnesium and manganese. At the last stage of the work the yield was $(96.2 \pm 8.8) \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ of *G. spinosum* wet weight. At the lowest harvest of $87.4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$, with a minimum of dry matter of 36 % and the content of phycoerythrin to $12 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, the pigment yield of R-phycoerythrin will be $378.6 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$. In the future, the coastal system of the cultivators with the depth of 0.5 m and mirror surface area of 1 ha (when working only 300 days a year) will produce not less than 1100 kg of R-phycoerythrin.

Keywords: macrophytes, gelidium, cultivation, R-phycoerythrin, struggle with epiphytes, composition and mobility of the nutrient medium, temperature, illumination

УДК 595.384.1:591.13(262.5)

**СОСТАВ ПИЩИ КРЕВЕТКИ *PALAEEMON ADSPERSUS* RATHKE, 1837
(CRUSTACEA DECAPODA, PALAEMONIDAE)
В КАРКИНИТСКОМ ЗАЛИВЕ ЧЁРНОГО МОРЯ В СЕНТЯБРЕ 2016 г.**

© 2019 г. **Р. Н. Буруковский**

Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия
E-mail: burukovsky@klgtu.ru

Поступила в редакцию 20.06.2018; после доработки 29.08.2018;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Palaemon adspersus — обитатель верхней части шельфа (0–30 м) умеренной и субтропической климатических зон Восточной Атлантики, достигающий в своём распространении на севере 60° с. ш. (воды Норвегии), а на юге — атлантических вод Марокко. Питание этого вида изучали в разное время в различных частях его ареала, но из черноморской части ареала оно описано впервые в этой работе. Исследовано содержимое 218 желудков взрослых креветок (74 из них имели пищу в желудке, и у 30 особей желудки были полными), собранных в сентябре 2016 г. из промысловых вентерей в районе Лебяжьих островов Каркинитского залива на глубине, не превышающей 1,5 м. Малое количество желудков с пищей объясняется длительным пребыванием креветок в вентерях до момента их фиксации. Креветки имели длину тела (от заднего края орбит до конца тельсона) 31,5–58,1 мм (самцы — 33,9–44,1 мм с модой 37 мм). Соотношение полов составляло примерно 1 : 8 (11,7 % самцов и 82,3 % самок). Самки были представлены двумя группами особей. Самки с гонадами во II стадии зрелости имели модалные размеры 37 мм. Самки с гонадами в III стадии зрелости имели модалные размеры 47 мм. Следовательно, в сентябре часть самок спарились, перелиняли, у них в гонадах начался вителлогенез. *P. adspersus* — бентофаг-эврифаг. Его пищевой спектр охватывает широкий круг объектов питания — от детрита и растительных остатков до брюхоногих моллюсков, высших раков, в том числе креветок, и рыбы. *P. adspersus* в первую очередь собиратель — детритофаг и некрофаг, 70 % объёма виртуального пищевого комка которого занимают детрит и трупы высших ракообразных. Между тем по отношению к полихетам он ведёт себя как нападающий хищник, а к брюхоногим моллюскам — как пасущийся. Сравнение состава пищи *P. adspersus* в Каркинитском заливе (2016) с таковым креветки в Балтийском море (1977), в атлантических (1987) и средиземноморских (1993–1994) водах побережья Испании обнаруживает его пространственно-временную квазистабильность. На основе совокупности имеющихся данных о составе пищи *P. adspersus* его следует отнести к хищникам-оппортунистам сублиторали.

Ключевые слова: креветка, *Palaemon adspersus*, состав пищи, Каркинитский залив Чёрного моря, хищник-оппортунист

Palaemon adspersus — обычный обитатель верхней части шельфа (глубины 0–30 м) умеренной и субтропической климатических зон Восточной Атлантики, достигающий в своём распространении на севере 60° с. ш. (воды Норвегии), а на юге — атлантических вод Марокко. Он встречается в Ирландском и Северном морях, в западной и южной частях Балтийского моря. Обитает во всех морях средиземноморского бассейна, в том числе в Чёрном и Азовском. В 1930 г. завезён и прижился в Каспийском море. В 1954–1956 гг., в процессе акклиматизации кефали в Аральском море, из Каспия *P. adspersus* случайно попал и в Арал, где его численность была высокой. В настоящее время в Аральском море он не встречается [3, 10, 14, 25, 27, 28, 31, 32, 33].

В Чёрном море это практически единственный промысловый вид креветок. Во всяком случае, среди промысловых креветок, регистрируемых в сводках Food and Agriculture Organization (FAO, Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН), другие черноморские виды отсутствуют. Кустарный лов *P. adspersus* вёлся всегда. С 2012 г. он интенсифицировался, и в 2014 г. вылов Украины достиг 124 тонн [3, 21]. В 2015 г. промысловый запас этой креветки в Каркинитском заливе составлял 100 тонн [12].

К изучению состава пищи *P. adspersus* в разных частях его ареала учёные обращались неоднократно. Обзор результатов этих исследований приведён в обсуждении. Практическая неизученность состава пищи данной креветки в Чёрном море обусловила интерес к этой проблеме и цели нашей работы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал был собран сотрудниками Института морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН (ФГБУН ИМБИ, г. Севастополь) и любезно предоставлен Ю. М. Корнийчук. В сентябре 2016 г. 218 креветок были собраны из промысловых вентерей в районе Лебяжьих островов Каркинитского залива на глубине, не превышающей 1,5 м. Из них 74 особи имели пищу в желудке, и у 30 желудка были полными. Это соответствует критерию достаточности (количество исследованных желудков, в содержимом которых обнаружено не менее 80 % пищевых объектов, характерных для питания вида). Минимальная величина пробы на питание для соответствия этому критерию — содержимое 30 желудков [20]; степень их наполнения авторы не обсуждают.

Креветок собирали из уловов вентерями, используемыми рыбаками на промысле *P. adspersus*. Фиксировали особей 4%-ным раствором формалина. Прежде чем исследовать содержимое желудка, проводили биологический анализ креветок. В него входили измерение общей длины тела от глазных орбит до конца тельсона с точностью до 0,1 мм с помощью линейки окуляр-микрометра бинокулярной лупы МБС-10, а также определение пола (по наличию или отсутствию *appendix masculina* на второй паре плеопод) и стадий зрелости гонады самок по 5-балльной шкале [4].

Для изучения питания использовали методику по [5, 8, 9]. После вскрытия желудка сначала определяли степень его наполнения по 4-балльной шкале:

- 0 — желудок пустой;
- 1 — пища занимает менее половины объёма желудка;
- 2 — пища занимает примерно половину (от одной до двух третей) объёма желудка;
- 3 — желудок полный.

Затем пищевой комок помещали в каплю воды в чашке Петри. Идентификацию таксономической принадлежности жертв по их остаткам проводили, как правило, с точностью до класса или отряда (например, *Gastropoda* или *Bivalvia*, *Mysidacea*, *Polychaeta* или *Amphipoda*). Конечно, каждый раз определяли таксономическую принадлежность жертвы как можно точнее, в идеале — до вида, но это не было самоцелью. Значительно важнее было выяснение принадлежности жертвы к определённой жизненной форме — пелагической, донной, сидячей, зарывающейся и т. д.

Все компоненты пищевого комка, поддающиеся подсчёту и измерению, пересчитывали и измеряли с точностью до 0,01 мм с помощью линейки окуляр-микрометра бинокулярной лупы МБС-10. Креветки сильно измельчают свою добычу, поэтому измерить жертву целиком удавалось редко. Чаще всего приходилось использовать для этого те части тела, прежде всего скелетные элементы, которые поддаются измерению: чешую, хрусталики глаз, отолиты или позвонки у рыб, щетинки у *Chaetognatha* и кольчатых червей, статолиты у мизид, оперкулюмы гастропод и т. п.

Идентифицировали состав содержимого каждого желудка с пищей (вне зависимости от степени его наполнения). Кроме того, в полных желудках определяли визуально объём компонентов пищевого комка с точностью до 10 % от объёма всего пищевого комка. Использование данных о составе

пищи в полных желудках позволяет избежать воздействия на результат оценки разной степени перевариваемости пищевых остатков в желудках, опорожнённых в той или иной мере. Весовой метод определения соотношения пищевых объектов в полных желудках неприменим для креветок, тем более для таких мелких, как *P. adspersus*. Масса тела у самых крупных особей этого вида — менее 3 г. Кроме того, для всех креветок характерно сильное измельчение пищи околоротовыми придатками, из-за чего сортировка фрагментов отдельных пищевых объектов для взвешивания невыполнима практически.

Пищевые и несъедобные компоненты, объём которых составлял менее 10 % от объёма пищевого комка, просто перечисляли. По результатам подсчитывали процент встречаемости данного компонента пищи от общего числа исследованных наполненных желудков, а также рассчитывали коэффициент Фроермана (среднее количество пищевых объектов в желудке без учёта песка и других несъедобных компонентов пищевого комка, K_{ϕ}) [5]. Значение этого показателя определяли, суммируя все частоты встречаемости пищевых объектов и деля данную сумму на 100.

По данным, полученным при анализе полных желудков, рассчитывали реконструированный усреднённый (виртуальный) пищевой комок (далее — ВПК), то есть среднюю долю каждого компонента пищевого комка в его объёме, выраженную в процентах, и частоту доминирования [9]. Последний показатель представляет собой частоту встречаемости (далее — ЧВ) полных желудков, в которых одна из жертв занимает 60 % и более от объёма пищевого комка (общая частота доминирования), а также частоту встречаемости тех объектов питания, которые доминируют в полных желудках, от количества желудков с доминирующими объектами питания (частная частота доминирования). Под «компонентами пищевого комка» подразумеваются и живые, и неживые остатки, встреченные в желудках; они отличаются от «пищевых объектов», т. е. от тех компонентов, которые используются креветкой непосредственно в качестве пищи.

Характеристику содержимого желудков проводили в три этапа:

- 1) описание самих остатков, что позволяет оценить характеристики биотопа, где происходило питание, способ потребления пищи и её состояние;
- 2) определение частоты встречаемости пищевых объектов во всех желудках с пищей, независимо от её количества в них;
- 3) расчёт объёмных соотношений пищевых компонентов в полных желудках, что позволяет реконструировать средний (виртуальный) пищевой комок и реально оценить роль каждого пищевого объекта в питании креветки.

Перечисленные выше характеристики дополняют друг друга. По отдельности они дают одностороннее представление о питании изучаемого объекта. Например, ЧВ фораминифер может достигать 60–70 %, но их доля в объёме ВПК обычно не превышает 0,1–0,2 %. Появляется некий поведенческий аспект в оценке отношения между креветкой и объектами её питания (в данном случае — фораминиферами). Анализ онтогенетических изменений ЧВ и соотношения компонентов ВПК может, например, показать, что частота встречаемости жертвы с изменением размеров креветок уменьшается, а её доля в виртуальном пищевом комке увеличивается. Следовательно, креветка питается этой жертвой реже, но в больших количествах. Все термины приводятся по [5, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Краткая биологическая характеристика.

Длина тела исследованных креветок варьировала от 31,5 до 58,1 мм. Длина тела самцов — 33,9–44,1 мм с модой 37 мм. Соотношение полов составляло примерно 1 : 8 (11,7 % самцов и 82,3 % самок). Почти 70 % самцов имели длину тела 35–39 мм. Суммарная кривая размерного состава самок имела моду 42 мм (рис. 1). Самки не несли яйца на плеоподах. В целом биологическое состояние креветок вполне соответствовало таковому по данным Статкевич [17]. Между тем она не исследовала состояние гонад, а по этому признаку изученные нами самки отличались. Часть имела

гонады во II стадии зрелости при модальных размерах 37 мм. Самки с гонадами в III стадии зрелости имели модальные размеры 47 мм. Следовательно, в сентябре часть самок спарились, перелиняли, у них в гонадах начался вителлогенез. Первые яйценосные самки в Каркинитском заливе появляются в апреле [17], а значит, креветки, состав пищи которых мы исследовали, находились в начале подготовительного периода к созреванию гонад.

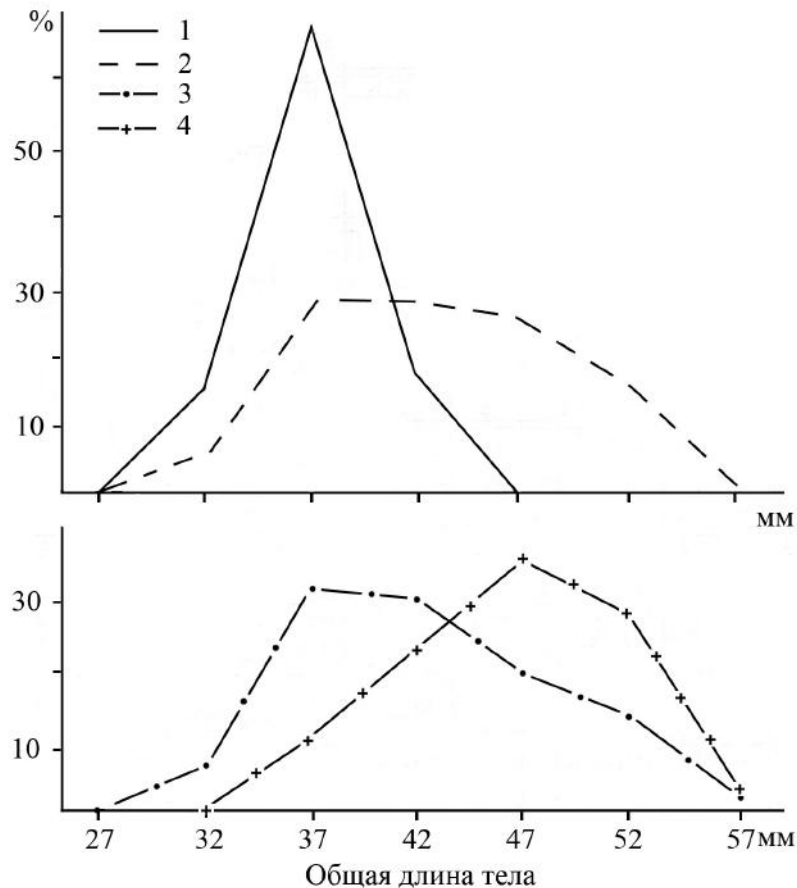


Рис. 1. Размерный состав креветки *Palaemon adspersus* (1 — самцы; 2 — самки; 3 — самки с гонадами во II стадии зрелости; 4 — самки с гонадами в III стадии зрелости)

Fig. 1. Size composition of the shrimp *Palaemon adspersus* (1 – males; 2 – females; 3 – females with ovaries in maturity stage II; 4 – females with ovaries in maturity stage III)

2. Интенсивность питания.

У большей части исследованных креветок (66 %) в желудках не было пищи; 8,7 % имели в желудках лишь её следы (или количество пищи было заметно меньше половины его объёма). Желудки с наполнением 2 и 3 балла имели 11,5 % и 13,8 % особей соответственно. Это обусловлено, вероятно, достаточно длительным пребыванием креветок в вентере.

3. Общая характеристика компонентов пищевого комка.

Все встреченные в желудках *P. adspersus* компоненты пищевого комка подразделялись на следующие группы: песчинки, детрит, остатки не животного происхождения, неопределимые остатки и фрагменты животных, чей статус можно определить хотя бы до класса или отряда.

Размеры песчинок варьировали от 0,01 до 0,50 мм, чаще всего составляя 0,01–0,15 мм. Их количество достигало десятков. Более крупные песчинки встречались, как правило, поодиночке. ЧВ песчинок — 29,7 %. Они никогда не достигали 10 % от объёма ВПК. Вероятно, это случайные компоненты пищевого комка, результат «неаккуратного питания».

Детрит — сложный комплекс из мёртвого органического вещества, взвешенного в толще воды или отлагающегося на дно водоёма в виде частиц различного размера, и живущих на нём микроорганизмов [8]. Он хорошо отличим (при рассмотрении его при большом увеличении) не только от структурных остатков растительного и животного происхождения, но и от неорганической части субстрата — «глины». В капле воды детрит быстро набухает, становится хлопьевидным. «Глина» тоже встречалась в пищевых комках, когда в них присутствовали остатки полихет, но в ничтожных количествах. Цвет детрита в падающем свете варьировал от серого до чёрного, чаще всего — до землисто-чёрного, с чёрными точечными включениями. Единственный раз в желудке крупной самки присутствовала, занимая 100 % его объёма, грязно-белая бесструктурная масса, также отнесённая нами к разновидности детрита. Однократно был встречен пищевой комок чёрного цвета, содержащий бесформенную, вероятно полуразложившуюся, органику.

Среди растительных остатков обнаружены обрывки нитчатых водорослей, один раз — фрагменты талломов бурых водорослей. Чаще всего встречались обрывки листовых пластинок высших растений (зостера?) размерами от 0,5 до 1–3 мм.

Фораминиферы в желудках *P. adpersus* были целыми, неповреждёнными. Это были донные формы, которые относились, вероятно, к одному виду (надсемейство Rotalioidea) и имели размеры 0,12–1,3 мм (в основном — 0,12–0,26 мм). Их количество варьировало от 1 до 6, чаще составляя 2–3.

Неопределённые остатки можно разделить на две группы. К первой относятся обрывки чьих-то тканей явно не растительного происхождения. Они заметно мацерированы, «обтрёпаны», имеют явные признаки разложения. Их происхождение не поддавалось идентификации. Вероятно, это остатки мёртвых животных, съеденных креветкой. Они попадались примерно в каждом десятом желудке (ЧВ — 10,8 %) в ничтожных количествах, но один раз занимали почти половину полного желудка.

Ко второй группе относились не поддающиеся идентификации обрывки хитина, находящиеся в той или иной степени разрушения. Наряду с ними попадались структурные детали скелетов высших раков, которые не удавалось опознать более точно, хотя бы до отряда. Чаще всего это мандибулы, похожие на мандибулы амфипод. Один раз были обнаружены типичные для амфипод конечности. Данные обрывки хитина были отнесены к высшим ракам. Вероятно, это остатки рачков, съеденных мёртвыми.

Из ракообразных, которые поддавались идентификации, встречены остатки краба. Ширина карапакса — 3 мм. Один раз были найдены остатки креветки (скорее всего, из семейства Processidae, судя по характерной ложной клешне первой пары переопод длиной 0,5 мм), статолиты мизид. Дважды попались по одному полуразрушенному экземпляру веслоногих раков из отряда Harpacticoida и личинки декапод. По одному разу встречены неизвестное насекомое в очень разрушенном состоянии (длина — примерно 4 мм) и водный клещ Halacaridae (длина — 1 мм).

Регулярно в желудках встречались два вида эррантных полихет. Судя по их псевдочелюстям, это *Glycera convoluta* и представители семейства Eunicidae [13]. В желудках найдены их щетинки (длина ацикул — 1 мм), псевдочелюсти (длина — 0,7 мм), а также фрагменты тел. Их состояние позволяет сделать вывод, что черви были съедены живыми. Как правило, в желудке присутствовали остатки одной особи, но один раз — двух. У креветки с длиной тела 47 мм встречены 4 фрагмента тела двух *G. convoluta* общей длиной 28 мм и длиной их псевдочелюстей 0,2 и 0,25 мм.

Моллюски в питании *P. adpersus* представлены и двустворчатыми, и брюхоногими. Первые встречались только в виде обломков раковины. Принадлежность к двустворчатым удавалось установить лишь по вершине раковины с зубцами замка. Из-за этого, вероятно, роль двустворчатых в питании креветки занижена. Остатки брюхоногих моллюсков опознать было проще. Кроме того, попадались и целые моллюски, что позволило их идентифицировать до вида (по [11]). В пищевых комках присутствовали от 2 до 12 особей. Чаще и в больших количествах встречались *Potamopyrgus jenkinsi* (E. A. Smith, 1889) размерами 1,2–1,7 мм. В одном желудке были найдены 6 целых раковин и ещё (судя по сохранившимся среди осколков верхним завиткам) не менее 3–4 особей, чьи раковины

были раздроблены. Раковины второго вида — *Hydrobia ventrosa* (Montagu, 1803) — имели размеры около 2 мм. В районе Лебяжьих островов этот вид полностью доминирует среди брюхоногих моллюсков [16]. Дважды попадались трохоидные оперкулумы (*Gibbula* sp.?) диаметром 0,2 и 0,6 мм. Один раз была найдена раковина моллюска из семейства Muricidae длиной 0,75 мм. Несомненно, все эти моллюски были съедены живыми.

Из других беспозвоночных были по одному разу встречены обрывок гидроидного полипа и совершенно целая особь скребня *Telosentis exiguus* (von Linstow, 1901) длиной 3,5 мм. Этот вид на стадии акантеллы паразитирует у амфипод *Apherusa bispinosa* (Bate, 1857), а на взрослой стадии — в первую очередь у рыб *Atherina* spp., у *Trachurus mediterraneus*, а также у бычков. У прочих видов рыб встречается значительно реже [2]. У креветки (самка длиной 43,1 мм), в желудке которой был найден скребень, 70 % объёма пищевого комка составляла упомянутая выше креветка из семейства Processidae, 20 % — детрит, 10 % — остатки какого-то мелкого рачка, но не амфиподы. В высланных кутикулой желудках ракообразных скребни жить не могут. Акантеллы локализованы у них в полости тела. По [2], длина акантеллы из тела исследованных амфипод была равна 2,5 мм у самцов и 1,8–2 мм — у самок. Найденный в желудке *P. adspersus* скребень имел длину 3,5 мм. Вероятно, это была взрослая особь. Известно, что самцы скребней погибают после спаривания и выносятся во внешнюю среду с каловыми массами [6]. Можно предположить, что креветка съела мёртвую особь.

Позвоночные в пище креветки представлены по крайней мере двумя видами рыб. Нами были обнаружены кости осевого скелета и черепа; реже встречалась циклоидная чешуя диаметром 1,5–2,2 мм. Длина тел позвонков, напоминающих вытянутые песочные часы, составляла 1 мм, диаметр хрусталика глаза — 0,25 мм. Попались три типа отолитов. Одни были явно от рыб семейства Carangidae [*Trachurus mediterraneus* (Steindachner, 1868)] длиной 0,5 и 3,2 мм. Отолиты двух других типов имели округлую форму и «диаметр» 0,5 и 0,37 мм. Следовательно, креветка питалась мальками трёх видов рыб. По найденным остаткам нельзя было установить, съела она их живыми или мёртвыми.

Можно заключить, что *P. adspersus* — бентофаг, сочетающий в своём пищевом поведении детритофагию, некрофагию и хищничество.

4. Встречаемость пищевых объектов.

Все компоненты пищевого комка по их частоте встречаемости в желудках *P. adspersus* можно разделить на несколько групп (табл. 1). К первой относится детрит, который встречается практически во всех желудках с пищей (ЧВ — 94,6 %). Это доминирующий по частоте встречаемости пищевой объект. Сопутствующими детриту можно считать обрывки хитина, которые представляют собой остатки съеденных мёртвыми высших ракообразных, с ЧВ 44,6 %, и неопределённые остатки с ЧВ 10,8 % (см. выше, а также табл. 1). Полихеты, брюхоногие моллюски, высшие ракообразные — второстепенные объекты (частота встречаемости — 27,2; 20,3; 20,2 % соответственно). Эту группу дополняют высшие растения и рыба (ЧВ — 17,6 и 16,2 %). Идентифицированные высшие раки (мизиды, крабы, креветка) тоже входят в предыдущую группу, дополняя её. Все прочие объекты питания можно считать спорадически встречающимися (двустворчатые моллюски) или случайными (скребень, насекомое, клещ). ЧВ этих пищевых объектов — 1,3–2,7 %. Фораминиферы (частота встречаемости — 13,5 %) попали в желудки креветок, вероятно, вместе с детритом.

Можно заключить, что *P. adspersus* чаще всего употребляет в пищу детрит и группы различных животных доступных размеров (в первую очередь высших ракообразных, а также, возможно, рыб). Однако одновременно креветка может нападать на живых полихет и моллюсков, имеющих доступные для неё размеры.

Среднее количество пищевых объектов в одном желудке (коэффициент Фроермана) равно 2,99 (практически три пищевых объекта).

Таблица 1. Состав пищи (%) у креветки *Palaemon adspersus* в районе Лебяжьих островов (Каркинитский залив Чёрного моря) в сентябре 2016 г.

Table 1. Food composition (%) of the shrimp *Palaemon adspersus* in the Lebyazh'i Islands (Karkinitzky Bay of the Black Sea) in September 2016

Объекты питания	Встречаемость	Виртуальный пищевой комок	Частота доминирования (частная)
Детрит	94,6	40,7	37,5
Эррантные полихеты	27,2	8,7	4,2
Брюхоногие моллюски	20,3	8,7	12,5
Высшие ракообразные	20,2	11,3	12,5
Высшие растения	17,6	4,0	4,2
Рыба	16,2	3,7	4,2
Фораминиферы	13,5	0,8	—
Двустворчатые моллюски	8,1	2,8	—
Водоросли	8,1	0,3	—
Мизида	2,7	—	—
Веслоногие раки	2,7	—	—
Амфипода	1,3	—	—
Краб	1,3	2,8	4,2
Креветка	1,3	2,3	4,2
Личинка <i>Decapoda</i>	1,3	0,7	—
Насекомое	1,3	—	—
Клещ	1,3	—	—
Гидроидный полип	1,3	—	—
Скребень (<i>Acanthocephala</i>)	1,3	—	—
Обрывки хитина	44,6	12,3	12,5
Неопределённые остатки	10,8	1,3	—
Песок	29,7	—	—
Всего желудков	74	30	24
Коэффициент Фроермана	2,99	Общая частота доминирования	80

5. Виртуальный пищевой комок и роль слагающих его пищевых объектов.

ВПК сформирован 14 пищевыми объектами (табл. 1). Почти половину его объёма (40,7 %) занимает детрит. Он вместе с остатками мёртвых пищевых объектов (высшие ракообразные, обрывки хитина, неопределённые остатки и, возможно, мальки рыб, которые занимают 11,3; 12,3; 3,7 и 1,3 % соответственно) составляет почти 70 % ВПК. Следовательно, *P. adspersus* в первую очередь собиратель — детритофаг и некрофаг. Между тем он ведёт себя и как хищник по отношению к полихетам и брюхоногим моллюскам. К первым — как нападающий, а ко вторым, которые на порядок мельче хищника, — как пасущийся (классификация по [8]). Прочие объекты питания, представленные в ВПК, занимают в нём слишком мало места; на данном уровне изученности их не рассматриваем. Можно только отметить, что фораминиферы, видимо, всё же служат объектом питания, а не пассивным компонентом пищевого комка наподобие песчинок. Об этом говорит то, что при более чем вдвое меньшей, чем у песчинок, частоте встречаемости фораминиферы занимают почти 1 % от объёма ВПК.

Из 14 пищевых объектов, входящих в состав ВПК, лишь 9 доминируют в полных желудках (табл. 1). Однако суммарный индекс Тарвердиевой (I_T) равен 80 %, т. е. почти в каждом полном желудке один из пищевых объектов занимает 60 и более процентов объёма, что сближает *P. adspersus*

с нападающими хищниками [5, 8]. Частные I_T в общем отражают роль определённых пищевых объектов в питании креветки, но среди них резко выделяются детрит, брюхоногие моллюски, высшие ракообразные и обрывки хитина, принадлежавшие, вероятнее всего, именно последним. Прочие объекты-доминанты от 3 до 9 раз реже преобладают в полных желудках.

Следовательно, в роли главных доминант в питании *P. adspersus* выступают три объекта питания, противоположных по своим характеристикам: детрит, трупы ракообразных, живые брюхоногие моллюски. Это позволяет нам сделать вывод, что *P. adspersus* следует отнести к категории хищников-оппортунистов (классификация по [8]).

ОБСУЖДЕНИЕ

Объект исследования в данной работе — разовая проба взрослых особей креветки *P. adspersus* из района Лебяжьих островов Каркинитского залива Чёрного моря. Исследованные креветки, преимущественно самки, находились в состоянии подготовки своих гонад к вителлогенезу (II стадия зрелости гонад) или на его ранних этапах (III стадия зрелости гонад). Несомненно, что особенности состава пищи у креветок должны определяться их размерами. Это необходимо учитывать при сравнении наших результатов с данными других авторов. Малое количество желудков с пищей, вероятнее всего, артефакт, вызванный тем, что креветок собирали из промысловых вентерей. В результате у самых первых попавших в вентерь особей содержимое желудков было переварено. Во всяком случае, исследователи, изучавшие состав пищи этого вида в атлантических водах Испании [22] и в западной части Средиземного моря [23] и фиксировавшие собранных креветок сразу после вылова, констатировали высокую степень наполнения желудков. В обоих случаях пустыми были желудки преимущественно у преднерестовых особей.

Состав пищи черноморского *P. adspersus* не изучен. Имеется упоминание в тезисах Статкевич [17] со ссылкой на монографию Макарова [15] о том, что *P. adspersus* питается растительными остатками, водорослями и мелкими ракообразными. Это, вероятно, недоразумение, так как в монографии Макарова [15] нет ни слова о составе пищи данного вида.

За пределами Чёрного моря питание вида изучали в западной части Балтийского моря [24], а также в атлантических (район Виго) [22] и средиземноморских [23] водах побережья Испании. Материалы для исследований собраны в разное время и различными способами, состав пищи проанализирован разными методами. Иниянг [24] в августе — ноябре 1975 г. одну часть креветок собирал из траловых уловов, а другую часть ловил ручной сетью. Фигерас [22] обработал огромный материал круглогодичных сборов креветок, но не указал, каким орудием пользовался при этом. Герао [23] ловил креветок с апреля 1991 г. по январь 1992 г. специальной драгой, всегда в одно и то же время суток (6:00–8:00). Все упомянутые авторы определяли частоту встречаемости пищевого объекта как процент количества его встреч от количества желудков с пищей. В дополнение они оценивали количество того или иного пищевого объекта в желудке, но каждый из них применял свой метод, отличающийся и от других, и от нашего. Прежде всего, они не упоминают о степени наполнения желудков [22, 23, 24], а мы изучали только полные желудки. Кроме того, эти исследования отделены друг от друга и от наших довольно большими промежутками времени (от 20 [23] до 40 [24] лет).

Как показало сравнение наших результатов с таковыми упомянутых выше авторов, все эти расхождения отразились лишь на видовом составе жертв. Например, в Каркинитском заливе *P. adspersus* использовал в пищу *Hydrobia ventrosa*, а в атлантических водах — *H. ulvae* [24]. Это же наблюдается и по отношению к другим совпадающим объектам питания. Весьма вероятно, что именно некоторым различием методических подходов объясняется расхождение частоты встречаемости тех или иных пищевых объектов и их количественных соотношений. Это, однако, не отразилось на общих спектрах питания *P. adspersus* во всех районах. В его желудках попадают представители почти всех основных таксономических групп бентоса определённого региона и глубинной зоны. Значительно важнее то, что всюду совпадает структура распределения пищевых

объектов, и то, что она остаётся практически неизменной в течение 40 лет.

Действительно, везде существенна роль детрита (он занимает первое или второе место). Его называют по-разному (debris/detrit [24]; material organica [22]; unidentified organic matter [23]), но сути дела это не меняет. С ним сравнимы по ЧВ и по количеству высшие раки, полихеты и моллюски. Примерно так же часто встречаются и так же незначительно представлены количественно высшие растения (зостера?). Аналогичную пространственно-временную стабильность спектра питания и его основных количественных параметров мы наблюдали у глубоководной пелагической креветки *Acanthephyra pelagica* [18].

Наряду с пищевыми объектами животного происхождения (их список обширен) в пище *P. adspersus* постоянно присутствуют растительные остатки. Мы отмечали ранее это явление и у некоторых других креветок семейства Palaemonidae [7], и у креветок — обитателей шельфа из других таксонов, которые были не просто плотоядными, а хищниками (например, у *Crangon crangon* [9]). Для *P. adspersus* это хоть и постоянное, но второстепенное или попутное дополнение к пище, как для *C. crangon* [9], а, к примеру, для *P. elegans* в Вислинском заливе Балтийского моря (Калининградская область) растительные остатки и детрит составляют основу питания [7]. Котта с соавторами [26] отнесли, однако, *P. adspersus* к среднеразмерным растительноядным видам (= “mesoherbivores”, с. 71) наряду с изоподой *Idothea baltica* и амфиподой *Gammarus oceanicus*. Между тем *P. adspersus* употребляет в пищу слишком много органики животного происхождения, чтобы его можно было причислить к растительноядным видам. Кроме того, к среднеразмерным травоядным всё-таки относят животных с массой тела между 50 и 500 кг [29]. И сами же авторы констатируют, что *P. adspersus*, в отличие от других двух видов, обитающих в северо-восточной Балтике, оказывает исчезающе малое влияние на биомассу харовых водорослей и лишь при отсутствии предпочитаемой добычи может употреблять в пищу водоросли *Pilayella littoralis* и *Cladophora glomerata* [26].

На фоне описанной выше пространственной и временной квазистабильности состава диеты, судя по экспериментальным данным [30], для трофического поведения *P. adspersus* характерна выраженная лабильность. Авторы в течение двух месяцев наблюдали за поведением *P. adspersus*, помещённых в аквариумы с песчаным дном и морской травой, и камбалы *Pleuronectes platessa* L. В процессе экспериментов креветки вели себя как представители классического вида-чистильщика. Они очищали поверхность тела камбалы от экзопаразитов *Gyrodactylus* sp. (Monogenea) и *Lepeophtheirus pectoralis* (Copepoda). У контрольной группы камбал было на 65 % больше моногеней, чем у тех особей, которых чистили креветки [30].

Из этого, бесспорно, следует, что *P. adspersus* — бентофаг-эврифаг. Его пищевой спектр широк — от детрита и растительных остатков до креветок и рыбы. Между тем относительно небольшой объём исследованного материала не позволяет уверенно классифицировать способ питания этого вида. Присутствие в желудках детрита, играющего большую роль в питании креветки, а также трупов и растительных остатков говорит о том, что *P. adspersus* близок к собирателям как таковым, а именно к детритофагам и некрофагам [8]. С другой стороны, среднее количество пищевых объектов в желудке, практически равное трём ($K_{\phi} = 2,99$), и абсолютное преобладание животных в пище свидетельствуют о том, что стратегия питания данного вида близка к таковой хищников-собирателей. Это позволяет сблизить его по типу питания с хищниками-оппортунистами, но от типичных хищников-оппортунистов — членов и пастбищной, и детритной пищевых цепей — *P. adspersus* отличает полное отсутствие крупных пелагических жертв, как это наблюдается, например, у креветок из рода *Plesionika* [8]. Связано всё с тем, что *P. adspersus* — сублиторальный вид, и различить членов пастбищной и детритной пищевых цепей невозможно [1]. Следовательно, он одновременно включён в обе цепи питания (это характерно для большинства обитателей сублиторали).

Благодарности. Материал для данной работы предоставлен нам Ю. М. Корнийчук, К. А. Кобяков, В. А. Ломановская, Я. В. Мирошниченко и С. А. Судник оказали техническую помощь в процессе проведения биологического анализа и изучения состава пищи креветки. Е. В. Лисицкая, М. В. Чекалин и С. В. Статкевич

консультировали нас по ряду возникавших вопросов. Ч. М. Нигматуллин и В. А. Спиридонов прочитали текст и высказали ценные замечания. Авторы выражают коллегам самую искреннюю признательность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Беклемишев К. В. Биотопический подход к морским сообществам и его осуществление во время советских работ по международной биологической программе // *Известия АН СССР. Сер. Биол.* 1976. № 5. С. 688–697. [Beklemishev K. V. The biotopical approach to sea communities and its realization during the Soviet research under the international biological program. *Izvestiya AN SSSR. Ser. Biol.*, 1976, no. 5, pp. 688–697. (in Russ.)]
2. Белофастова И. П., Гринцов В. А. О находке акантелл скребня *Telosentis exiguus* (von Linstow, 1901) у *Apherusa bispinosa* (Amphipoda, Calliopidae) в Черном море // *Vestnik zoologii.* 2003. Т. 37, № 4. С. 57–59. [Belofastova I. P., Grintsov V. A. On the find of Acanthellae of the Acanthocephalon *Telosentis exiguus* in *Apherusa bispinosa* (Amphipoda, Calliopidae) in the Black Sea. *Vestnik zoologii*, 2003, vol. 37, no. 4, pp. 57–59. (in Russ.)]
3. Болтачев А. Р., Статкевич С. В., Карпова Е. П., Хуторенко И. В. Черноморская травяная креветка *Palaemon adspersus* (Decapoda, Palaemonidae): биология, промысел, проблемы // *Вопросы рыболовства.* 2017. Т. 18, № 3. С. 313–327. [Boltachev A. R., Statkevich S. V., Karpova E. P., Khutorenko I. V. Black Sea grass prawn *Palaemon adspersus* (Decapoda, Palaemonidae): biology, fisheries and problems. *Voprosy rybolovstva*, 2017, vol. 18, no. 3, pp. 313–327. (in Russ.)]
4. Буруковский Р. Н. Методика биологического анализа некоторых тропических и субтропических креветок // *Промышленно-биологические исследования морских беспозвоночных.* Москва : ВНИРО, 1992. С. 77–84. [Burukovsky R. N. Technique of the biological analysis of some tropical and subtropical shrimps. In: *Promyslovo-biologicheskie issledovaniya morskikh bespozvonochnykh.* Moscow: VNIRO, 1992, pp. 77–84. (in Russ.)]
5. Буруковский Р. Н. *Питание и пищевые взаимоотношения креветок.* Калининград : Изд-во ФГОУ ВПО «КГТУ», 2009. 408 с. [Burukovsky R. N. *Feeding and Trophic Interactions of Shrimps.* Kaliningrad: FGOU VPO “KGTU”, 2009, 408 p. (in Russ.)]
6. Буруковский Р. Н. *Зоология беспозвоночных :* учеб. пособие. Санкт-Петербург : Проспект науки, 2010. 959 с. [Burukovsky R. N. *Zoologiya bespozvonochnykh: ucheb. posobie.* Sankt-Petersburg: Prospect nauki, 2010, 959 p. (in Russ.)]
7. Буруковский Р. Н. О питании креветки *Palaemon elegans* Rathke 1837 (Decapoda, Palaemonidae) в Вислинском заливе // *Журнал Сибирского федерального университета. Биология.* 2012. Т. 2, № 5. С. 151–159. [Burukovsky R. N. On *Palaemon elegans* Rathke 1837 (Decapoda, Palaemonidae) nutrition in Vistula Lagoon. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 2012, vol. 2, no. 5, pp. 151–159. (in Russ.)]
8. Буруковский Р. Н. *Креветки западноафриканских вод (географическое распространение, закономерности горизонтального и вертикального распределения, жизненные формы и экологическая структура таксоценов).* Санкт-Петербург : Проспект науки, 2017. 512 с. [Burukovsky R. N. *Krevetki zapadnoafrikanskikh vod (geograficheskoe rasprostranenie, zakonornosti gorizontalnogo i vertikal'nogo raspredeleniya, zhiznennye formy i ekologicheskaya struktura taksotsenov).* Sankt-Petersburg: Prospect nauki, 2017, 512 p. (in Russ.)]
9. Буруковский Р. Н., Трунова А. В. О питании креветки *Crangon crangon* (Decapoda, Crangonidae) в Кандалакшском заливе Белого моря в июле и сентябре 2004 года // *Труды ВНИРО.* 2007. Т. 147. С. 181–203. [Burukovsky R. N., Trunova A. V. On the feeding of shrimp *Crangon crangon* (Decapoda, Crangonidae) in Kandalaksha Gulf (White Sea) in July and September, 2004. *Trudy VNIRO*, 2007, vol. 147, pp. 181–203. (in Russ.)]
10. Виноградов Л. Г. Отряд Десятиногие. Decapoda // *Атлас беспозвоночных Каспийского моря.* Москва : Пищ. пром-сть, 1968. С. 291–300. [Vinogradov L. G. Order Decapoda. In: *Atlas bespozvonochnykh Kaspiiskogo morya.* Moscow: Pishch. prom-st', 1968, pp. 291–300. (in Russ.)]
11. Голиков А. Н., Старобогатов Я. И. Класс брюхоногих моллюсков – Gastropoda // *Определитель фауны Черного и Азовского морей.* Т. 3. *Свободноживущие беспозвоночные.* Киев : Наукова думка, 1972. С. 65–166. [Golikov A. N., Starobogatov Ya. I. Gastropoda. *Opredelitel'*

- fauna Chernogo i Azovskogo morei*. Vol. 3. *Svobodnozhivushchie bespozvonochnye*. Kiev: Naukova dumka, 1972, pp. 65–166. (in Russ.)]
12. Евченко О. В., Замятина Е. А., Семик А. М., Шляхов В. А. Состояние запасов и промысла креветок (род *Palaemon*) и брюхоногого моллюска рапаны (*Rapana venosa*) в водах Черного моря и Керченского пролива, прилегающих к Крыму // *Промысловые беспозвоночные* : сб. материалов 8-й Всерос. конф., 2–5 сентября 2015 г. Калининград : Изд-во КГТУ, 2015. С. 115–118. [Evchenko O. V., Zamyatina E. A., Semik A. M., Shlyakhov V. A. Sostoyanie zapasov i promysla krevetok (rod *Palaemon*) i bryukhonogogo mollyuska rapany (*Rapana venosa*) v vodakh Chernogo morya i Kerchenskogo proliva, prilegayushchikh k Krymu. In: *Promyslovye bespozvonochnye* : sb. materialov 8-i Vseros. konf., 2–5 Sept., 2015. Kaliningrad: Izd-vo KGTU, 2015, pp. 115–118. (in Russ.)]
 13. Киселёва М. И. *Многощетинковые черви (Polychaeta) Чёрного и Азовского морей*. Апатиты : Изд-во КНЦ РАН, 2004. 409 с. [Kiseleva M. I. *Mnogoshchetinkovye chervi (Polychaeta) Chernogo i Azovskogo morei*. Apatity: Izd-vo KNTs RAN, 2004, 409 p. (in Russ.)]
 14. Кобякова З. И., Долгополова М. А. Отряд десятиногие – Decapoda // *Определитель фауны Черного и Азовского морей*. Т. 2. Киев : Наукова думка, 1969. С. 270–306. [Kobyakova Z. I., Dolgopolova M. A. Order Decapoda. In: *Opredelitel' fauny Chernogo i Azovskogo morei*. Vol. 2. Kiev: Naukova dumka, 1969, pp. 270–306. (in Russ.)]
 15. Макаров Ю. Н. Десятиногие ракообразные // *Фауна Украины*. Т. 26. *Высшие ракообразные*. Киев : Наукова думка, 2004. Вып. 1–2. 428 с. [Makarov Yu. N. Decapoda Crustacea. In: *Fauna Ukraini*. Vol. 26. *Visshie rakoobraznie*. Kiev: Naukova dumka, 2004, iss. 1–2, 428 p. (in Russ.)]
 16. Ревков Н. К., Болтачева Н. А., Колесникова Е. А., Тимофеев В. А. Макрозообентос района Лебязьих островов Каркинитского залива (Черное море) // *Биоразнообразие и устойчивое развитие* : тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф., Симферополь, 19–23 мая 2010 г. Симферополь, 2010. С. 108–111. [Revkov N. K., Boltacheva N. A., Kolesnikova E. A., Timofeev V. A. Makrozoobentos raiona Lebyazh'ikh ostrovov Karkinit'skogo zaliva (Chernoe more). In: *Bioraznoobrazie i ustoichivoe razvitiye* : tez. dokl. Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., Simferopol, 19–23 May, 2010. Simferopol, 2010, pp. 108–111. (in Russ.)]
 17. Статкевич С. В. Популяционные характеристики травяной креветки *Palaemon adspersus* (Rathke, 1837) в черноморской прибрежной зоне // *Промысловые беспозвоночные* : сб. материалов 8-й Всерос. конф., 2–5 сентября 2015 г. Калининград : Изд-во КГТУ, 2015. С. 129–130. [Statkevich S. V. Population characteristics of grass shrimp *Palaemon adspersus* (Rathke, 1837) in the Black Sea coastal zone. In: *Promyslovye bespozvonochnye* : sb. materialov 8-i Vseros. konf., 2–5 Sept., 2015. Kaliningrad: Izd-vo KGTU, 2015, pp. 129–130. (in Russ.)]
 18. Burukovsky R. N. Feeding ecology of the shrimp *Crangon allmanni* Kinahan, 1860 (Decapoda, Crangonidae) in the North and White seas. *Crustaceana*, 2017, vol. 90, iss. 7–10, pp. 865–881. <https://doi.org/10.1163/15685403-00003568>
 19. Burukovsky R. N., Falkenhaus T. Feeding of the pelagic shrimp *Acanthephyra pelagica* (Risso, 1816) (Crustacea: Decapoda: Opolphoridae) in the northern Mid-Atlantic Ridge area in 1984 and 2004. *Arthropoda Selecta*, 2015, vol. 24, no. 3, pp. 303–316.
 20. Cartes J. E., Sarda F. Feeding ecology of the deep-water aristeid crustacean *Aristeus antennatus*. *Marine Ecology Progress Series*, 1989, vol. 54, pp. 229–238.
 21. *FAO yearbook. 2014. Fishery statistics*. Capture production. Roma, 2016. 577 p.
 22. Figueras A. Alimentacion de *Palaemon adspersus* (Rathke, 1837) y *Palaemon serratus* (Pennant, 1777) (Decapoda: Natantia) en la Ria de Vigo (N.O. Espana). *Cahiers de Biologie Marine*, 1986, vol. 27, no. 1, pp. 77–90. <https://doi.org/10.21411/CBM.A.E1D67DF4>
 23. Guerao G. Feeding habits of the prawns *Procambarus edulis* and *Palaemon adspersus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) in the Alfacas Bay, Ebro Delta (NW Mediterranean). *Miscellanea Zoologica*, 1993–1994, vol. 17, pp. 115–122.
 24. Inyang N. M. Notes on food of the Baltic palaemonid shrimp, *Palaemon adspersus* var. *fabricii* (Rathke). *Meeresforschung*, 1977/78, Bd. 26, S. 42–46. https://doi.org/10.2312/meeresforschung_26_42-46
 25. Köhn J., Gosselck F. Bestimmungsschlüssel der Malacostraken der Ostsee. *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin*, 1989, vol. 65, iss. 1, pp. 3–144. <https://doi.org/10.1002/mmnz.19890650102>
 26. Kotta J., Torn K., Martin G., Orav-Kotta H., Paalme T. Seasonal variation in invertebrate grazing on *Chara connivens* and *C. tomentosa* in Kõiguste Bay, NE Baltic Sea. *Helgoland Ma-*

- rine Research*, 2004, vol. 58, iss. 2, pp. 71–76. <https://doi.org/10.1007/s10152-003-0170-2>
27. Lagardère J.-P. Les crevettes des côtes du Maroc. *Travaux de l'Institut Scientifique Chérifien et de la Faculté des Sciences. Sér. Zoologie*, 1971, no. 36, 140 p.
28. Lapińska E., Shaniawska A. Environmental preferences of *Crangon crangon* (Linnaeus, 1758), *Palaemon adspersus* Rathke, 1837, and *Palaemon elegans* Rathke, 1837 in the littoral zone of the Gulf of Gdańsk. *Crustaceana*, 2006, vol. 79, no. 6, pp. 649–662. <https://doi.org/10.1163/156854006778026799>
29. *Mesoherbivore dictionary definition* [Electronic recourse]. URL: <https://www.yourdictionary.com/mesoherbivore> (accessed 19.05.2018).
30. Östlund-Nilsson S., Becker J. H. A., Nilsson G. E. Shrimps remove ectoparasites from fishes in temperate waters. *Biology Letters*, 2005, no. 1, pp. 454–456. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2005.0363>
31. Spiridonov V. A., Zalota A. K. Understanding and forecasting dispersal of non-indigenous marine decapods (Crustacea: Decapoda) in East European and North Asian waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2017, vol. 97, spec. iss. 3, pp. 591–611. <https://doi.org/10.1017/S0025315417000169>
32. Udekem d'Acoz C. d'. Inventaire et distribution des crustacés décapodes de l'Atlantique nord-oriental, de la Méditerranée et des eaux continentales adjacentes au nord 25°N. *Patrimoines naturelle. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris*, 1999, 383 p. (Patrimoines naturels ; 40).
33. Wiktor K., Skóra K., Wołowicz M., Węśławski M. Zasoby skorupiaków przydennych w przybrzeżnych wodach zatoki Gdańskiej. *Zeszyty naukowe wydziału biologii i nauk o ziemi. Oceanografia*, 1980, no. 7, s. 135–160.

**FOOD COMPOSITION OF THE SHRIMP *PALAEEMON ADSPERSUS* RATHKE, 1837
(CRUSTACEA DECAPODA, PALAEMONIDAE)
IN KARKINITSKY BAY OF THE BLACK SEA IN SEPTEMBER 2016**

R. N. Burukovsky

Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russian Federation

E-mail: burukovsky@klgtu.ru

Palaemon adspersus is an inhabitant of the upper shelf (0–30 m) in temperate and subtropical zones of the East Atlantic, the northern limit of range reaching 60°N (Norway coast) and its southern limit being Atlantic waters of Morocco coast. The food of this species was studied at different times in different parts of its range, but it is described here for the first time for the Black Sea population. Stomach contents of 218 adult *P. adspersus* (74 of them had some food in the stomach, and 30 stomachs were full) were investigated. Samples were collected in September 2016 from commercial trap net near the Swan Islands in Karkinitzky Bay at the depth not exceeding 1.5 m. There was a small number of stomachs with food. It was due to a long stay of the shrimp in the trap net before their sampling. The shrimp had a body length (from the anterior edge of the orbits to the end of the telson) of 31.5–58.1 mm (males – 33.9–44.1 mm with a mode of 37 mm). The sex ratio was approximately 1 : 8 (11.7 % of males and 82.3 % of females). Females were represented by two groups. The first one had ovaries in maturity stage II and a modal size of 37 mm. The second group with the ovaries in maturity stage III had a modal size of 47 mm. Therefore, in September most of the females were mating, molting, and in their ovaries vitellogenesis began. By food composition, *P. adspersus* is a benthic feeder – euryphagous. Its food spectrum includes a wide range of food items from detritus and plant residues to gastropods, higher crustaceans, including shrimp, and fish. *P. adspersus* is primarily a gatherer detritophagous and macrophages, 70 % of its virtual food lump consisted of detritus and corpses of higher crustaceans. However, in relation to polychaetes it behaves as attacking predator while to gastropods it behaves as a grazing one. The comparison of the food composition of *P. adspersus* in Karkinitzky Bay (2016) with that in the Baltic Sea (1977), in the waters of Atlantic (1987) and Mediterranean (1993–1994) coasts of Spain reveals its spatial and temporal quasi-stability. Based on the totality of available data on food composition of *P. adspersus*, it should be attributed to sublittoral predators-opportunists.

Keywords: shrimp, *Palaemon adspersus*, food composition, Karkinitzky Bay of the Black Sea, predator-opportunist

УДК 594.121:591.134(262.5)

РОСТ И СРОКИ ПОЛУЧЕНИЯ ТОВАРНОЙ ТРИПЛОИДНОЙ УСТРИЦЫ В ЛИМАНЕ ДОНУЗЛАВ (ЧЁРНОЕ МОРЕ, КРЫМ)

© 2019 г. О. Ю. Вялова

Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия
E-mail: vyalova07@gmail.com

Поступила в редакцию 23.04.2018; после доработки 19.06.2018;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Исследованы особенности линейного и весового роста триплоидной молодежи тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* T20 в условиях лимана Донузлав (Чёрное море, Крым). Дана количественная характеристика соотношений массы моллюска (W , г) и высоты (H , мм) раковины (взаимосвязь описывается уравнением $W = 7 \cdot 10^{-5} \cdot H^{3,1}$, $R^2 = 0,78$), а также массы моллюска (W , г) и длины (L , мм) раковины ($W = 3 \cdot 10^{-4} \cdot L^{3,12}$, $R^2 = 0,65$). Максимальные скорости линейного роста триплоидных устриц T20 отмечены в апреле ($1,15 \text{ мм} \cdot \text{сут}^{-1}$), весового — в июне ($0,50 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$) и августе ($0,61 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$). Показано, что молодь триплоидной устрицы *C. gigas* T20 достигает товарных размеров уже через 6 месяцев после высадки. Рекомендовано использовать молодь T20 в качестве посадочного материала на фермах Черноморского региона.

Ключевые слова: тихоокеанская устрица, *Crassostrea gigas*, рост, марикультура, лиман Донузлав, Чёрное море

Триплоидия широко используется в марикультуре для получения быстрорастущих особей разных видов устриц. Их стерильность позволяет перераспределять энергетические ресурсы, необходимые для нереста, на соматический рост. Это приводит к ускоренному линейному росту триплоидных организмов [16, 17, 18, 23, 29, 30]. Он может быть результатом полиплоидного гигантизма, вызванного увеличением объёма клеток, а не их количества [23]. Производство триплоидов стало ответом на резкое сокращение запасов диких устриц из-за чрезмерного промысла и ухудшения условий обитания. Сегодня триплоидные устрицы применяются в аквакультуре многих стран мира. Производство триплоидов составляет 80–95 % от общего объёма производства устриц [13, 30].

Существует два основных пути получения триплоидных устриц — химическая индукция и скрещивание диплоидной и тетраплоидной устрицы. Применение химических веществ не является надёжным в производстве 100%-ной триплоидной популяции; достичь результата позволяет только скрещивание устриц разной плоидности [16]. С 1994 г. племенные линии тетраплоидов устриц производятся в США, Франции и Австралии [23].

Среди всех культивируемых двустворчатых моллюсков тихоокеанская устрица *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) является самым популярным видом морской конхиокультуры, занимая, по данным Food and Agriculture Organization (FAO, Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН), до 10 % мирового объёма [13]. Это обусловлено широкой температурной и солёностной толерантностью вида, быстрыми темпами роста, устойчивостью к ряду заболеваний, высокими вкусовыми качествами. В конце 1980-х гг. *C. gigas* был успешно интродуцирован в Чёрном море [3, 6].

Природные условия Чёрного моря позволяют успешно развивать морскую аквакультуру двустворчатых моллюсков, в частности устрицеводство [3, 4, 5, 6, 7]. По данным Азово-Черноморского территориального управления Росрыболовства, производство устриц в регионе выросло с 29,7 т в 2016 г. до 57,6 т в 2017 г.

Донузлав — полужакрытый залив Чёрного моря, расположенный на западном побережье Крымского полуострова. Современный облик экосистемы Донузлава сформировался после его соединения с морем каналом (прорыт в 1961 г.). Водоём превратился, по существу, в черноморский лиман, тянущийся перпендикулярно береговой линии на 27 км, с максимальными глубинами до 25 м в своей срединной части. Общая площадь водного зеркала — 4750 га. Эта акватория обладает рядом преимуществ по сравнению с открытыми районами Чёрного моря — благоприятными природными условиями (отсутствие штормов и сильных течений), высоким уровнем биологической продуктивности, отсутствием источников антропогенного загрязнения. По данным Азово-Черноморского территориального управления Росрыболовства, здесь организовано 7 марикультурных хозяйств, занимающих площадь более 1000 га. По прогнозам ЮгНИРО, в Донузлаве можно получать до 4,0 млн экз. спата и выращивать до 2,0 млн товарных устриц [5].

Цели данного исследования — изучить ростовые характеристики триплоидных устриц *C. gigas* T20 и оценить их преимущества для товарного выращивания в условиях черноморской марикультуры.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Устрицы размера T20 — это небольшие экземпляры (90–120 штук в 1 кг) возрастом 14–16 месяцев. Срок достижения такими устрицами товарных размеров устанавливается поставщиками равным 10–15 месяцам.

Объектом исследования являлась триплоидная молодь тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* T20, выращенная в зарубежном специализированном устричном питомнике. Работы проводились с апреля 2017 г. по январь 2018 г. Моллюски находились в пластиковых устричных садках размером 50×100 см. Плотность — 200 экз. в садке.

Садки размещались на 100-метровых базовых линиях морской фермы в лимане Донузлав на глубине 1,5–3,0 м от поверхности воды. Ежемесячно из контрольных садков отбирали и обследовали от 30 до 50 особей. Раковины моллюсков очищали щёткой от обрастания, промывали морской водой и высушивали фильтровальной бумагой перед взвешиванием и промерами. После измерений моллюсков возвращали в садки.

Массу моллюсков (W , г) определяли с помощью электронных весов с точностью 0,01 г. Линейные размеры измеряли электронным штангенциркулем с точностью до 0,01 мм. За высоту раковины (H , мм) принимали максимальный размер от замка до растущего края, длину (L , мм) определяли как самый широкий размер, перпендикулярный высоте [21, 22]. На основе полученных результатов рассчитывали суточную скорость линейного ($\text{мм}\cdot\text{сут}^{-1}$) и весового ($\text{г}\cdot\text{сут}^{-1}$) роста, аллометрическое уравнение соотношения массы и линейных размеров $W = aH^b$ и $W = aL^b$, коэффициент детерминации R^2 . Статистическую и графическую обработку данных производили в Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Начальные параметры триплоидной устрицы *C. gigas* были следующими: W — $(9,33 \pm 1,7) \text{ г}\cdot\text{экз.}^{-1}$; H — $(21,3 \pm 3,2) \text{ мм}\cdot\text{экз.}^{-1}$; L — $(17,6 \pm 1,3) \text{ мм}\cdot\text{экз.}^{-1}$ ($n = 100$). За первый месяц (апрель) линейные размеры особей увеличились в 2,0–2,5 раза: прирост раковины в среднем составил по высоте $30 \text{ мм}\cdot\text{экз.}^{-1}$, по длине — $16,9 \text{ мм}\cdot\text{экз.}^{-1}$. Рост высоты раковины продолжился с мая по сентябрь (до размеров 80–90 мм); в осенне-зимние месяцы процесс практически остановился (рис. 1). Длина раковины триплоидных *C. gigas* увеличивалась постепенно в течение всего периода наблюдений (от $(34,46 \pm 5,65)$ до $(53,53 \pm 5,24) \text{ мм}\cdot\text{экз.}^{-1}$).

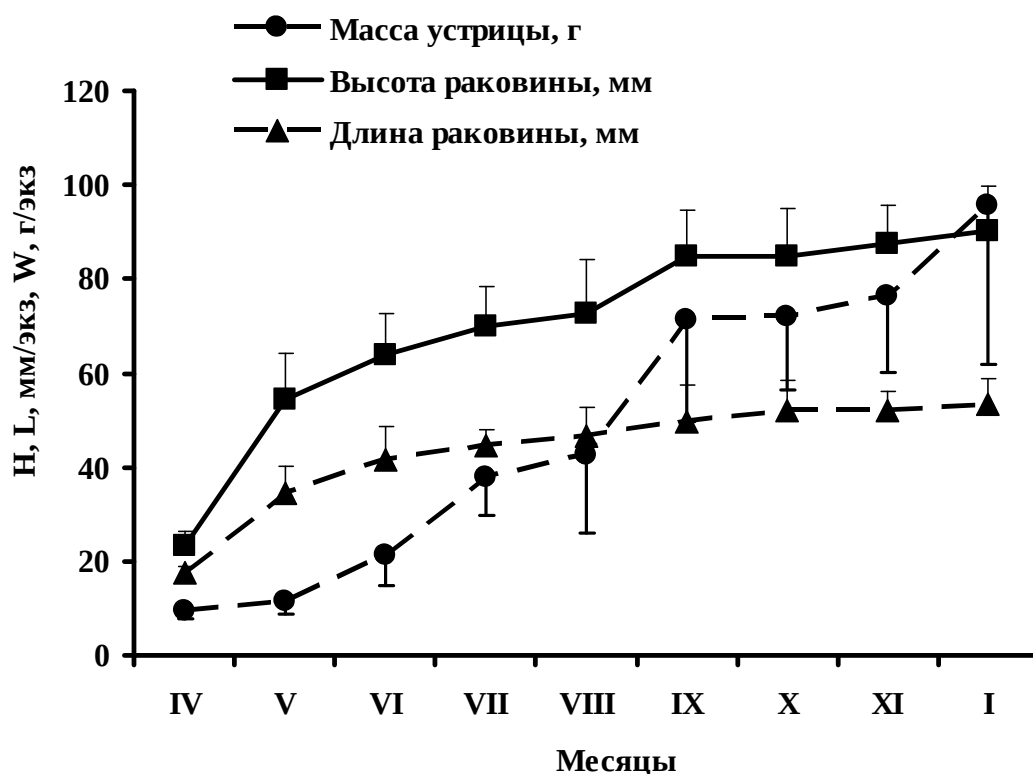


Рис. 1. Изменения массы и линейных характеристик триплоидной устрицы *Crassostrea gigas* T20 ($m \pm SD$)

Fig. 1. Changes of weight and linear characteristics of triploid oyster *Crassostrea gigas* T20 ($m \pm SD$)

Заметный рост массы триплоидных устриц произошёл в весенне-летние месяцы с резким скачком значений в августе — сентябре (с $42,66 \pm 16,64$ до $71,29 \pm 21,66$ г·экз.⁻¹). Следующее увеличение показателя отмечено в декабре — январе. За весь период масса исследуемых экземпляров в среднем выросла более чем в 10,3 раза. Размеры отдельных особей достигли максимальных значений — 180 г и 109 мм.

На рост моллюсков оказывают влияние факторы абиотические (экологические), например качество воды, глубина и скорость течения, мутность и тип взвеси, и биотические (физиологические), такие как обеспеченность фитопланктоном, плотность поселения, пол, возраст, стадия зрелости и размер [3, 4, 29]. Максимальная скорость линейного роста молоди триплоидных устриц T20 — $1,15 \text{ мм} \cdot \text{сут}^{-1}$ — зафиксирована в апреле. Далее прирост раковины колебался в пределах $0,05\text{--}0,26 \text{ мм} \cdot \text{сут}^{-1}$. Масса устриц увеличивалась в среднем со скоростью $0,15\text{--}0,31 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$; максимальный прирост зафиксирован в июне ($0,50 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$) и августе ($0,61 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$). Очень близкие результаты получены в летний сезон для триплоидных устриц в акватории Голубого залива (Чёрное море) — $0,51 \text{ мм} \cdot \text{сут}^{-1}$ и $0,27 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$ соответственно [1]. В Калифорнийском заливе для полиплоидных *C. gigas* приводятся следующие данные: $0,268\text{--}0,279 \text{ мм} \cdot \text{сут}^{-1}$ и $0,19\text{--}0,3 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$ [29]; на тихоокеанском побережье Мексики — $0,502 \text{ мм} \cdot \text{сут}^{-1}$ и $0,427 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$ [14]; в Южной Африке — $0,298\text{--}0,58 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$ [26]. Скорость роста устрицы может зависеть от района и технологии её выращивания. Например, моллюски, находящиеся постоянно в толще воды (подвесная культура), растут гораздо быстрее, чем особи в приливно-отливных зонах. Так, на приливных морских фермах в Португалии скорость роста *C. gigas* составляла $0,098 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$ [8], во Франции — $0,046\text{--}0,083 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$ [28] и $0,178 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$ [11]. По нашим наблюдениям, скорость весового роста ($0,09 \text{ г} \cdot \text{сут}^{-1}$) была наименьшей в период максимального линейного прироста, то есть процессы формирования раковины преобладали в апреле над соматическим ростом мягких тканей.

Исследования показали, что скорости роста массы у триплоидов выше, чем у диплоидных устриц, на 43–49 %, а роста раковины в высоту — на 13–20 % [17, 23, 30]. Так, в Чёрном море (Голубой залив) в летние месяцы у полиплоидных *C. gigas* скорость роста достигала 0,51 мм·сут⁻¹ и 0,27 г·сут⁻¹, у диплоидов — 0,39 мм·сут⁻¹ и 0,17 г·сут⁻¹ [1]. На тихоокеанском побережье Мексики также установлены различия между двумя формами устриц *C. gigas*: показатели диплоидов и триплоидов составили 0,23–0,26 и 0,25–0,27 мм·сут⁻¹, 0,19–0,26 и 0,25–0,30 г·сут⁻¹ соответственно [29]. Исследования *C. virginica* показали достоверные различия в росте: 0,133 г·сут⁻¹ и 0,167 мм·сут⁻¹ у диплоидов, 0,167 г·сут⁻¹ и 0,189 мм·сут⁻¹ у триплоидов [30].

Оптимальная температура для роста тихоокеанской устрицы находится в пределах 15–22 °С. В условиях лимана Донузлав триплоидные *C. gigas* продолжали расти и в осенне-зимний период при температуре ниже 10–11 °С. Ранее было показано, что в благоприятных трофических условиях скорость роста двустворчатых моллюсков может быть существенной даже в условиях низких температур. Так, у молоди триплоидов *Crassostrea ariakensis* темпы роста были высокими в зимний период, когда температура воды составляла (7,66 ± 0,02) °С [17]. Скорость роста молодых (20–30 мм длиной) баренцевоморских мидий (подвесная культура) в прибрежных водах Кольского залива при температуре 1,5–3,0 °С — около 0,5 мм в месяц [2].

Соотношение линейных размеров и биомассы двустворчатых моллюсков описывается аллометрическим уравнением. Форма устрицы определяется высотой и длиной раковины и зависит от среды обитания, субстрата, плотности в естественных поселениях или в устричных садках на морских фермах и т. д. Увеличение высоты и длины раковины устриц происходит не пропорционально. Как правило, в длину она растёт гораздо медленнее, чем в высоту [22]. На процессы роста раковины оказывают влияние качество субстрата, плотность популяции (перенаселение), интенсивность волновых явлений и течений, глубина, спектр питания и т. д. [10, 21, 27]. Так, у *C. madrasensis* с размерами менее 3,5 см высота и длина имеют близкие значения, форма раковины округлая [21]. В размерных группах до 80 мм отклонения параметров становятся более выраженными, а форма раковины приближается к овальной. У более крупных устриц длина раковины равна приблизительно $\frac{3}{4}$ высоты, её форма становится удлинённой [10, 21]. Кроме того, на рост биомассы оказывают влияние качество и доступность кормового фитопланктона, скорость фильтрации, стадия зрелости, возраст и т. д.

Статистический анализ размерно-вещного соотношения у исследованных триплоидных *C. gigas* показал, что взаимосвязь высоты раковины с массой моллюска чётко описывается степенным уравнением с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,78$: $W = 7 \cdot 10^{-5} \cdot H^{3,1}$, где W — общая масса устрицы, г; H — высота раковины, мм (рис. 2).

Значение степенного показателя b относительно устойчиво у двустворчатых моллюсков и обычно имеет значение около 3, то есть биомасса выражается как куб длины. Значение 3 соответствует трёхмерному характеру двустворчатой оболочки большинства моллюсков. Многочисленные исследования показали, что экспонента b обычно находится между 2,5 и 3, а значения ниже 2,5 редки для моллюсков [27]. Несмотря на это, показатель, установленный для различных видов устриц, является достаточно низким и составляет от 1,5 до 2,5 (в среднем — около 2). Так, экспонента b у *C. columbiensis* — 2,35 [9]; у *C. madrasensis* — 1,7–2,0 [20], 2,49–2,92 [24]; у *C. virginica* — 1,86 [25], 2,15 [19], 2,17 [15], 2,26–2,39 [10]; у *C. iridescens* и *C. angulata* — 1,48 [25]; у *C. gigas* — 1,12–2,79 [32], 1,87 [25], 2,39 [1], 2,43–2,52 [3, 4], 2,81 [12]. Устрицы сагиттально сжаты, в отличие от большинства других двустворчатых моллюсков, поэтому и степенной показатель редко достигает 3. Таким образом, существует чёткая тенденция: биомасса устрицы рассчитывается как квадрат длины, а не как куб. Общее среднее значение $b = 2,0$ может быть принято для ряда крассостреид, в том числе для *C. gigas* [27].

Коэффициент детерминации для соотношения массы и длины раковины меньше ($R^2 = 0,65$), а аллометрическое уравнение имеет вид $W = 3 \cdot 10^{-4} \cdot L^{3,12}$, где W — общая масса устрицы, г; L — длина раковины, мм (рис. 3).

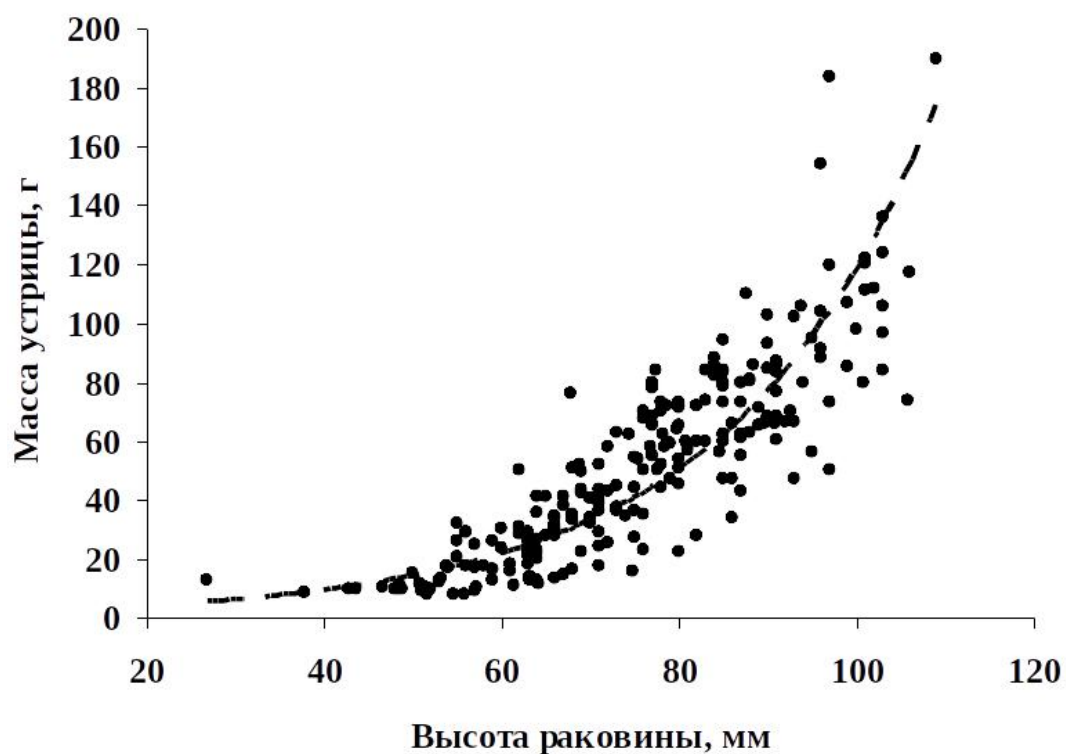


Рис. 2. Соотношение между массой и высотой раковины триплоидной устрицы *Crassostrea gigas*

Fig. 2. Relationship between weight and shell height of triploid oyster *Crassostrea gigas*

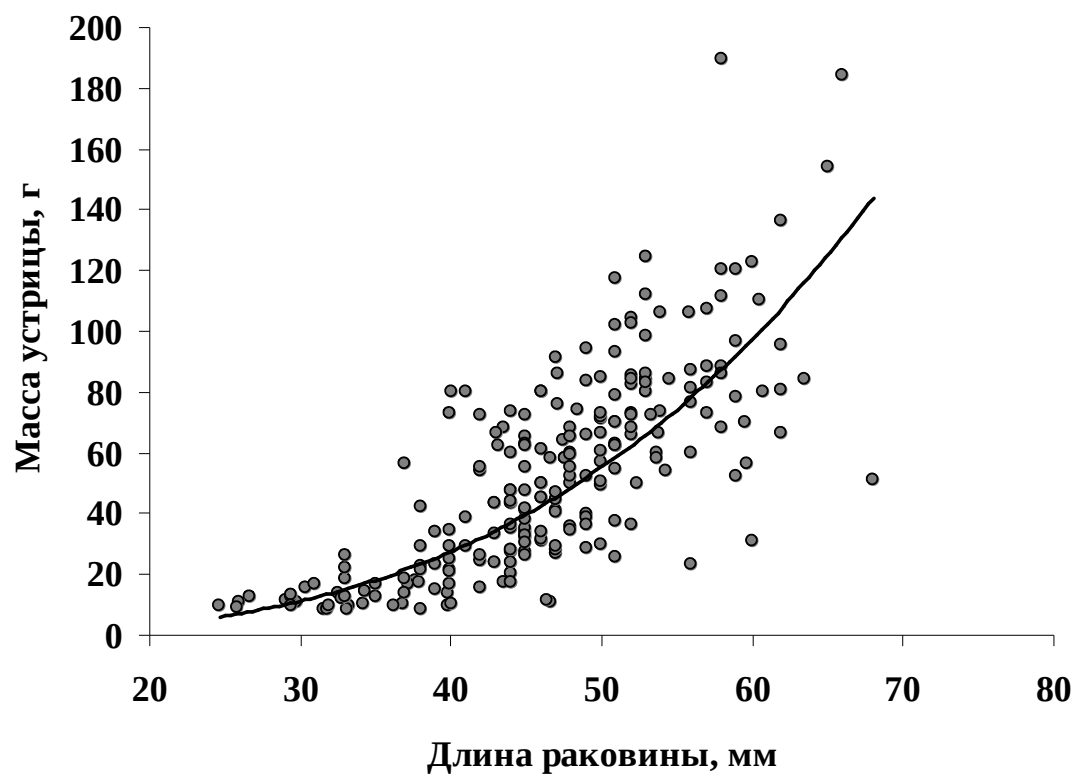


Рис. 3. Соотношение между массой и длиной раковины триплоидной устрицы *Crassostrea gigas*

Fig. 3. Relationship between weight and shell length of triploid oyster *Crassostrea gigas*

Результаты нашего исследования показали, что у быстрорастущих молодых триплоидных устриц обнаруживается чётко выраженная положительная аллометрия между биомассой и линейными параметрами раковины ($b > 3$), причём она значительно выше, чем у диплоидных организмов. Сравнение коэффициентов регрессии двух полученных нами уравнений позволяет сделать вывод о том, что на массу *C. gigas* больше оказывает влияние высота раковины, чем её длина. В литературе приводятся похожие результаты для *C. madrasensis* [22].

Современные фермеры отдают предпочтение триплоидным устрицам («устрицы четырёх сезонов»). Считается, что триплоиды обладают лучшими вкусовыми качествами, чем диплоидные моллюски, особенно во время репродуктивного сезона, поскольку не участвуют в процессах размножения и содержат большее количество гликогена [16, 18, 23]. Исследуемые нами триплоидные устрицы были получены путём скрещивания диплоидных самок и тетраплоидных самцов. Триплоиды, полученные скрещиванием родителей разной пloidности, на 6–10 % быстрее набирают массу и характеризуются большими линейными размерами, чем химически индуцированные особи [30, 31]. Некоторыми исследованиями подтверждается предположение о том, что триплоиды могут иметь более короткий период созревания и достигать рыночного размера быстрее, чем диплоиды [17, 23, 30].

Основная задача любой марикультурной фермы — получение качественной товарной продукции. Будущий урожай зависит от многих факторов, поэтому точно спрогнозировать объёмы и сроки производства морских гидробионтов достаточно трудно. Один из способов решения этой задачи — изучение процесса роста молоди устрицы и достижения ею товарных размеров. Товарной считается устрица правильной формы, с хорошо выраженной глубокой нижней створкой, имеющая определённую массу. В разных странах приняты различные классификации товарной тихоокеанской устрицы. На российском рынке морепродуктов наибольшим спросом пользуются моллюски весом 80–100 г. По нашим наблюдениям, в условиях лимана Донузлав первые моллюски коммерческого размера были получены уже в октябре; их доля составила 27 % (рис. 4). На протяжении последующих месяцев, несмотря на снижение температуры морской воды, доля товарных устриц росла. К январю 2018 г. она достигла 67 %.

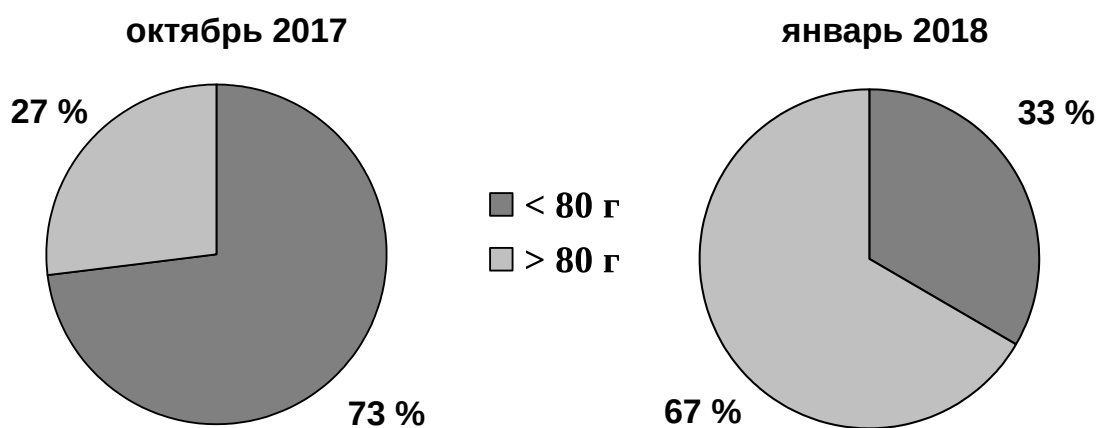


Рис. 4. Доля товарных триплоидных устриц *Crassostrea gigas* в разные периоды выращивания

Fig. 4. Share of commercial triploid oysters *Crassostrea gigas* in different periods of cultivation

Известно, что тихоокеанская устрица в Чёрном море растёт неравномерно, с высокой степенью индивидуальной вариабельности [1]. Наиболее быстро увеличиваются в размерах мелкие моллюски (спат Т6). Со временем темпы роста снижаются. На черноморских фермах обычно закупают и высаживают спат *C. gigas* Т6 и Т10, что обусловлено его низкой ценой и небольшими затратами на транспортировку. Сбор урожая устрицы в таких случаях начинают минимум через 1,5–2,5 года после высадки молоди [7].

Результаты нашего исследования показали, что условия Донузлава позволяют получить товарную устрицу (~ 80–90 г) в более короткие сроки. Использование триплоидного посадочного материала размером Т20 может быть рекомендовано для запуска производства устрицы в лимане Донузлав и в прибрежной части Чёрного моря. Лучшее время для вселения и акклиматизации молоди *C. gigas* — весенние месяцы.

Выводы:

1. Размерно-весовые соотношения триплоидной устрицы *Crassostrea gigas*, выращиваемой в лимане Донузлав, описываются аллометрическими уравнениями $W = 7 \cdot 10^{-5} \cdot H^{3,1}$, $R^2 = 0,78$ и $W = 3 \cdot 10^{-4} \cdot L^{3,12}$, $R^2 = 0,65$.
2. Максимальные скорости линейного роста отмечены в апреле (1,15 мм·сут.⁻¹), весового — в июне (0,50 г·сут.⁻¹) и августе (0,61 г·сут.⁻¹).
3. Уже через 6 месяцев после высадки 27 % молоди триплоидов Т20 достигают товарных размеров. На фермах по выращиванию устриц рекомендовано использовать молодь Т20 как посадочный материал.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом» (№ гос. регистрации АААА-А18-118021490093-4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Вялова О. Ю. Первые результаты выращивания триплоидной тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* в Черном море (Южный берег Крыма) // *Экология моря*. 2010. Вып. 79. С. 37–43. [Vyalova O. Yu. The first results of cultivation of triploid pacific oysters *Crassostrea gigas* in the Black Sea (Southern coast of Crimea). *Ekologiya morya*, 2010, iss. 79, pp. 37–43. (in Russ.)]
2. Гудимов А. В. Мидия *Mytilus edulis* L. // *Промысловые и перспективные для использования водоросли и беспозвоночные Баренцева и Белого морей*. Апатиты: Кольский науч. центр РАН, 1998. С. 529–576. [Gudimov A. V. Midiya *Mytilus edulis* L. *Promyslovye i perspektivnye dlya ispol'zovaniya vodorosli i bespozvonochnye Barentseva i Belogo morei*. Apatity: Kol'skii nauch. tsentr RAN, 1998, pp. 529–576. (in Russ.)]
3. Золотницкий А. П., Мони́на О. В. Рост и продукция японской устрицы (*Crassostrea gigas* Thunberg), акклиматизированной в Черном море // *Экология моря*. 1992. Вып. 41. С. 77–80. [Zolotnitskii A. P., Monina O. V. Growth and production of Japan oyster *Crassostrea gigas* Thunberg acclimated in the Black Sea. *Ekologiya morya*, 1992, iss. 41, pp. 77–80. (in Russ.)]
4. Золотницкий А. П., Орленко А. Н. Экологические закономерности роста тихоокеанской устрицы в различных районах Черного моря // *Рыбное хозяйство Украины*. 1999. № 2. С. 37–39. [Zolotnitskii A. P., Orlenko A. N. Ekologicheskie zakonomernosti rosta tikhoookeanskoi ustritsy v razlichnykh raionakh Chernogo morya. *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 1999, no. 2, pp. 37–39. (in Russ.)]
5. Золотницкий А. П., Орленко А. Н., Крючков В. Г., Сытник Н. А. К вопросу организации крупномасштабного культивирования устриц в озере Донузлав // *Труды ЮгНИРО*. 2008. Т. 46. С. 48–54. [Zolotnitskii A. P., Orlenko A. N., Kryuchkov V. G., Sytnik N. A. On organisation of large scale culture of oysters in the Donuzlav Lake. *Trudy YugNIRO*, 2008, vol. 46, pp. 48–54. (in Russ.)]
6. Орленко А. Н. Гигантская устрица *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Mytiliformes, Crassostreidae) как объект акклиматизации и основные этапы ее трансплантации в Черное море // *Зоологический журнал*. 1994. Т. 73, вып. 1. С. 51–54. [Orlenko A. N. The acclimatization of giant oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Mytiliformes, Crassostreidae) and the principal stages of its introduction in the Black Sea. *Zoologicheskii zhurnal*, 1994, vol. 73, iss. 1, pp. 51–54. (in Russ.)]
7. Крючков В. Г. Опыт выращивания устриц у восточного побережья Черного моря // *Труды ЮгНИРО*. 2010. Т. 48. С. 29–35. [Kryuchkov V. G. Experience of oyster growing near the Black Sea eastern coast. *Trudy YugNIRO*, 2010, vol. 48, pp. 29–35. (in Russ.)]

8. Batista F. M., Leitao A., Fonseca V. G., Ben-Hamadou R., Ruano F., Herniques M. A., Guedes-Pinto H., Boudry P. Individual relationship between aneuploidy of gill cells and growth rate in the cupped oysters *Crassostrea angulata*, *C. gigas* and their reciprocal hybrids. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, vol. 352, iss. 1, pp. 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.07.009>
9. Cruz A. F. C., Pena J. C., Lopez Y. S. Growth and sexual maturity of a *Crassostrea columbiensis* (Mollusca: Bivalvia) population. *Revista de Biología Tropical*, 1997, vol. 45, pp. 335–339.
10. Dame R. F. Comparison of various allometric relationships in intertidal and subtidal American oysters. *Fishery Bulletin*, 1972, vol. 70, no. 4, pp. 1121–1126.
11. Dégremont L., Bédier E., Soletchnik P., Ropert M., Huvet A., Moal J., Samain J. F., Boudry P. Relative importance of family, site and field placement timing on survival, growth and yield of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 2005, vol. 249, iss. 1–4, pp. 213–229. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.03.046>
12. Diederich S., Nehls G., van Beusekom J. E. E., Reise K. Introduced Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in the northern Wadden Sea: Invasion accelerated by warm summers? *Helgoland Marine Research*, 2005, vol. 59, iss. 2, pp. 97–106. <https://doi.org/10.1007/s10152-004-0195-1>
13. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *Cultured Aquatic Species Information Program. Crassostrea gigas (Thunberg, 1793)* [Electronic resource] / Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department. Roma: FAO, 2015. URL: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Crassostrea_gigas/en [accessed 23.03.2018].
14. Góngora-Gómez A. M., García-Ulloa M., Hernández-Sepúlveda J. A., Domínguez-Orozco A. L. Crecimiento del ostión *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) cultivado en el estero La Piedra, Sinaloa, México (Growth of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) cultured in estuary La Piedra, Sinaloa, Mexico). *Avances en Investigación Agropecuaria*, 2012, vol. 16, no. 2, pp. 91–104.
15. Grizzle R. E., Greene J. K., Coen L. D. Seston removal by natural and constructed intertidal Eastern oyster (*Crassostrea virginica*) reefs: A comparison with previous laboratory studies, and the value of in situ methods. *Estuaries and Coasts*, 2008, vol. 31, iss. 6, pp. 1208–1220. <https://doi.org/10.1007/s12237-008-9098-8>
16. Guo X., Allen S. K. Viable tetraploid Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by inhibiting polar body I in eggs of triploids. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, vol. 3, no. 1, pp. 42–50.
17. Harding J. M. Comparison of growth rates between diploid DEBY eastern oysters (*Crassostrea virginica*, Gmelin 1791), triploid eastern oysters, and triploid Suminoe oysters (*C. ariakensis*, Fugita 1913). *Journal of Shellfish Research*, 2007, vol. 26, iss. 4, pp. 961–972. [https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2007\)26\[961:COGRBD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2007)26[961:COGRBD]2.0.CO;2)
18. Maguire G. B., Boocock B., Kent G. N., Gardner N. C. Studies on triploids in Australia: IV. Sensory evaluation of triploid and diploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in Tasmania. In: J. A. Nell & G. B. Maguire (Eds). *Evaluation of triploid Sydney rock oysters (Saccostrea commercialis) and Pacific oysters (Crassostrea gigas) on commercial leases in New South Wales and Tasmania*. Final Report to FRDC, September, 1994, NSW Fisheries, Port Stephens Research Centre, Taylors Beach, NSW and University of Tasmania, Launceston, 1994, 37 p.
19. Mann R., Southworth M., Harding J. M., Wesson J. A. Population studies of the native eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) in the James River, Virginia, USA. *Journal of Shellfish Research*, 2009, vol. 28, iss. 2, pp. 193–220. <https://doi.org/10.2983/035.028.0203>
20. Nagi H. M., Shenai-Tirokar P. S., Jagtap T. G. Dimensional relationships in *Crassostrea madrasensis* (Preston) and *C. gryphoides* (Schlottheim) in Mangrove ecosystem. *Indian Journal of Geo-Marine Science*, 2011, vol. 40, no. 4, pp. 559–566.
21. Nair N. U., Nair N. B. Height-length relation of shells in the Indian blackwater oyster *Crassostrea madrasensis* (Preston) of the Cochi Harbour. *Fishery Technology*, 1986, vol. 23, no. 1, pp. 27–31.
22. Nair N. U., Nair N. B. Relation between weight and linear measurements of shell in *C. madrasensis* (Preston). *Fishery Technology*, 1986, vol. 23, no. 2, pp. 120–124.
23. Nell J. A. Farming triploid oysters. *Aquaculture*, 2002, vol. 210, iss. 1–4, pp. 69–88. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00861-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00861-4)
24. Nurul Amin S. M., Zafar M., Halim A. Age, growth, mortality and population structure of the eastern oyster, *Crassostrea madrasensis*, in the Mahashkali

- Channel (southeastern coast of Bangladesh). *Journal of Applied Ichthyology*, 2008, vol. 24, iss. 1, pp. 18–25. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2007.01007.x>
25. Octavina C., Yulianda F., Krisanti M., Muchlisin Z. A. Length-weight relationship of Ostreidae in the Kuala Gigieng estuary, Aceh Besar District, Indonesia. *AACL Bioflux*, 2015, vol. 8, no. 5, pp. 817–823.
 26. Pieterse A., Pitcher G., Naidoo P., Jackson S. Growth and condition of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* at three environmentally distinct South African oyster farms. *Journal of Shellfish Research*, 2012, vol. 31, iss. 4, pp. 1061–1076. <https://doi.org/10.2983/035.031.0418>
 27. Powell E. N., Mann R., Ashton-Alcox K. A., Kim Y., Bushek D. The allometry of oysters: spatial and temporal variation in the length-biomass relationships for *Crassostrea virginica*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2016, vol. 96, iss. 5, pp. 1127–1144. <https://doi.org/10.1017/S0025315415000703>
 28. Soletchnik P., Huvet A., Le Moine O., Razet D., Geairon P. H., Faury N., Gouletquer P. H., Boudry P. A comparative field study of growth, survival and reproduction of *Crassostrea gigas*, *C. angulata* and their hybrids. *Aquatic Living Resources*, 2002, vol. 15, iss. 4, pp. 243–250. [https://doi.org/10.1016/S0990-7440\(02\)01175-0](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(02)01175-0)
 29. Villanueva-Fonseca B. P., Góngora-Gómez A. M., Muñoz-Sevilla N. P., Domínguez-Orozco A. L., Hernández-Sepúlveda J. A., García-Ulloa M., Ponce-Palafox J. T. Growth and economic performance of diploid and triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* cultivated in three lagoons of the Gulf of California. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 2017, vol. 45, no. 2, pp. 466–480. <http://dx.doi.org/10.3856/vol45-issue2-fulltext-21>
 30. Wadsworth P. C. *Comparing triploid and diploid growth and mortality in farmed oysters, Crassostrea virginica, in the northern Gulf of Mexico*: A thesis submitted to the Graduate Faculty of Auburn University in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master of Science. Auburn, Alabama, 2018, 78 p.
 31. Wang Z., Guo X., Allen S. K., Wang R. Heterozygosity and body size in triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), produced from meiosis II inhibition and tetraploids. *Aquaculture*, 2002, vol. 204, iss. 3–4, pp. 337–348. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00845-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00845-6)
 32. Yoo S. K., Yoo M. S. Biological studies on oyster culture (II) morphological characteristics of the oyster, *Crassostrea gigas*. *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, 1973, vol. 6, pp. 65–74.

GROWTH AND TERMS OF OBTAINING MARKETABLE TRIPLOID OYSTERS IN DONUZLAV LIMAN (BLACK SEA, CRIMEA)

O. Yu. Vyalova

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: vyalova07@gmail.com

The rate of linear and weight growth of triploid spat of oyster *Crassostrea gigas* in Donuzlav Liman (Black Sea, Crimea) was investigated. A quantitative relationship between the mass (W, g) of the whole oyster and the height of the shell (H, mm) is given (it is described by the equation $W = 7 \cdot 10^{-5} \cdot H^{3.1}$, $R^2 = 0.78$), as well as a quantitative relationship between the mass (W, g) of the whole oyster and the length of the shell (L, mm) ($W = 3 \cdot 10^{-4} \cdot L^{3.12}$, $R^2 = 0.65$). The maximum rates of linear growth of triploid oysters T20 were registered in April (1.15 mm per day), of weight growth – in June (0.50 g per day) and August (0.61 g per day). It was shown that 27 % of triploid oysters T20 can reach commercial size after 6 months. It is recommended to use Pacific oysters of T20 size as a planting material on the shellfish farms in the Black Sea region.

Keywords: Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, growth, mariculture, Donuzlav, Black Sea



УДК 582.261.1:551.464.6

**ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
МОРСКОЙ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРОСЛИ
CYLINDROTHECA CLOSTERIUM (EHRENB.) REIMANN ET LEWIN
В ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРЕ
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКАХ АЗОТА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ**

© 2019 г. С. Н. Железнова

Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

E-mail: zheleznovasveta@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.07.2018; после доработки 20.08.2018;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Диатомовая водоросль *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin характеризуется высокой продуктивностью (до $1,5 \text{ г}_{\text{сух}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$) и способностью накапливать ценный каротиноид фукоксантин (до 2 % от сухой массы). Азот является одним из важнейших компонентов в питательной среде, существенно влияющих на продукционные характеристики микроводорослей. Цель работы — сравнить продукционные характеристики *C. closterium* при использовании разных форм азота в питательной среде в интенсивной накопительной культуре. В первом эксперименте источником азота служили нитрат и нитрит натрия, мочевины, азот в аммонийной форме. Отношение азота к фосфору (N:P) составляло 15:1. Во втором эксперименте источником азота служили аргинин, аспарагин и цистеин. Показана возможность использования диатомеей *C. closterium* для своего роста различных органических источников азота: мочевины, цистеина, аспарагина. Определены продукционные характеристики в интенсивной накопительной культуре *C. closterium* при применении мочевины, цистеина и аспарагина в качестве единственного источника азота в питательной среде RS. Показано, что при добавлении мочевины продуктивность достигала своих максимальных величин — $1,5 \text{ г}_{\text{сух}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$. Использование цистеина в стационарной фазе роста также целесообразно для увеличения времени этой фазы при минимальных концентрациях источника азота в питательной среде. Установлено, что *C. closterium* способна расти и вегетировать при достаточно высоких концентрациях нитрита; добавление азота в аммонийной форме в питательную среду во время активного роста водоросли приводит к ингибированию всех процессов метаболизма и к гибели культуры. При выращивании диатомеи для получения максимального выхода биомассы целесообразно применять мочевины в качестве дополнительного источника азота: именно при её добавлении зафиксированы максимальная продуктивность микроводоросли и продолжительная стационарная фаза роста, способствующая дальнейшему синтезу фукоксантина в культуре.

Ключевые слова: диатомовая морская водоросль *Cylindrotheca closterium*, продуктивность, аминокислоты, мочевины, азот, нитраты, нитриты, аммоний

Диатомовые водоросли — древнейшие организмы, возникшие в результате вторичного эндосимбиоза; они обладают гибким метаболизмом, что позволяет им выживать в неблагоприятных условиях среды обитания [18]. Диатомеи могут приспосабливаться к таким условиям благодаря особенностям своего биосинтеза и накоплению в клетках физиологически активных соединений: полиненасыщенных жирных кислот, каротиноидов, металлорганических соединений и т. п. [21, 26].

Именно способность к биосинтезу данных соединений явилась причиной повышенного интереса современной биотехнологии к диатомеям, в особенности к морским видам. Среди многих диатомовых — продуцентов ценных веществ — следует выделить бенто-планктонную морскую водоросль *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin. Она характеризуется высокой продуктивностью (до $1,5 \text{ г}_{\text{сух}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$), и способностью накапливать ценный каротиноид морского происхождения фукоксантин (до 2 % от сухой массы), полиненасыщенные жирные кислоты [26], йод [14], а также железо и другие металлы в органической форме [7].

При разработке биотехнологий на основе микроводорослей ключевым вопросом является создание питательных сред со значительными, но оптимальными для данной культуры концентрациями биогенных элементов. Для интенсивного культивирования *C. closterium* разработаны питательные среды [4], применение которых обеспечивает высокую продуктивность плотных культур как в лабораторных, так и в промышленных фотобиореакторах. Плотные культуры при определённых условиях могут не достигать своей максимальной продуктивности [1]. Для высокой степени накопления ценных веществ в биомассе важны не только концентрации биогенных элементов, но и их соотношение. Так, максимальное накопление фукоксантина возможно лишь при отношении азота к фосфору 15 : 1 [3].

Кроме концентраций и соотношений биогенных элементов в питательной среде, существенным параметром является степень эффективности усвоения биогенных элементов. Известно, например, что клетки микроводорослей поглощают азот как в нитратной, нитритной и аммонийной, так и в органической форме [16]. Углерод и азот — важнейшие компоненты в питательной среде, существенно влияющие на продукционные характеристики микроводорослей. Особый интерес представляют органические источники азота — аминокислоты, а также мочевины и её производные. Субстраты органического азота могут служить также источниками углерода, обеспечивая потребности в нём диатомовых водорослей. Наличие органических источников азота даёт возможность водорослям потреблять уже готовые углеводородные скелеты для биосинтеза, увеличивая свою скорость роста [15, 22].

Цель работы — сравнить продукционные характеристики диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* при использовании разных форм азота в питательной среде в интенсивной накопительной культуре.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали диатомею *Cylindrotheca closterium* из коллекции культур микроводорослей отдела экологической физиологии водорослей Института морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН (ФГБУН ИМБИ, г. Севастополь). *C. closterium* адаптировали к условиям интенсивного культивирования, используя питательную среду RS [4], при круглосуточном освещении 13 клк и при постоянной температуре (20 ± 1) °С. После адаптации культуру применяли как инокулят для дальнейших исследований. Во всех экспериментах *C. closterium* выращивали в режиме накопительного культивирования [3, 4]; использовали питательную среду RS с различными источниками азота с расчётом всех биогенных элементов на максимальную плотность культуры $3 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$. Концентрации биогенных элементов среды RS [4] приведены с расчётом на 1 г сухой массы. Культура была не лимитирована по свету.

В первом эксперименте в качестве источника азота использовали нитрат и нитрит натрия, мочевины и азот в аммонийной форме. Количество нитратов, нитритов, аммония и мочевины в питательной среде рассчитывали, исходя из содержания азота в ней; отношение азота к фосфору составляло 15 : 1. Экспериментально исследовали влияние азота в аммонийной форме на *C. closterium*, добавляя сульфат аммония, нитрат аммония или карбонат аммония в питательную среду во время активного роста культуры.

Во втором эксперименте в качестве источника азота использовали аминокислоты — аргинин, аспарагин и цистеин. Количество аспарагина и цистеина в питательной среде также рассчитывали, исходя из содержания азота в ней. При добавлении цистеина в питательную среду отношение азота к фосфору составляло 6 : 1. Аргинин и аспарагин добавляли в среду в пересчёте на отношение азота к фосфору 15 : 1.

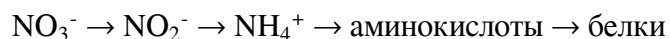
Плотность культуры определяли двумя методами: 1) методом йодатной окисляемости биомассы [2]; 2) прямым взвешиванием сырой биомассы *C. closterium* в полипропиленовых пробирках на аналитических весах САУУ-120 с погрешностью 1 мг после осаждения клеток центрифугированием (1600 g в течение 2 минут). При определении доверительного интервала использовали среднее квадратическое отклонение значений аликвот биомассы культуры объёмом 10 мл.

Для пересчёта полученных данных на сухую массу применяли полученный нами ранее экспериментальный коэффициент связи между сухой и сырой массой ($k = 0,1$) [3, 4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что продуктивность плотных культур микроводорослей при использовании разных источников азота отличается, несмотря на наличие у диатомей в плазмалемме переносчиков практически всех форм азота [6, 12] и на способность клеток поглощать азот из околоклеточной среды. Это можно объяснить специфической особенностью переносчиков азота у диатомовых водорослей, разным временем оборота ферментов, различной концентрацией ферментов-переносчиков в биомассе, а также неодинаковыми скоростями процессов и длительностью метаболических путей азота в клетке.

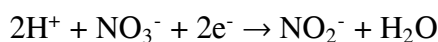
С использованием литературных данных нами разработана схема метаболических путей азота в клетках диатомовых водорослей (рис. 1). У диатомей восстановление азота происходит в несколько этапов [6, 12]:



Диатомовые водоросли способны ассимилировать как окисленный, так и восстановленный азот [8]. Его различные формы проникают в клетку диатомей благодаря специфическим ферментам-переносчикам [20]. Диатомовые способны ассимилировать нитраты, нитриты, аммоний, мочевины и аминокислоты [16, 17].

Нитратная форма азота. Исследование динамики плотности накопительной культуры *C. closterium* при использовании в качестве источника азота нитрата натрия показало, что плотность культуры достигла расчётного максимального значения (количество биогенных элементов в питательной среде вычисляли на 3 г сухой массы) и составила $3,2 \text{ г}_{\text{сух}} \cdot \text{л}^{-1}$ (рис. 2). Наибольшая продуктивность (максимальный прирост биомассы за одни сутки, измеряемый в граммах сухой массы водоросли на литр среды) зафиксирована на четвёртые сутки культивирования — $1,45 \text{ г}_{\text{сух}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$. В нашем случае у кривой роста присутствует длительная стационарная фаза. Это можно объяснить тем, что нитрат натрия поглощается клеткой водоросли за счёт специальных транспортных белков NRT2 и NPFs, выполняющих активный перенос нитрат-ионов и протонов (H^+) и регулирующих градиент pH [24, 25]. Когда эти белки-транспортёры ингибированы аммонийной формой азота или находятся в неактивном состоянии, длительная стационарная фаза не наблюдается.

Из рис. 1 следует, что нитратная форма азота транспортируется через мембрану, а затем за счёт работы цитозольной NADH-зависимой нитратредуктазы (далее — NR) восстанавливается до нитрит-иона:



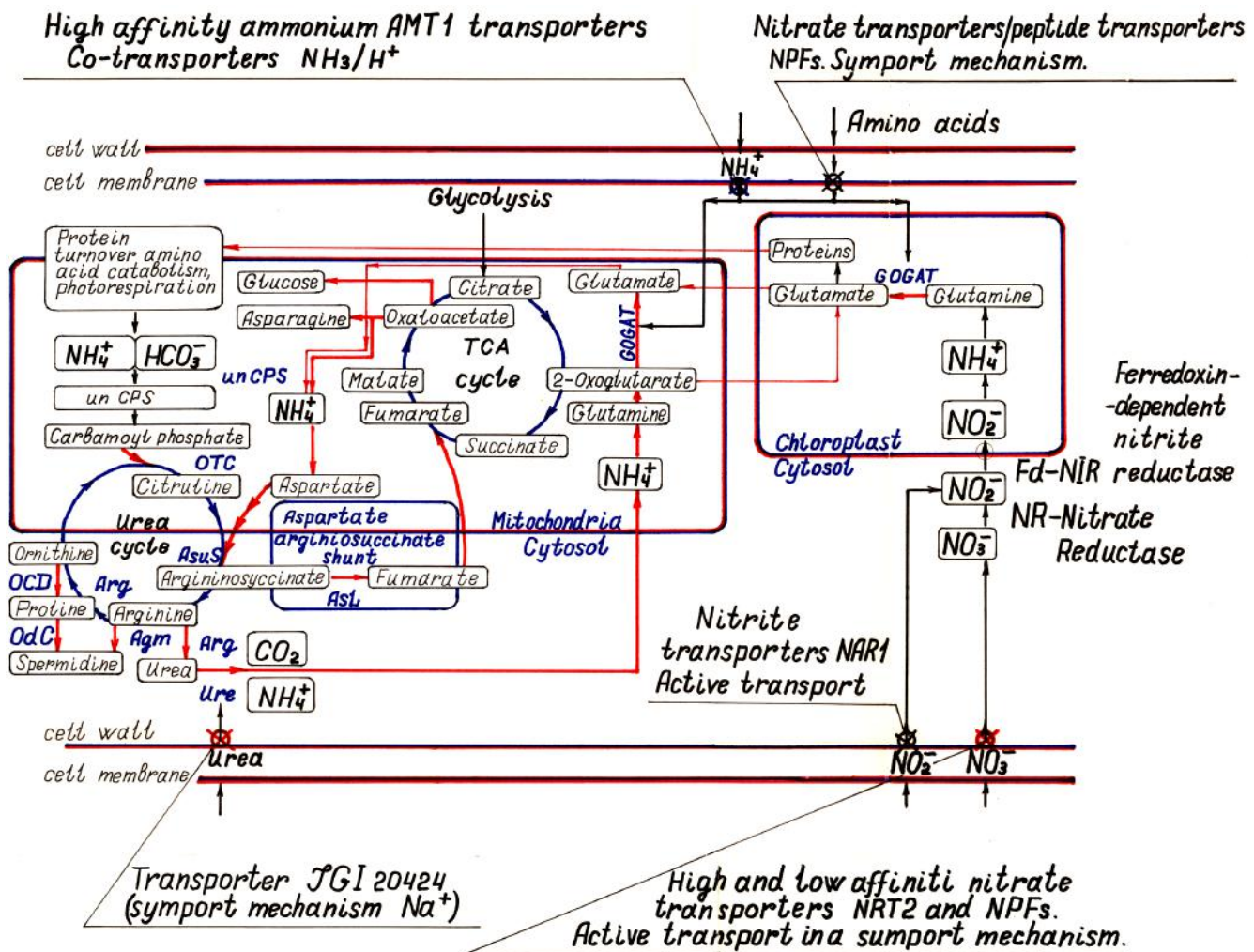


Рис. 1. Поглощение и пути метаболизма различных форм азота в клетках диатомовых водорослей (оригинальная схема с использованием литературных источников [5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 25])

Fig. 1. Absorption and metabolic pathways of various forms of nitrogen in diatom cells (original scheme using sources [5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 25])

Нитрит-ион далее переносится в хлоропласт и восстанавливается до аммония с помощью ферредоксин-зависимой нитритредуктазы (далее — Fd-NIR) [9]. Белки NRT2, обладающие высоким уровнем сродства с нитратной формой азота, имеют 12 трансмембранных сегментов и функционируют как котранспортёры нитрат-ионов и протонов, проявляющие свою активность при достаточно низких концентрациях нитратного азота. У пеннатной диатомовой водоросли *P. tricorutum* идентифицировано шесть белков-транспортёров NRT2, тогда как у центрической диатомеи *T. pseudonana* — три белка семейства NRT2 [23, 24, 25]. Белки NPF — семейство низкоаффинных переносчиков нитрат-ионов, которые, в отличие от своих животных и бактериальных аналогов, транспортируют широкий спектр субстратов в растениях: NO_3^- , ди- и трипептиды, аминокислоты, дикарбоксилаты, глюкозинолаты, ауксин и абсцизиновую кислоту [24]. Важно отметить, что активность транспортёров NRT2 и NPFs ингибируется (блокируется) ионами NH_4^+ . При концентрации аммония выше 1 мкМ поглощение нитрат-ионов прекращается [25].

Нитритная форма азота. Анализ результатов по динамике плотности накопительной культуры *C. closterium* при использовании в качестве источника азота нитрита натрия показал, что максимальная плотность культуры достигла расчётных величин, составив $2,8 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ сухой биомассы (рис. 2). Наибольшая продуктивность отмечена на четвёртые сутки культивирования

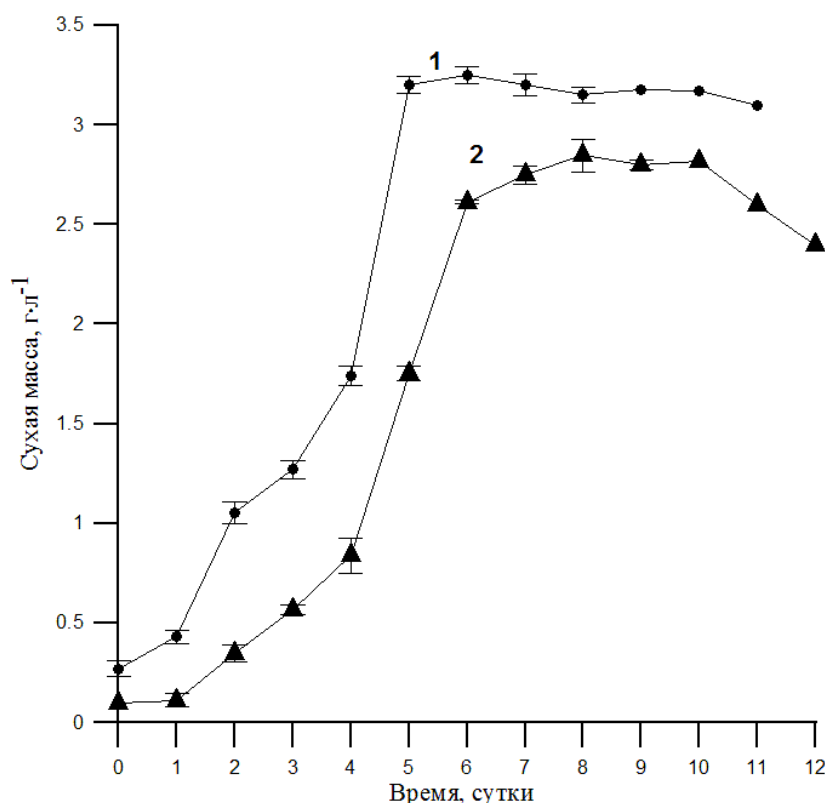
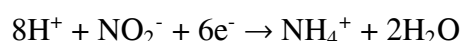


Рис. 2. Динамика плотности накопительной культуры диатомовой водоросли *C. closterium* при выращивании на среде RS при использовании нитрата натрия (1) и нитрита натрия (2) в качестве источников азота

Fig. 2. Density dynamics of *C. closterium* storage culture on RS nutrient medium using sodium nitrate (1) and sodium nitrite (2) as sources of nitrogen

(1 г_{сух}·л⁻¹·сут⁻¹). Скорость роста водорослей при использовании нитритов в питательной среде ниже, чем при использовании нитратов. Следовательно, восстановление нитратного азота до нитритного не является узким местом метаболизма клеток в целом.

Известно, что присутствие нитрит-ионов в питательной среде губительно для многих фототрофов, однако, по нашим данным, даже высокие концентрации нитрита натрия в среде (более 2 г·л⁻¹) не угнетают рост клеток *C. closterium*. Это объясняется наличием специфического фермента — нитритредуктазы. Fd-NIR представляет собой белок, который содержит гем серы и кластер железа (4Fe–4S), катализирующий шестиэлектронное восстановление NO₂ до NH₄⁺ [19]. У диатомовых водорослей физиологический донор электронов — ферредоксин — восстанавливается за счёт светозависимого переноса электронов в хлоропластах [27]. Снижение фотосинтетического электронного потока к ферредоксину в клетках из-за лимитирования железа в питательной среде может ограничить ассимиляцию NO₃⁻ [19]. Fd-NIR восстанавливает нитрит до аммиака, который затем может служить субстратом для глутаминсинтетазного/глутаматсинтетазного цикла (GS/GOGAT цикла) или для цикла мочевины [25]:



Таким образом, за счёт работы ферментов NR и Fd-NIR происходит восстановление неорганических форм азота до NH₄⁺.

На основании вышесказанного можно предположить, что продуктивность культуры диатомовых при добавлении нитритного азота в питательную среду будет выше, чем при добавлении нитратного, так как для восстановления азота до аммиака требуется меньше стадий и энергии. Однако, по нашим

данным, максимальная скорость роста культуры в заданных условиях ниже. Важно отметить, что аммонийная форма азота ингибирует ферментную активность Fd-NIR, а также подавляет синтез этого фермента на уровне экспрессии генов [9]. Для кривых роста, полученных при использовании в питательной среде нитритов и нитратов в качестве единственных источников азота, характерна длительная стационарная фаза роста (рис. 2).

Аммонийная форма азота. Для многих растительных организмов предпочтительным является азот в аммонийной форме. В отношении диатомовых наблюдается обратная картина: даже малые концентрации аммония в среде ингибируют рост культуры и приводят к гибели клеток. Экспериментально показано, что добавление аммония в количестве более $20 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ в питательную среду во время активного роста *C. closterium* ведёт к ингибированию всех процессов метаболизма и к гибели культуры (рис. 3). Аналогичные результаты получены в работе [20]. Аммоний вызывает гибель клеток *C. closterium* даже при наличии в питательной среде других форм азота.

Азот в аммонийной форме — важный ион, вовлечённый во многие внутриклеточные процессы (рис. 1). Аммоний, включаясь в глутаминсинтетазный/глутаматсинтетазный путь (GS/GOGAT путь), ассимилируется в аминокислоты [11]. Аммоний включается в цикл мочевины, в результате чего она синтезируется эндогенно [5, 6]. Он играет существенную роль во многих биохимических реакциях, протекающих в хлоропластах и митохондриях. Аммонийная форма азота — общий промежуточный продукт для неорганического восстановления азота, а глутамин и глутамат — первичные продукты ассимиляции азота. Эти распространённые промежуточные соединения имеют большое значение для регулирования поглощения и ассимиляции азота посредством обратной связи от пулов продуктов и соотношения глутамин : глутамат [24].

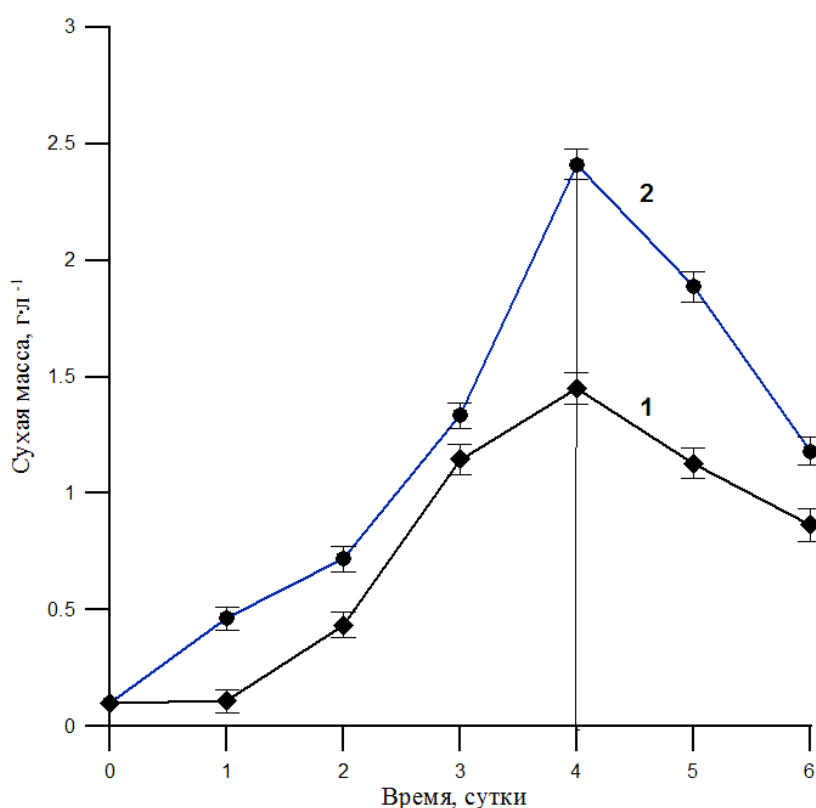


Рис. 3. Динамика плотности культуры *C. closterium* при использовании различных источников азота: 1 — натрит натрия (сплошной тонкой линией обозначен момент добавления нитрата аммония); 2 — мочевины (сплошной тонкой линией показан момент добавления сульфата аммония)

Fig. 3. The density dynamics of *C. closterium* using various nitrogen sources: 1 – sodium nitrate (the solid line indicates the moment of addition of ammonium nitrate); 2 – urea (the solid line indicates the time of addition of ammonium sulfate)

Аммоний проникает в клетку диатомовых благодаря транспортёрам подсемейства АМТ1 — каналоподобным белкам. Они действуют как унипортёры NH_4^+ или как котранспортёры NH_3/H^+ [24, 29]. Транспортёры подсемейства АМТ1 обладают высокой аффинностью (степень сродства с аммонийной формой азота), но при достижении оптимальных концентраций аммония в цитозоле прекращают перенос и поглощение NH_4^+ [24]. Эти транспортёры содержат 11 предполагаемых трансмембранных доменов и имеют общую эволюционную историю с семейством переносчиков NH_4^+ зелёных водорослей — Rh- NH_4^+ -транспортёров. У *P. tricornutum* и *C. closterium* обнаружено восемь белков — транспортёров АМТ1 [24].

Токсичность аммония для *C. closterium* можно объяснить тем, что аммонийная форма азота подавляет активность NR, ингибирует работу транспортёров нитрат- и нитрит-ионов из околочлесточной среды в клетку. Если концентрация аммония превышает $20 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, у диатомовых водорослей наблюдается низкая активность NR или её отсутствие из-за подавления синтеза NR на уровне экспрессии гена [10]. При малых концентрациях аммония в среде (менее $20 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$) диатомеи растут и вегетируют, но при такой обеспеченности клеток азотом получить плотную интенсивную культуру практически невозможно. Кроме того, аммоний негативно влияет на каталитический центр кислород-выделяющего комплекса фотосистемы II [20].

Мочевина. Анализ кривой роста, полученной при культивировании *C. closterium* с использованием мочевины в качестве единственного источника азота, показал, что максимальная плотность культуры достигла своих расчётных величин, составив $3,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ сухой биомассы (рис. 4). Наибольшая продуктивность зафиксирована на третьи сутки культивирования — $1,5 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$. Продуктивность культуры измеряли двумя методами — прямого взвешивания и йодатной окисляемости [2].

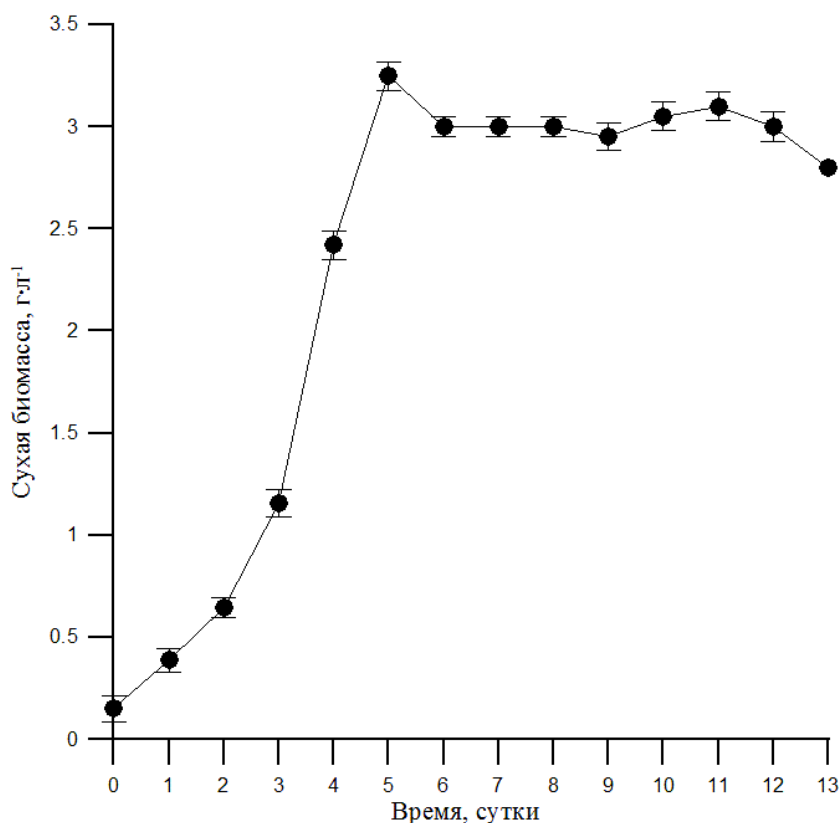


Рис. 4. Динамика плотности накопительной культуры диатомовой водоросли *C. closterium* на питательной среде RS при использовании мочевины в качестве источника азота

Fig. 4. The density dynamics of *C. closterium* in storage culture on RS nutrient medium when urea is used as a source of nitrogen

Доля азота в молекуле мочевины максимальна среди долей в молекулах источников азота и составляет 46,6 %. Одна молекула содержит два атома азота. Мочевина выступает источником не только азота, но и углерода; она включается во все основные циклы метаболизма диатомовых водорослей [28]. Вот почему при использовании мочевины в качестве единственного источника азота максимальная продуктивность культуры достигала $1,5 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, при этом расход мочевины при получении 1 г сухой массы был вдвое меньше, чем расход нитрата натрия.

Диатомовая водоросль *C. closterium* способна поглощать и накапливать мочевины и при этом расти и вегетировать с высокими удельными скоростями, так как её клетки имеют два высокоаффинных транспортёра молекул мочевины — симпортёр JGI_Pt_20424, локализованный во внешней мембране, и симпортёр JGI_39772, расположенный в мембране митохондрий [6]. Транспортёр мочевины с высоким сродством JGI_Pt_20424 содержит 15 трансмембранных доменов и филогенетически гомологичен транспортёру мочевины растений DUR3. Транспортёр мочевины JGI_39772 переносит её молекулы в митохондрии, где мочевина может служить субстратом для уреазы. Этот транспортёр обеспечивает работу цикла мочевины [6]. Образовавшаяся мочевина регулирует другие механизмы клеточного метаболизма, например катаболизм аминокислот, и служит осмолитом для клетки. Цикл мочевины соединён с циклами GS / GOGAT и трикарбоновых кислот за счёт аспарат-аргинино-сукцинатного шунта [23]. Можно сделать вывод, что ассимиляция мочевины не является лимитирующим звеном метаболизма *C. closterium*.

Аминокислоты как источник азота. Известно, что диатомовые водоросли способны поглощать и накапливать аминокислоты [13], однако потребление отдельных аминокислот видоспецифично. Глицин и гистидин преобладают у водорослей в стационарной фазе роста. Аланин и пролин превалируют при воздействии неблагоприятных факторов среды, когда в клетке происходят окислительные процессы [13]. Установлено, что клетки *C. closterium* не могут использовать аланин в качестве единственного источника азота. При выращивании *C. closterium* на питательной среде, где источником азота был аланин, клетки культуры погибали на второй-третий день. Известно, что аланин синтезируется у *C. closterium* в достаточном количестве для нормального метаболизма, но из околклеточной среды не поглощается [12]. В отличие от аланина, цистеин и аспарагин используются как субстрат для роста (рис. 5).

Аспарагин в диатомовых водорослях синтезируется из аспартата двумя способами: он использует в качестве донора аминогруппы либо глютамин, либо аммоний [12]. Ниже приведены данные по выращиванию *C. closterium* на питательной среде RS (N:P = 6:1) при применении в качестве источников азота двух аминокислот — цистеина и аспарагина (рис. 5). Биогенные элементы в питательных средах были рассчитаны на максимальную плотность культуры $3 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ сухой массы. Максимальная плотность культуры при использовании цистеина и аспарагина достигла расчётных величин и составила $3,1 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ сухой массы. Наибольшая продуктивность при добавлении цистеина и аспарагина — $0,9$ и $1,3 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ сухой массы в сутки соответственно.

При использовании цистеина в качестве единственного источника азота в питательной среде RS при отношении азота к фосфору 6:1 наблюдали продолжительную стационарную фазу, способствующую синтезу фукоксантина. При применении аспарагина стационарная фаза отсутствует. Повидимому, цистеин — углеводородный блок, который может непосредственно включаться в метаболизм, а также накапливаться в клетке как дополнительный источник азота [12]. Продуктивность *C. closterium* достигла своих максимальных значений ($1,5 \text{ г}_{\text{сух}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$) при использовании мочевины, нитрата натрия и аспарагина (табл. 1).

Таким образом, при выращивании диатомовой водоросли *C. closterium* с целью обеспечения максимального выхода биомассы целесообразно использовать мочевины в качестве дополнительного источника азота, так как её расход при получении единицы биомассы в два раза меньше, чем расход других источников азота, и при этом продуктивность культуры достигает высоких значений — $1,5 \text{ г}_{\text{сух}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$.

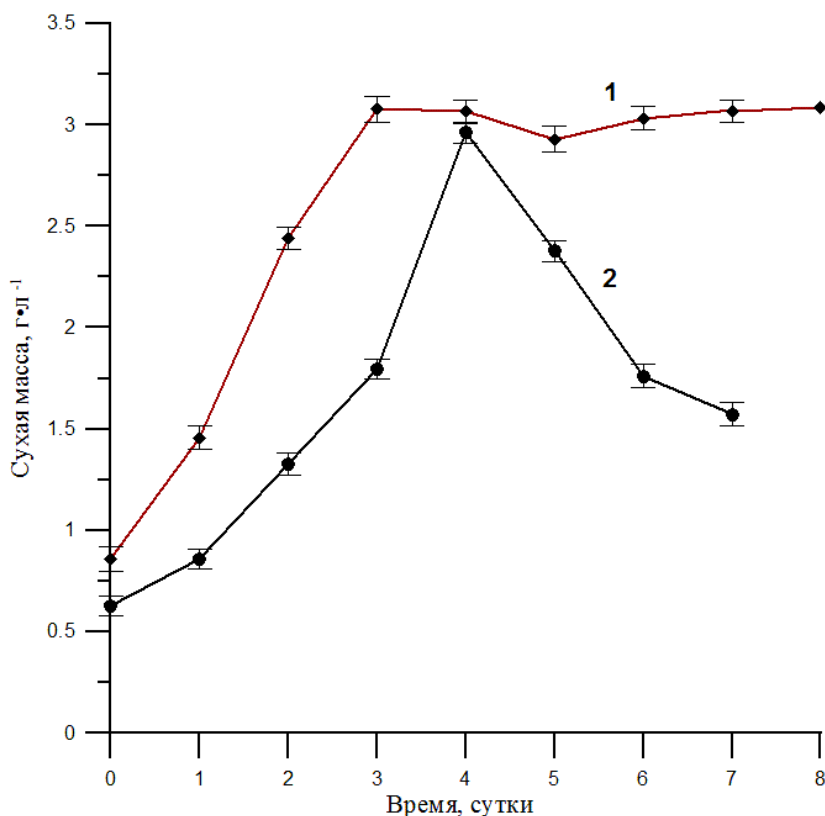


Рис. 5. Динамика плотности накопительной культуры диатомовой водоросли *C. closterium* на питательной среде RS (N:P = 6:1) при использовании различных аминокислот в качестве источников азота: 1 — цистеин, 2 — аспарагин

Fig. 5. The density dynamics of *C. closterium* in storage mode of cultivation on RS nutrient medium (N:P = 6:1) using different amino acids as sources of nitrogen: 1 – cysteine, 2 – asparagine

Таблица 1. Максимальная продуктивность диатомовой водоросли *C. closterium* при культивировании на различных источниках азота

Table 1. Peak productivity of diatom *C. closterium* on various sources of nitrogen

Источники азота	Мочевина	Нитраты	Нитриты	Цистеин	Аспарагин
Максимальная продуктивность, г _{сух} ·л ⁻¹ ·сут ⁻¹	1,5 ± 0,06	1,5 ± 0,05	1 ± 0,06	1 ± 0,07	1,4 ± 0,07

Заключение. Диатомовая водоросль *C. closterium* для своего роста и развития может использовать как неорганические, так и органические источники азота. Продуктивность микроводоросли достигает максимальных значений (1,5 г_{сух}·л⁻¹·сут⁻¹) при добавлении мочевины, нитрата натрия и аспарагина. Установлено, что *C. closterium* способна расти и вегетировать при достаточно высоких концентрациях нитрита, а добавление азота в аммонийной форме в питательную среду во время активного роста микроводоросли приводит к ингибированию всех процессов метаболизма и к гибели культуры.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации АААА-А18-118021350003-6) и при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-34-00672.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Геворгиз Р. Г., Железнова С. Н., Зозуля Ю. В., Уваров И. П., Репков А. П., Лелеков А. С. Промышленная технология производства биомассы морской диатомеи *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin с использованием газовихревого фотобиореактора // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*. 2016. № 1–1. С. 73–77. [Gevorgiz R. G., Zheleznova S. N., Zozulya Yu. V., Uvarov I. P., Repkov A. P., Lelekov A. S. Industrial production technology biomass marine diatoms *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin using gas vortex photobioreactor. *Aktual'nye voprosy biologicheskoi fiziki i khimii*, 2016, no. 1–1, pp. 73–77. (in Russ.)]
2. Геворгиз Р. Г., Железнова С. Н., Никонова Л. Л., Бобко Н. И., Нехорошев М. В. Оценка плотности культуры фототрофных микроорганизмов методом йодатной окисляемости. Севастополь, 2015. 31 с. (Препринт / РАН, Ин-т морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского). [Gevorgiz R. G., Zheleznova S. N., Nikonova L. L., Bobko N. I., Nekhoroshev M. V. *Estimation of microalgae culture density by iodate oxidation method*. Sevastopol, 2015, 31 p. (Preprint / RAS, Kovalevsky Institute of Marine Biological Research). (in Russ.)] <https://repository.marine-research.org/handle/299011/43>
3. Железнова С. Н., Геворгиз Р. Г., Нехорошев М. В., Бобко Н. И. Влияние концентрации азота в среде на накопление фукоксантина в биомассе диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* // *Морские биологические исследования: достижения и перспективы* : в 3-х т. : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием, приуроч. к 145-летию Севастопольской биологической станции, Севастополь, 19–24 сентября 2016 г. / под общ. ред. А. В. Гаевской. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2016. Т. 1. С. 416–418. [Zheleznova S. N., Gevorgiz R. G., Nekhoroshev M. V., Bobko N. I. Influence of nitrogen concentration on fucoxanthin accumulation in diatom *Cylindrotheca closterium* biomass. In: *Morskie biologicheskie issledovaniya: dostizheniya i perspektivy* : v 3-kh t. : sb. materialov Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, priuroch. k 145-letiyu Sevastopol'skoi biologicheskoi stantsii, Sevastopol, 19–24 Sept., 2016 / A. V. Gaevskaya (Ed.). Sevastopol: EKOSI-
4. Геворгиз Р. Г., Железнова С. Н., Бобко Н. И., Лелеков А. С. Среда для интенсивного культивирования *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin (Bacillariophyta) // *Альгология*. 2016. Т. 26, № 3. С. 237–247. [Ryabushko V. I., Zheleznova S. N., Gevorgiz R. G., Bobko N. I., Lelekov A. S. The medium for intensive culture of the diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin (Bacillariophyta). *Algologiya*, 2016, vol. 26, no. 3, pp. 237–247. (in Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15407/alg26.03.237>
5. Allen A. E., Vardi A., Bowler C. An ecological and evolutionary context for integrated nitrogen metabolism and related signaling pathways in marine diatoms. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, vol. 9, iss. 3, pp. 264–273. <http://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.013>
6. Allen A. E., Dupont C. L., Oborník M., Horák A., Nunes-Nesi A., McCrow J. P., Zheng H., Johnson D. A., Hu H., Fernie A. R., Bowler C. Evolution and metabolic significance of the urea cycle in photosynthetic diatoms. *Nature*, 2011, vol. 473, no. 7346, pp. 203–207. <http://doi.org/10.1038/nature10074>
7. Anderson M. A., Morel F. M. M. The influence of aqueous iron chemistry on the uptake of iron by the coastal diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Limnology and Oceanography*, 1982, vol. 27, iss. 5, pp. 789–813. <http://doi.org/10.4319/lo.1982.27.5.0789>
8. Andersson M. G. I., van Rijswijk P., Middelburg J. J. Uptake of dissolved inorganic nitrogen, urea and amino acids in the Scheldt estuary: comparison of organic carbon and nitrogen uptake. *Aquatic Microbial Ecology*, 2006, vol. 44, iss. 3, pp. 303–315. <http://dx.doi.org/10.3354/ame044303>
9. Berges J. Miniview: algal nitrate reductases. *European Journal of Phycology*, 1997, vol. 32, iss. 1, pp. 3–8. <https://doi.org/10.1080/09541449710001719315>
10. Blasco D., Conway H. L. Effect of ammonium on the regulation of nitrate assimilation in natural phytoplankton populations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1982, vol. 61, iss. 2, pp. 157–168. [http://doi.org/10.1016/0022-0981\(82\)90005-3](http://doi.org/10.1016/0022-0981(82)90005-3)
11. Bressler S. L., Ahmed S. I. Detection of glutamine synthetase activity in marine phytoplankton: Optimization of the biosynthetic assay. *Marine Ecology*

- Progress Series*, 1984, vol. 14, pp. 207–217.
12. Bromke M. A. Amino Acid Biosynthesis Pathways in Diatoms. *Metabolites*, 2013, vol. 3, iss. 2, pp. 294–311. <http://doi.org/10.3390/metabo3020294>
 13. Chen C., Li Q., Zhou Q., Sun L., Zheng M., Gao Y. Accumulation of free amino acids in marine diatom resting cells during rejuvenation. *Journal of Sea Research*, 2014, vol. 85, pp. 483–490. <http://doi.org/10.1016/j.seares.2013.08.003>
 14. de la Cuesta J. L., Manley S. L. Iodine assimilation by marine diatoms and other phytoplankton in nitrate-replete conditions. *Limnology and Oceanography*, 2009, vol. 54, iss. 5, pp. 1653–1664. <http://doi.org/10.4319/lo.2009.54.5.1653>
 15. Flynn K. J., Syrett P. J. Characteristics of the uptake system for L-lysine and L-arginine in *Phaeodactylum tricorutum*. *Marine Biology*, 1986, vol. 90, iss. 2, pp. 1151–158. <http://doi.org/10.1007/BF00569121>
 16. Grant B. R., Madgwick J., Dal Pont G. Growth of *Cylindrotheca closterium* var. *californica* (Mereschk.) Reimann & Lewin on nitrate, ammonia, and urea. *Marine and Freshwater Research*, 1967, vol. 18, iss. 2, pp. 129–136. <http://doi.org/10.1071/MF9670129>
 17. Grant B. R., Turner I. M. Light-stimulated nitrate and nitrite assimilation in several species of algae. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1969, vol. 29, iss. 3, pp. 995–1004. [http://doi.org/10.1016/0010-406X\(69\)91001-9](http://doi.org/10.1016/0010-406X(69)91001-9)
 18. Keeling P. J. The endosymbiotic origin, diversification and fate of plastids. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2010, vol. 365, no. 1541, pp. 729–748. <http://doi.org/10.1098/rstb.2009.0103>
 19. Milligan A. J., Harrison P. J. Effects of non-steady-state iron limitation on nitrogen assimilatory enzymes in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 2000, vol. 36, iss. 1, pp. 78–86. <http://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2000.99013.x>
 20. Parker M. S., Armbrust E. V. Synergistic effects of light, temperature and nitrogen source on transcription of genes for carbon and nitrogen metabolism in the centric diatom *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 2005, vol. 41, iss. 6, pp. 1142–1153. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.00139.x>
 21. Peng J., Yuan J.-P., Wu C.-F., Wang J.-H. Fucoxanthin, a Marine Carotenoid Present in Brown Seaweeds and Diatoms: Metabolism and Bioactivities Relevant to Human Health. *Marine Drugs*, 2011, vol. 9, iss. 10, pp. 1806–1828. <http://doi.org/10.3390/md9101806>
 22. Price N. M., Harrison P. J. Uptake of urea C and urea N by the coastal marine diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Limnology and Oceanography*, 1988, vol. 33, iss. 4, pp. 528–537. <http://doi.org/10.4319/lo.1988.33.4.0528>
 23. Prihoda J., Tanaka A., de Paula W. B. M., Allen J. F., la Tirichine L., Bowler C. Chloroplast-mitochondria cross-talk in diatoms. *Journal of Experimental Botany*, 2012, vol. 63, iss. 4, pp. 1543–1557. <http://doi.org/10.1093/jxb/err441>
 24. Rogato A., Amato A., Iudicone D., Chiurazzi M., Ferrante M. I., d'Alcalà M. R. The diatom molecular toolkit to handle nitrogen uptake. *Marine Genomics*, 2015, vol. 24, pt. 1, pp. 95–108. <http://doi.org/10.1016/j.margen.2015.05.018>
 25. Song B., Ward B. B. Molecular cloning and characterization of high affinity nitrate transporters in marine phytoplankton. *Journal of Phycology*, 2007, vol. 43, iss. 3, pp. 542–552. <http://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00352.x>
 26. Suman K., Kiran T., Devi U. K., Sarma N. S. Culture medium optimization and lipid of *Cylindrotheca*, a lipid- and polyunsaturated fatty acid-rich pennate diatom and potential source of eicosapentaenoic acid. *Botanica Marina*, 2012, vol. 55, iss. 3, pp. 289–299. <http://doi.org/10.1515/bot-2011-0076>
 27. Swamy U., Wang M., Tripathy J. N., Kim S. K., Hirasawa M., Knaff D. B., Allen J. P. Structure of spinach nitrite reductase: Implications for multi-electron reactions by the iron-sulfur:siroheme cofactor. *Biochemistry*, 2005, vol. 44, iss. 49, pp. 16054–16063. <http://doi.org/10.1021/bi050981y>
 28. Williams S. K., Hodson R. C. Transport of urea at low concentrations in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Journal of Bacteriology*, 1977, vol. 130, iss. 1, pp. 266–273.
 29. Yuan L., Loqué D., Ye F., Frommer W. B., von Wirén N. Nitrogen-dependent posttranscriptional regulation of the ammonium transporter *AtAMT1;1*. *Plant Physiology*, 2007, vol. 143, iss. 2, pp. 732–744. <http://doi.org/10.1104/pp.106.093237>

**PRODUCTION CHARACTERISTICS
OF THE DIATOM *CYLINDROTHECA CLOSTERIUM* (EHRENB.) REIMANN ET LEWIN
GROWN IN AN INTENSIVE CULTURE
AT VARIOUS NITROGEN SOURCES IN THE MEDIUM**

S. N. Zheleznova

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: zheleznovasveta@yandex.ru

The diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Levin is characterized by high productivity (up to $1.5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$) and the ability to accumulate a valuable carotenoid fucoxanthin (up to 2 % of dry weight). In the development of biotechnology based on microalgae, the key issue is the creation of concentrated nutrient medium. Nitrogen is one of the most important components in the nutrient medium that significantly affects the production characteristics of all microalgae. The aim of this study is to compare the production characteristics of *C. closterium* in an intensive storage culture using different forms of nitrogen in the medium. In the first experiment, nitrate and sodium nitrite, urea, and nitrogen in the form of ammonium were used as a source of nitrogen. The amount of nitrates, nitrites, ammonium, and urea in the medium was calculated from the nitrogen content of the RS nutrient medium, with a nitrogen to phosphorus ratio of 15 : 1. In the second experiment, amino acids were used as a nitrogen source – arginine, asparagine, cysteine. The possibility of using the microalgae *C. closterium* for the growth of various organic sources of nitrogen (urea, cysteine, asparagine) was shown. Productive characteristics in the intensive storage culture of *C. closterium* using urea, cysteine, and asparagine as the sole source of nitrogen in the RS nutrient medium were determined. It is shown that when urea was used, the productivity reached its maximum values and amounted to $1.5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$. Thus, the expediency of using urea in the medium for obtaining the maximum yield of biomass was shown. The use of cysteine in the stationary phase of growth to achieve a long stationary phase with minimal concentrations of the nitrogen source in the nutrient medium is also advisable. It was found that *C. closterium* was able to grow and vegetate at sufficiently high concentrations of nitrite, and the addition of nitrogen in ammonium form to the nutrient medium during the active growth of *C. closterium* led to inhibition of all metabolic processes and to the death of the culture.

Keywords: diatom *Cylindrotheca closterium*, productivity, amino acids, urea, nitrogen, nitrates, nitrites, ammonium



УДК 597.541:591.4(262.5+262.54)

**СОВРЕМЕННАЯ ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА
ЕВРОПЕЙСКОГО АНЧОУСА *ENGRAULIS ENCRASICOLUS* L. (ENGRAULIDAE: PISCES)
В ЧЁРНОМ И АЗОВСКОМ МОРЯХ
И ИСТОРИЯ ЕЁ ФОРМИРОВАНИЯ**

© 2019 г. Г. В. Зуев

Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

E-mail: zuev-ger@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.04.2018; после доработки 05.06.2018;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Европейский анчоус, или хамса, *Engraulis encrasicolus* L. — один из наиболее массовых видов рыб в Азово-Черноморском бассейне. *E. encrasicolus* — политипический вид; в Чёрном и Азовском морях он представлен двумя внутривидовыми формами — черноморским анчоусом (*E. encrasicolus ponticus* Alex.) и азовским анчоусом (*E. encrasicolus maeoticus* Pusanov), таксономический статус которых остаётся до настоящего времени неясным. Актуальной задачей является оценка современной популяционной структуры *E. encrasicolus* и её возможных изменений под воздействием климатических и антропогенных факторов в целях разработки необходимых мер по предотвращению негативных последствий и сохранения ресурсного потенциала вида. Данная работа посвящена изучению современной популяционной структуры европейского анчоуса в Чёрном и Азовском морях и геологических и палеоклиматических условий её формирования, а также оценке возможных изменений с учётом реальных природных и антропогенных факторов риска. В основу работы положены результаты изучения внутривидовой морфобиологической, биохимической, генетической и экологической изменчивости *E. encrasicolus*, а также пространственных и репродуктивных взаимоотношений азовского и черноморского анчоуса. В историческом аспекте выполнен анализ литературных данных по проблеме внутривидовой неоднородности *E. encrasicolus* в Чёрном и Азовском морях, полученных отечественными и зарубежными авторами за 100-летний период (1913–2014); список публикаций включает более 40 наименований. В работе использованы также результаты собственных исследований. Систематизированы и обобщены сведения о границах репродуктивных ареалов черноморского и азовского анчоуса. Установлено, что их репродуктивные ареалы охватывают всю акваторию Чёрного и Азовского морей и перекрываются на всём пространстве. При отсутствии отдельных, пространственно обособленных репродуктивных ареалов и при наличии одновременного нереста принадлежность черноморского и азовского анчоуса к разным подвидам (географическим расам) исключается. Популяционный уровень различий между черноморской и азовской хамсой подтверждают результаты генетико-биохимических исследований: коэффициенты генетического сходства и генетического расстояния между ними составили 0,9983–0,9985 и 0,0015–0,0017 соответственно. Представлена геологическая история формирования популяционной структуры *Engraulis encrasicolus*. Современные азовский и черноморский анчоусы в прошлом были пространственно разобщены и вступили в контакт лишь вторично (после того как в процессе эволюции между ними возник ряд различий). Их изоляция произошла в миоцене (23,0–5,3 млн лет назад), в новообразованном, изолированном от океана Тетис Сарматском море. В результате возникли две географически обособленные и независимые группы анчоусов (западная и восточная), дальнейшее развитие которых происходило с разной скоростью. Более быстрые темпы эволюции западной группы привели к образованию более прогрессивных черноморского и средиземноморского анчоусов, а более низкие темпы эволюции восточной группы — к образованию более примитивного азовского анчоуса. Только в современную эпоху,

после окончания последнего ледникового периода и восстановления связи Чёрного моря со Средиземным 7–5 тыс. лет назад, произошёл контакт между ними, который впоследствии сопровождался гибридизацией, то есть образованием зоны вторичной интерградации. В условиях интрогрессивной гибридизации в последние десятилетия, связанной с осолонением Азовского моря в результате хозяйственной деятельности человека, существует реальная угроза разрушения генофонда азовской хамсы и её «генетического поглощения» черноморской. Тем не менее генетическая идентичность азовского анчоуса до настоящего времени сохраняется. Это происходит прежде всего благодаря экологическим механизмам сезонной (выбор времени) и биотопической (выбор места) изоляции в репродуктивный период. Установлена определённая закономерность перераспределения самок в составе нерестового стада: доля самок азовского анчоуса уменьшается, доля самок черноморской хамсы увеличивается. Из этого следует, что популяции азовского и черноморского анчоуса являются «температурными» расами, адаптированными к разным репродуктивным температурным условиям: азовская — к более низким, черноморская — к более высоким. Кроме сезонной, установлена биотопическая изоляция черноморской и азовской хамсы. Черноморский анчоус предпочитает нереститься в открытых районах Чёрного моря при солёности воды выше 16‰: там его доля составляет 55–60% (в прибрежных водах значение показателя не превышает 5–40%). Азовский анчоус, напротив, в нерестовый период преобладает в прибрежных опреснённых водах с солёностью ниже 15‰: его доля здесь достигает 60–90%.

Ключевые слова: европейский анчоус, популяционная структура, гибридизация, зона вторичной интерградации, ледниковый период, механизмы изоляции

Европейский анчоус, или хамса, *Engraulis encrasicolus* L. благодаря своей многочисленности играет исключительно важную роль в экосистеме моря, выступая промежуточным звеном между зоопланктоном и представителями высшего трофического уровня — крупными хищными рыбами, дельфинами, птицами. В то же время этот вид стабильно занимает первое место по объёму вылова и является важным промысловым объектом во всех причерноморских странах. Основной промысел ведётся в прибрежных водах Турции и Грузии, куда хамса в массовом количестве мигрирует из северной половины Чёрного моря и из Азовского моря на зимовку, образуя плотные и устойчивые скопления. Относительно небольшая часть общего стада зимует у кавказского побережья, а также у южного и юго-западного побережья Крыма. Лов хамсы относится к числу традиционных видов черноморского рыбного промысла. Это достаточно убедительно доказывают, в частности, результаты археологических раскопок Херсонеса Таврического [34]. О том, насколько велики были масштабы данного промысла в античном мире, свидетельствуют объёмы вырубленных в скалах древнего города засолочных (пашенных) ям, вмещающих до 500–1000 пудов рыбы. Документальное подтверждение массовой зимовки хамсы у юго-западного побережья Крыма (в Балаклавской бухте) в 1859 г. приводит Н. Я. Данилевский [31]. Согласно его описанию, хамсы было настолько много, что не было видно воды. Массовая зимовка повторилась, пусть и не в столь впечатляющих масштабах, в 1867 г. Общий вылов анчоуса для всего Крымского полуострова в начале XX века достигал 75–83 тыс. ц, при этом на Севастопольско-Балаклавский район приходилось до 20–25 тыс. ц [35]. С конца 1960-х — начала 1970-х гг. до нашего времени доля вылова хамсы в черноморском рыбном промысле составляет 80–85%. Средний годовой вылов анчоуса на протяжении последних лет (после 2000 г.) — около 250 тыс. т [41].

Цель статьи — на основе комплексного анализа морфофизиологической, биохимической, генетической и экологической изменчивости, а также репродуктивных и пространственных взаимоотношений черноморского и азовского анчоуса и геологической истории вида установить популяционную структуру *E. encrasicolus* в Азово-Черноморском бассейне в современных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Выполнен анализ морфологических, биохимических, генетических и эколого-географических исследований отечественных и зарубежных авторов, в которых содержатся прямые или косвенные сведения о внутривидовой изменчивости и неоднородности европейского анчоуса *E. encrasicolus*, населяющего Чёрное и Азовское море. Использовано более 40 литературных источников.

В работе приводятся и результаты наших собственных исследований (2001–2015), посвящённых изучению внутривидового состава *E. encrasicolus* в Крымском регионе, а также биоэкологических особенностей и распространения разных внутривидовых форм. Внутривидовую принадлежность анчоуса устанавливали с помощью индекса отолитов, представляющего собой отношение длины отолита к его ширине [33]. Исследовали хамсу из траловых и кошельковых уловов промысловых судов. Всего проанализировано более 10 тыс. экземпляров рыб.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые на существование внешних различий и особенностей поведения хамсы обратили внимание С. А. Зернов [13] и Н. Е. Максимов [27]. По сведениям С. А. Зернова, основанным на наблюдениях местных рыбаков, в районе Балаклавы — Севастополя встречаются две формы хамсы, различающиеся размерами и окраской. Осенью, при понижении температуры воды до 14 °С, ловится обычно черноморская, или «чёрная», хамса, но бывает и азовская, которая держится здесь до тех пор, пока температура не уменьшается до 9 °С. Весной, при повышении температуры воды, ловится преимущественно азовская хамса, более мелкая и светло окрашенная. К сожалению, ввиду отсутствия специальных исследований вопрос о таксономическом ранге этих форм остался открытым.

Более подробные сведения можно найти у Н. Е. Максимова [27]. На основании данных об общих размерах и окраске рыб, а также о времени их появления у крымских берегов он пришёл к выводу о существовании в Чёрном море двух разновидностей хамсы — черноморской и азовской. Уточнение ранга систематических различий между ними учёный оставил будущим исследователям. Азовская (мелкая) хамса населяет, по его мнению, Азовское море, однако с наступлением холодов (в октябре-ноябре) уходит в Чёрное море к крымским и/или к кавказским берегам. Всё зависит от силы и направления господствующих в то время ветров: при западных она направляется больше к Кавказу, при восточных — в сторону Крыма, где в отдельные годы распространяется до мыса Сарыч, Севастополя и — редко — до Евпатории, образуя огромные косяки, которые держатся с декабря по февраль. С наступлением весны она возвращается в Азовское море. Черноморская хамса у крымских берегов встречается с мая по октябрь-ноябрь. От азовской она отличается более крупными размерами и тёмной окраской. Таким образом, из работ С. А. Зернова и Н. Е. Максимова впервые становится известно о существовании в Чёрном море, в частности у западного побережья Крыма (в Севастопольско-Балаклавском районе), двух разных форм хамсы.

Таксономические исследования хамсы, населяющей Азово-Черноморский бассейн, с использованием морфологических (пластических и меристических) признаков выполнены независимо друг от друга И. И. Пузановым [30, 32] и А. И. Александровым [1]. В результате выделены две географические расы (два подвида) — черноморская (*Engraulis encrasicolus ponticus* Aleks.) и азовская (*Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov). По А. И. Александрову, черноморская хамса населяет западную половину Чёрного моря. Её репродуктивный ареал занимает всю эту акваторию, включая северо-западную часть и Каркинитский залив. Размножение происходит в летние месяцы. С наступлением осени из северо-западной части моря она мигрирует к побережью Крыма, к берегам Румынии и Болгарии, а возможно, и к Босфору, где остаётся на зиму. Фактором, сдерживающим массовое распространение черноморской хамсы в восточную половину моря, является, по мнению А. И. Александрова, система крупномасштабных круговых течений, что, однако, не исключает возможность её частичного проникновения в этот регион вплоть до Керченского пролива. Азовская хамса, в отличие от черноморской, населяет восточную половину Чёрного моря и Азовское море. Основной район её размножения — Азовское море, но часть особей нерестится в Чёрном. С наступлением осени азовская хамса мигрирует в более прогретые воды как крымского, так и кавказского побережья. В западном направлении она доходит до мыса Сарыч, в восточном — до Грузии и Турции.

Согласно [30], черноморская хамса населяет всё пространство Чёрного моря, включая его северо-западную часть и Керченский пролив, но в Азовское море не заходит. Размножение происходит повсеместно. После нереста в северо-западной части Чёрного моря хамса мигрирует в направлении Крыма, распространяясь вплоть до Алушты. В отличие от черноморской, азовская хамса нагуливается и размножается в летнее время в Азовском море. После нереста она выходит в Чёрное море на зимовку, которая происходит у берегов Крыма или Кавказа. В западном направлении азовская хамса доходит до залива Ласпи и до Балаклавы, редко — до Севастополя. В восточном направлении она не мигрирует дальше Синопа (полуостров Бозтепе). В отдельные годы от южного побережья Крыма она уходит напрямую к берегам Турции, пересекая Чёрное море. Согласно С. М. Малятскому [28], район зимовки азовской хамсы у крымских берегов чаще всего располагается на участке между мысами Сарыч и Айя, однако в отдельные годы простирается до Севастополя и дальше.

Исследования А. А. Майоровой [22, 23, 24] позволили уточнить пространственную и функциональную структуру ареалов черноморской и азовской рас хамсы в Чёрном море, а также их сезонные изменения. Представители обеих рас обнаружены в восточной части моря (они встречались там постоянно). Кроме того, установлена внутренняя неоднородность черноморской расы по морфологическим, биологическим и экологическим характеристикам, что послужило основанием для её разделения на два племени (*natio*): западное (*E. encrasicholus ponticus occidentalis*) и восточное (*E. encrasicholus ponticus orientalis*). Западное племя населяет западную часть Чёрного моря. Его зимовка происходит у Южного берега Крыма, а также, предположительно, у западного побережья. Основная часть особей размножается в северо-западном районе, остальная распространяется для нереста по всей западной половине моря. Восточное племя населяет восточную половину Чёрного моря; нерест происходит на всей её акватории. От западной хамсы представители восточного племени отличаются более ранними сроками начала миграции на зимовку, происходящую у берегов Грузии, а также более ранними сроками начала и окончания нереста.

Азовская хамса нагуливается и нерестится в Азовском море в летнее время, а осенью уходит на зимовку в Чёрное море, к берегам Крыма и Кавказа. У южного побережья Крыма места её зимовки распространяются до Алупки — Симеиза, у кавказского — до Грузии. Когда вода весной прогревается, хамса мигрирует в обратном направлении (в Азовское море). Вместе с тем, по свидетельству К. А. Виноградова [7], А. А. Майорова считала, что часть азовской хамсы после зимовки у южного побережья Крыма не возвращается в Азовское море, а следует в северо-западную часть Чёрного моря.

Н. Н. Данилевский и Г. Г. Камбуров [8] изучали внутривидовую неоднородность и распределение хамсы в Азово-Черноморском бассейне с помощью овоцито- и паразитологических методов. Уникальность исследований состоит в том, что впервые был охвачен весь годовой жизненный цикл данного вида. Для различения внутривидовых группировок (стад, по терминологии авторов) в качестве биомаркеров использовались личинки нематоды *Contraecaecum aduncum* и метацеркарии трематоды *Nematobothrium* sp. — паразиты, наименее подверженные влиянию внешней среды при миграции хамсы из опреснённых вод Чёрного и Азовского морей в солонowodные районы Чёрного моря и обратно. В мае 1967 г. в опреснённых районах северо-западной части Чёрного моря (Тендровский и Каркинитский заливы, Днестровский лиман) учёные обнаружили хамсу, заражённость которой не отличалась от заражённости азовского анчоуса. В августе близкая по степени заражённости хамса была обнаружена и у побережья Румынии (мыс Сфынтул-Георге). На этом основании был сделан вывод о существовании единой популяции, область распространения которой простирается от Каркинитского залива вдоль всего северо-западного и западного побережья Чёрного моря до 45° с. ш. (южнее мыса Сфынтул-Георге исследования не проводили). В это же время хамса, близкая по степени заражённости к азовской, была обнаружена и у побережья Грузии (г. Гудаута). В декабре того же года (1967) у Южного берега Крыма (вблизи Ялты) регистрировали хамсу, заражённость которой

личинками *S. aduncum* была близка к заражённости хамсы из прибрежного опреснённого северо-западного района Чёрного моря и из Азовского моря, а её жирность была идентична жирности хамсы из северо-западного региона. Из этого был сделан вывод, что у Южного берега Крыма зимовала хамса из северо-западной части Чёрного моря.

По результатам этих исследований в пределах Азово-Черноморского бассейна авторы выделили четыре стада хамсы. Два стада — восточное и западное — населяют открытые солоноводные области Чёрного моря и характеризуются высоким уровнем инвазии обоими видами паразитов. Другие два стада приурочены к прибрежным опреснённым водам и характеризуются более низким уровнем заражённости. Одно из них населяет северо-западный регион Чёрного моря, другое — Азовское море и прибрежные воды вдоль кавказского побережья. Результаты паразитологического анализа хорошо согласуются, в частности, с вышеприведёнными представлениями А. А. Майоровой относительно пространственной организации хамсы черноморской расы и деления её на два племени и одновременно подтверждают её правоту по поводу проникновения азовской хамсы в северо-западную часть Чёрного моря.

Н. Н. Данилевский и А. А. Майорова [9] выделяют в Чёрном и Азовском морях две популяции хамсы (терминология авторов), которые размножаются в воде с разной солёностью: одна — при 10–15‰, другая — при 17–20‰. К первой популяции исследователи относят хамсу из Азовского моря, а также из опреснённых прибрежных районов северо-западной и восточной частей Чёрного моря, а ко второй — хамсу, размножающуюся в открытых районах Чёрного моря, которую они называют типично черноморской. Как можно видеть, это те же две эколого-географические группировки (солоноводная и прибрежная), о которых речь шла в работе Н. Н. Данилевского и Г. Г. Камбурова. Вместе с тем в данной статье приводятся численные значения индекса отолитов хамсы из разных районов Азово-Черноморского бассейна. Индекс отолитов — внутривидовой таксономический признак, применяемый для различения представителей черноморской и азовской рас [33]. С помощью метода расовых исследований [29], используя значения этих индексов, мы рассчитали численное соотношение представителей черноморской и азовской хамсы в каждом из изученных районов (табл. 1). Как видно, во всех районах Чёрного моря и в Азовском море в нерестовый период хамса была таксономически неоднородной и образовывала смешанные совокупности из представителей обеих рас.

Таблица 1. Распределение азовской и черноморской рас хамсы в Азово-Черноморском бассейне в период нереста

Table 1. Distribution of Sea of Azov anchovy and Black Sea anchovy races in the Azov – Black Sea basin during the spawning period

Район	Месяц	Год	Индекс отолитов	Доля, %	
				АА	ЧА
Западная (открытая) часть ЧМ	V–VIII	1960, 1968	$\frac{2,12}{1,8-2,7^{*)}}$	40	60
Восточная (открытая) часть ЧМ	V–VIII	1960	$\frac{2,11}{1,7-2,6}$	45	55
Северо-западный прибрежный район ЧМ	V–VIII	1960, 1968	$\frac{2,04}{1,6-2,5}$	80	20
Восточный прибрежный район ЧМ	V	1968	$\frac{1,97}{1,6-2,3}$	95	5
Азовское море	V–VI	1960	$\frac{2,08}{1,8-2,5}$	60	40

Примечание. *) в знаменателе указаны крайние значения; АА — азовская хамса; ЧА — черноморская хамса

Note. *) – the denominators are extreme values; АА – Sea of Azov anchovy; ЧА – Black Sea anchovy

Как и следовало ожидать, в открытых солоноватых районах Чёрного моря доминировала черноморская раса, составляющая 60 % в западной части моря и 55 % — в восточной. Во всех прибрежных районах Чёрного моря и в Азовском море численно преобладала азовская хамса (от 60 % в Азовском море до 95 % у побережья Грузии). Присутствие в массовом количестве азовской хамсы у кавказского побережья в нерестовый сезон может служить, по нашему мнению, убедительным доказательством того, что она постоянно обитает в этом регионе. Похоже, что А. И. Александров был прав в своём утверждении относительно размножения азовской хамсы в восточной части Чёрного моря.

В 1960-е гг. впервые были выполнены иммуногенетические исследования хамсы Чёрного и Азовского морей, основанные на изучении распределения в природных группировках частот разных групп крови. Проводил их Ю. П. Алтухов со своими учениками и последователями. В результате были обнаружены значительные генетические отличия между азовской и черноморской расами, а также установлена генетическая гетерогенность азовской расы, её дифференцировка на полуизолированные группировки более мелкого масштаба [3, 4, 21]. Тем самым различия двух рас анчоуса, выявленные ранее на основании изучения морфологических, биологических и эколого-географических особенностей, были подтверждены с помощью иммуногенетического анализа [2]. Одновременно результаты этих исследований позволили получить новые, более точные сведения о распространении представителей разных рас и об их репродуктивных взаимоотношениях. Впервые был установлен факт присутствия азовской хамсы в северо-западной части Чёрного моря и её размножения там. Доказательством в данном случае послужило обнаружение в Одесском заливе в разгар нерестового сезона (июнь 1964 г.) в составе смешанной совокупности с черноморской хамсой представителей азовской расы. Кроме того, результаты иммунологического анализа позволили не просто доказать миграцию черноморского анчоуса в Азовское море, но и предложить метод расчёта количественного соотношения представителей разных рас в составе смешанных скоплений. Оказалось, что в летние месяцы доля черноморского анчоуса в Азовском море может достигать 40–45 %.

О. В. Калнина и В. В. Калнин [19] на основе анализа распределения частот аллелей полиморфных локусов эстераз (*Idh*, *Est*, *Ldh* и *Aat*) дифференцировали азово-черноморскую хамсу на две расы — черноморскую и азовскую. Были выявлены существенные генетические отличия между ними, установлена их внутренняя гетерогенность. Было также изучено географическое распределение представителей обеих рас. В этом плане особенно интересны факты обнаружения в мае хамсы азовской расы в северо-западной и юго-восточной частях Чёрного моря, что свидетельствует о её размножении в этих регионах. Так, в 1980 г. она была найдена в Одесском заливе и северо-восточнее острова Змеиный. В 1981 г. хамсу азовской расы вновь регистрировали в Одесском и Каркинитском заливах. В юго-восточной части моря, у побережья Грузии, азовскую хамсу обнаружили в мае 1980 г. [17]. При этом в Одесском заливе хамса азовской расы по своим генетическим параметрам (значения аллелей *Est*) отличалась от хамсы из Азовского моря, что дало основание авторам высказать предположение о существовании в северо-западной части Чёрного моря обособленной популяции. Эти же исследователи на основе обнаружения корреляционной связи между частотами аллелей полиморфных локусов *Idh* и *Est* выдвинули и обосновали гипотезу о гибридизации азовской и черноморской рас, а также рассмотрели возможный сценарий изменения внутривидовой структуры вида в будущем.

Ранее предположение о наличии межрасовой гибридизации хамсы было высказано А. К. Чащиным [36] на основании обнаруженных изменений в соотношении групп крови хамсы из Азовского моря, произошедших в 1960–1970-е гг., — значительного увеличения частоты «положительной» группы (A_1) и, соответственно, снижения частот «промежуточной» группы (A_2) и — особенно — специфической, «негативной» (A_0). В более поздних его работах (с использованием наряду с реакцией гемагглютинации метода электрофореза тканевых белков) гипотеза гибридизации азовского и черноморского анчоуса подтвердилась [18, 37, 38]. В 1979–1981 гг. гибридные особи были обнаружены

как в Чёрном море (в западной, северо-западной и восточной частях), так и в Азовском. Процесс межрасовой гибридизации происходит в основном в Чёрном море, в то время как в Азовском главным образом имеет место возвратное скрещивание с гибридами, которые мигрируют туда весной. Были также получены новые данные о миграциях хамсы, проливающие свет на межрасовые репродуктивные взаимоотношения. В частности, особый интерес представляет тот факт, что после зимовки в 1980, 1982 и 1987 гг. в турецких и грузинских водах азовская хамса в составе смешанных скоплений с черноморской мигрировала на нерест в северо-западную часть Чёрного моря [39].

На основе результатов изучения полиморфизма мышечных белков с использованием метода электрофореза И. Доброволов [10] пришел к выводу о существовании в Азово-Черноморском бассейне двух изолированных популяций хамсы — черноморской и азовской. Популяционный уровень различий между ними был им подтверждён в более поздних работах [11, 43, 44]. Так, в 1988 г. он пишет: «Досегание не сме намерили такива различия в миогеновите спектри между черноморската и азовската хамсия, които да подтвърдят подвидовият им статус. Биохимико-генетичният анализ ни подсказва само за наличието на две популации». Основанием для такого вывода послужили соответствующие значения показателей сходства (I), равные 0,9983–0,9985, и генетического расстояния (D) между ними, составляющие 0,0015–0,0017. В 1992 г. учёный пишет: «*The genetic distance between the Black Sea anchovy and Azov anchovy shows that they could be specified as two different populations*» [44]. И совершенно неожиданно в более поздней работе с его участием [45] констатируется подвидовой (расовый) уровень таксономических отличий черноморской и азовской хамсы: «*Thus the data for gene frequencies of polymorphic esterase loci, verify the existence of the anchovy subspecies (races)*». Где же истина?

В то же время исключительно важными для понимания популяционной структуры данного вида представляются сведения о пространственных границах репродуктивного ареала азовской расы. Впервые «хамса с высоким содержанием жира (21–28 %), почти идентичная в генетическом отношении с азовской хамсой» была зарегистрирована у болгарского побережья в 1979 г. [11]. Её повторные обнаружения здесь же (Варна, Каварна) имели место в 1982, 1988, 1994 и 1997 гг. [43, 44]. При этом, что очень важно, в 1982, 1994 и 1997 гг. её регистрировали в летние месяцы (май и июль), то есть в период активного размножения. Это доказывает, что нерестовый ареал азовской хамсы не ограничивается северо-западной областью Чёрного моря и прибрежными водами Румынии, как ранее было установлено Н. Н. Данилевским и Г. Г. Камбуровым [8], а распространяется вдоль западного побережья на юг до 43° с. ш. (возможно, и ещё южнее).

По результатам наших исследований внутривидового состава хамсы с помощью индекса отолиотов (метод Сказкиной) у западного побережья Крыма (район Балаклавы и Севастополя) и в Азовском море в период 2001–2015 гг., в обоих регионах анчоус был представлен черноморской и азовской формами, образующими смешанные скопления, которые сохранялись в течение всего года [14, 15]. При этом количественное соотношение представителей разных форм в обоих регионах в различные годы менялось. Так, в нерестовый период в районе Севастополя доля черноморской хамсы в составе общей совокупности изменялась более чем в 3 раза — от 20 % (2004) до 68 % (2001), а доля азовской — в 2,5 раза — от 32 % (2001) до 80 % (2004). Пятикратные межгодовые изменения доли азовского анчоуса имели место в Азовском море (20 % в 2013 г., 100 % в 2001 и 2003 гг.) (табл. 2). Существование постоянных региональных различий соотношения численности черноморской и азовской хамсы, а также независимый характер их многолетних изменений дают основание рассматривать эти региональные группировки в качестве самостоятельных, устойчиво существующих, независимых образований.

Обобщив доступные нам сведения (собственные и литературные), в которых приводятся фактические данные о распространении черноморской и азовской хамсы в нерестовый период, мы видим, что во всех исследованных географических регионах имеет место их совместное присутствие. Это означает, что их репродуктивные ареалы перекрываются на всём пространстве. Отсюда следует

Таблица 2. Соотношение численности черноморской (ЧА) и азовской (АА) хамсы в период нереста у западного побережья Крыма и в Азовском море в разные годы

Table 2. Ratio of Black Sea anchovy (ЧА) and Sea of Azov anchovy (АА) during the spawning period off the western coast of Crimea and in the Sea of Azov in different years

Год	Чёрное море					Азовское море				
	Регион	Месяц	Индекс отолита	Численность, %		Регион	Месяц	Индекс отолита	Численность, %	
				ЧА	АА				ЧА	АА
2001	Севастополь	VII	2,135	68	32	лиман Молочный	VIII	1,999	–	100
2003	–	–	–	–	–	лиман Молочный	VII	1,998	–	100
2004	Севастополь	V	2,066	20	80	–	–	–	–	–
2006	Севастополь	VI	2,089	45	55	мыс Казантип	VI	2,080	40	60
2008	Севастополь	VI	2,107	55	45	мыс Казантип	–	–	–	–
2010	Севастополь	V	2,114	60	40	мыс Казантип	VII	2,064	31	69
2011	Севастополь	VI, VIII	2,130	65	35	мыс Казантип	VI	2,076	37	63
2012	–	–	–	–	–	мыс Казантип	V, VI	2,086	45	55
2013	Севастополь	V, VI	2,100	50	50	мыс Казантип	VI	2,163	80	20
2014	Севастополь	VI	2,086	44	56	–	–	–	–	–
2015	Севастополь	V	2,126	63	37	–	–	–	–	–

вывод: при наличии общего репродуктивного ареала вкупе с одновременными сроками размножения принадлежность азовской и черноморской хамсы к разным подвидам (географическим расам) исключается. В этой связи уместно вспомнить вполне справедливое сомнение И. И. Пузанова относительно их подвидового статуса. По этому поводу он пишет следующее [31, с. 15]: «...Если азовская и черноморская хамса — подвид *Engraulis encrasicolus*, как мы принимаем сейчас, то они должны иметь определённые ареалы размножения...» Причиной тому послужило сообщение А. И. Александрова [1, с. 42] о размножении азовской хамсы не только в Азовском, но и в Чёрном море. Более того, принимая во внимание вполне определённые морфологические и биологические отличия между ними с одной стороны и отсутствие указаний на существование в Керченском районе популяций, переходных между азовской и черноморской хамсой, с другой, он не исключал их принадлежности даже к разным видам.

На основании вышеизложенных морфологических, биоэкологических и генетико-биохимических различий, а также распространения и внутривидовых репродуктивных взаимоотношений черноморского и азовского анчоуса можно заключить: популяционная структура *E. encrasicolus* в Азово-Черноморском бассейне, согласно классификации популяционных явлений Э. Майра, представляет собой зону интерградации, или гибридную зону, между азовской и черноморской популяциями [25, 26]. Существование достаточно чётко выраженных отличий между ними по ряду морфологических признаков (длина тела, положение спинного плавника, число позвонков, строение отолитов и т. д. [1, 30, 32, 33]), экологических (степень заражённости паразитами, требования к солёности и температуре в нерестовый период [9, 16, 42]), биохимических (содержание докозагексаеновой кислоты в фосфолипидах [40]) и генетических (частота общих генов А-системы крови, качественные антигенные различия по водорастворимым белкам мышц [2]) даёт основание предполагать, что азовская и черноморская хамса в прошлом были полностью разобщены и вступили в контакт лишь вторично, после того как в процессе эволюции между ними возникли данные различия. Из этого следует, что гибридная зона между популяциями азовской и черноморской хамсы представляет собой зону вторичной интерградации.

Рассмотрим эволюционную историю *E. encrasicolus*, палеогеографические и палеоклиматические факторы, под воздействием которых формировалась его популяционная структура в черноморском регионе. Группа анчоусов имеет тропическое происхождение. Подавляющее большинство видов и все роды, за исключением *Engraulis*, населяют тропические моря [31]. Предок *Engraulidae* — *Spaniodon* — встречается в верхнемеловых (более 67 млн лет) отложениях Европы [Boulangier, 1904, цит. по: 1]. Как известно [12, 46], до середины третичного периода (35–30 млн лет назад) на пространстве от Гибралтара на западе до Гималаев и Юго-Восточной Азии на востоке простиралось солёное тропическое море Тетис (табл. 3). В миоцене (23,0–5,3 млн лет назад) в результате крупномасштабных горообразовательных процессов на территории Европы море Тетис сократилось в размерах и разделилось на несколько бассейнов, одним из которых было Сарматское море — изолированный от океана и от Средиземного моря внутренний солоноватоводный бассейн, располагавшийся на территории современного Чёрного, Азовского, Каспийского и Аральского морей. Правда, в самом конце миоцена — начале плиоцена (около 6 млн лет назад) его связь с океаном возобновилась, что привело к образованию полносолёного Меотического моря.

Начиная с плиоцена (5,3 млн лет назад) и вплоть до периода росс-вюрмского межледниковья (150–100 тыс. лет назад) на месте Чёрного моря продолжал существовать изолированный от Средиземноморского бассейна водоём, размеры и очертания которого в разные геологические и климатические эпохи заметно изменялись. Не оставалось неизменным и название: водоём последовательно назывался Понтическим, Чаудинским и Древнеевксинским морем. Его температурные и гидрохимические условия на протяжении всего этого длительного периода отличались относительным постоянством, изменяясь достаточно постепенно в направлении снижения температуры и солёности. При этом солёность воды в восточной части водоёма сохранялась более высокой, чем в западной, — на уровне 10–11 ‰. Всё это время преобладала солоноватоводная фауна — так называемая фауна понтического типа.

Таблица 3. Геохронологическая шкала и геологическая история Чёрного моря [12, 46, 47]
Table 3. Geochronological scale and geological history of the Black Sea [12, 46, 47]

Эра	Период	Эпоха	Начало, лет назад	Бассейн
Кайнозой	Четвертичный (квартер)	Антропоцен	Около 70 (с 1950 года н. э.)	Чёрное море
		Голоцен	11,7 тыс.	
		Плейстоцен	2,6 млн	Новоевксинский Карангатский Древнеевксинский Чаудинский
	Неогеновый	Плиоцен	5,3 млн	Понтический
		Миоцен	23,0 млн	Меотический Сарматский
	Палеогеновый	Олигоцен	33,9 млн	Тетис
		Эоцен	56,0 млн	Тетис
		Палеоцен	66,0 млн	Тетис

Начало нового периода для Чёрного моря связано с рисс-вюрмским межледниковьем, когда после долгой изоляции восточный Понт в результате образования Дарданелл обретает связь со Средиземным морем и океаном. Образуется Карангатский бассейн, условия жизни в котором существенно отличаются от прежних. В результате повышения солёности воды до 25–30‰ происходит количественное и качественное обогащение флоры и фауны за счёт истинно морских видов-вселенцев. Этот морской бассейн существует не более 100 тыс. лет — до наступления вюрмского оледенения (около 20–18 тыс. лет назад), которое сопровождается образованием Новоевксинского озера-моря — сильно распреснённого (менее 10‰) и не имеющего связи со Средиземноморским бассейном. Представители собственно морских видов растений и животных вымирают, на смену им приходят понтические реликты. Просуществовало Новоевксинское озеро-море недолго — лишь около 10 тыс. лет.

Конец последнего ледникового периода и образование проливов Босфор и Дарданеллы (7–5 тыс. лет назад) послужили началом современного этапа в истории Чёрного и Азовского морей (восточный Понт). Изменения климата (потепление) и повышение солёности воды до 17–18‰ постепенно привели к увеличению общего обилия и разнообразия флоры и фауны. Преимущественное развитие получили представители собственно морских теплолюбивых, субтропических и тропических групп организмов. На сегодняшний день средиземноморские мигранты составляют около 80% черноморской фауны.

Резюмируя вышеизложенное, отметим, что со времён палеогена и до настоящего времени котловина Чёрного моря постоянно находилась под водой, что подтверждается палеогеографическими картами Н. Андрусова [5]. С эпохи Сарматского бассейна (23,0 млн лет назад) и до начала голоцена (11,7 тыс. лет назад) подавляющую часть времени (более 90%) восточный Понт был изолирован от Средиземного моря и океана, оставаясь солоноватоводным, миксогенным водоёмом, заселённым представителями понтической флоры и фауны. Лишь дважды в своей истории, в конце миоцена — начале плиоцена (период развития Понтического моря) и в конце четвертичного периода (рисс-вюрмское межледниковье), он соединялся со Средиземным морем.

Наиболее древний представитель рода *Engraulis* — *E. evolans* — известен из эоценовых слоев (более 34 млн лет назад) на территории Северной Италии [Agassiz, 1833–1843, цит. по: 1]. Она в то время была покрыта солёными водами моря Тетис. В черноморском регионе *Clupea encrasicholus* известен из верхнего миоцена (5–6 млн лет назад). Его остатки были найдены в сарматских отложениях на территории Керченского полуострова [Двойченко, 1925, цит. по: 1]. Присутствие *C. encrasicholus* в изолированном от океана Сарматском море свидетельствует о том, что его проникновение туда произошло в более ранние времена, предположительно в палеогене, то есть не позднее 30–35 млн лет назад.

Непрерывный характер существования восточного Понта и его гидрохимический режим, во многом сходный с современным, дают основание полагать, что проникший в Сарматское море *C. encrasicholus* не только успешно там адаптировался, но и продолжил развиваться, находясь в полной изоляции от близкородственных форм. Таким образом, со времён верхнего миоцена, с отделением восточной части древнего Понта от Средиземного моря и океана, образовались две пространственно разобщённые группы анчоусов. Как совершенно справедливо заметил А. И. Александров [1], в верхнем миоцене возникли два центра эволюции *E. encrasicholus*, один из которых оставался связанным с океаном, а другой — с Сарматским бассейном. Дальнейшее развитие анчоусов в этих центрах происходило разными темпами (более быстрыми — в западном, более медленными — в восточном), что в конечном случае привело к образованию более прогрессивных средиземноморских анчоусов и более примитивных азовских. Действительно, по ряду морфологических признаков (положение спинного плавника, степень развития парных плавников, количество позвонков, длина головы) азовский анчоус является наиболее примитивным среди современных представителей этого вида и ближе всего стоит к предковому виду *E. volans*.

Восстанавливая филогенетические отношения европейских анчоусов, А. И. Александров [1] рассматривал черноморскую расу *E. encrasicolus ponticus* как «прогрессивно-изменённую» форму от более примитивной азовской *E. e. maeticus*, представители которой являются реликтом третичного периода. И. И. Пузанов [31] причислял современного черноморского анчоуса к потомкам средиземноморской расы, которые проникли в Чёрное море в конце ледникового периода, тогда как появление в Чёрном море «тождественного с современной азовской расой» анчоуса относил, как и А. И. Александров, к третичному периоду.

Согласно В. Д. Бурдак [6] и Ivanova, Dobrovolov [44], черноморский анчоус вселился в Чёрное море только в четвертичный период, то есть не ранее 150–100 тыс. лет назад. В первом случае [6] в качестве доказательства его относительно недавнего вселения приводится отсутствие между азовским и черноморским анчоусом достоверных серологических различий, которые должны свидетельствовать об их недостаточно полной генетической изоляции. Во втором случае [44] основанием для признания черноморского анчоуса реликтом карангатского времени послужили соответствующие значения показателей сходства (0,9983–0,9985) и генетического расстояния (0,0015–0,0017).

Обобщая приведённые выше данные разных авторов, можно увидеть, что в отношении времени появления в Чёрном море черноморского анчоуса исследователи едины: это произошло в новейшей его (моря) истории, то есть после окончания последнего ледникового периода и образования связи со Средиземным морем через проливы Босфор и Дарданеллы. Исключение составляет версия А. И. Александрова, который рассматривал черноморского анчоуса как новообразование, «прогрессивно-изменённую» форму от азовского. Несостоятельность этой версии убедительно показал И. И. Пузанов [31]. Остаётся дискуссионным вопрос о том, когда в восточный Понт проник *E. encrasicolus* — предок современного азовского анчоуса. Теоретически это могло произойти в те исторические времена, когда восточный Понт имел связь со Средиземным морем и с океаном. Таких возможностей было всего три (последняя, послеледниковая, исключается). В третичном периоде это эоцен — олигоцен (море Тетис) и конец миоцена — начало плиоцена (Меотическое море), а в четвертичном — ресс-вюрмское межледниковье (Карангатский бассейн). Принимая во внимание палеонтологические данные (см. выше), необходимо признать: наиболее вероятно то, что проникновение в Чёрное море предковой формы *E. encrasicolus maeticus* произошло в эоцене — олигоцене, то есть современный азовский анчоус является реликтом третичного периода. Незначительные серологические и генетические различия между черноморским и азовским анчоусом, послужившие показателями относительно непродолжительной (в историческом масштабе) изоляции (100–150 тыс. лет) этих форм, следует рассматривать, по нашему мнению, как следствие интрогрессивной межрасовой гибридизации, которая получила свое развитие в 1960–1970-е гг. в результате зарегулирования стока рек, повлёкшего за собой резкое осолонение Азовского моря за счёт притока более солёных черноморских вод через Керченский пролив.

По мнению В. В. Калнина и О. В. Калниной [17], в сложившихся условиях следует ожидать постепенного разрушения генофонда азовской расы в результате её «генетического поглощения» черноморской. Вместе с тем до настоящего времени азовский и черноморский анчоусы сохраняют свою генетическую и таксономическую идентичность. Это происходит благодаря существованию различного рода механизмов поддержания репродуктивной изоляции между ними. В частности, это экологические механизмы, такие как сезонная (временная) и биотопическая изоляция. Для оценки сезонной изоляции (разобщённости) азовского и черноморского анчоусов было изучено соотношение нерестовых самок (стадии зрелости гонад V, VI–IV и VI–V) обеих форм в репродуктивный период (май — август) у западного побережья Крыма в 2006, 2011 и 2013 гг. [16]. Их внутривидовую принадлежность определяли с помощью индекса отолитов [33]. Установлено, что во всех случаях имел место однонаправленный характер изменения численного соотношения разных форм, их перераспределения: относительное количество самок азовской хамсы сокращалось, а относительное

количество самок черноморской — увеличивалось (табл. 4). Так, в 2006 г. относительная численность азовской хамсы в мае — июне снизилась с 55 до 40 % (в 1,25 раза), в 2011 г. в июне — августе она уменьшилась с 37 до 25 % (в 1,48 раза), в 2013 г. в мае — июне она сократилась с 60 до 40 % (в 1,5 раза). Соответствующее увеличение относительной численности черноморской хамсы составило 1,33; 1,19; 1,50 раза.

Следует полагать, что выявленный характер количественного перераспределения нерестовых самок в репродуктивный сезон не является случайным, а отражает их адаптацию к разным условиям размножения, прежде всего к температуре воды, экологическое значение которой исключительно велико для водных организмов. Будучи более стабильной, чем температура воздуха, температура воды является важнейшим фактором, оказывающим прямое и косвенное воздействие на все процессы жизнедеятельности гидробионтов (особенно на ранних стадиях развития) [20]. Согласно полученным данным, процесс размножения азовского анчоуса начинается раньше и происходит при более низких температурах, чем таковой черноморской хамсы. Из этого следует, что азовская и черноморская хамса являются «температурными расами», одна из которых (азовская) адаптирована к более низкой репродуктивной температуре, а другая (черноморская) — к более высокой. В таком случае разную «репродуктивную» температурную избирательность их представителей следует рассматривать как один из экологических механизмов поддержания их репродуктивной изоляции в условиях перекрытия нерестовых ареалов и наличия гибридизации.

Таблица 4. Сезонные изменения численного соотношения нерестовых самок черноморской (ЧА) и азовской (АА) хамсы у западного побережья Крыма

Table 4. Seasonal changes in the ratio of spawning females of Black Sea anchovy (ЧА) and Sea of Azov anchovy (АА) off the west coast of Crimea

Год	Дата	Индекс отолита	Относительная численность, %		Кол-во исследованных экз.
			ЧА	АА	
2006	27.05	2,087	45	55	35
	30.04	2,120	60	40	20
2011	08.06	2,127	63	37	60
	11.08	2,150	75	25	5
2013	31.05	2,079	40	60	10
	26.06	2,120	60	40	10

Факты биотопической изоляции азовской и черноморской хамсы в репродуктивный период зарегистрированы нами в лимане Молочный (Азовское море) в июле 2001 г. и августе 2003 г. В обоих случаях установлена принадлежность нерестовых особей (стадии зрелости V, VI–IV и VI–V) к азовскому анчоусу; средние значения индекса отолитов составляли 1,99 и 2,00 соответственно (см. табл. 2). Определяющим фактором в выборе азовской хамсой лимана Молочный местом размножения является, по-видимому, низкая солёность воды. Благодаря поступлению в лиман воды из р. Молочная его солёность постоянно ниже, чем таковая Азовского моря.

Закключение. Дано описание современной популяционной структуры европейского анчоуса *Engraulis encrasicolus* L., населяющего Чёрное и Азовское море, и рассмотрены геологические и палеоэкологические факторы её формирования. Выполнен аналитический обзор исследований морфобиологической, биохимической, генетической и экологической изменчивости, а также репродуктивных и пространственных взаимоотношений черноморского и азовского анчоуса. На основе биоэкологических (перекрытие репродуктивных ареалов, одновременные сроки размножения) и генетических (показатели сходства и генетического расстояния) признаков установлен популяционный ранг различий между азовским и черноморским анчоусом. Представлена геологическая история

формирования популяционной структуры *Engraulis encrasicolus*, показано, что современные азовский и черноморский анчоусы в прошлом были пространственно разобщены и вступили в контакт лишь вторично, после того как в процессе эволюции между ними возник ряд различий. Их изоляция произошла в миоцене (23,0–5,3 млн лет назад), когда на месте современного Азово-Черноморского бассейна образовалось изолированное от океана Тетис Сарматское море. В результате возникли две географически обособленные и независимые группы анчоусов — западная и восточная; их дальнейшее развитие происходило разными темпами. Более быстрые темпы эволюции западной группы привели к образованию более прогрессивного черноморского и средиземноморского анчоуса, более низкие темпы эволюции восточной группы — к образованию более примитивного азовского анчоуса. Только в современную эпоху, после окончания последнего ледникового периода и восстановления связи Чёрного моря со Средиземным 7–5 тыс. лет назад, произошёл контакт между азовским и черноморским анчоусом, который сопровождался впоследствии их гибридизацией, что привело к возникновению зоны вторичной интерградации. В условиях интрогрессивной гибридизации в последние десятилетия, связанной с осолонением Азовского моря в результате хозяйственной деятельности человека, генетическая идентичность азовского и черноморского анчоуса сохраняется благодаря существованию экологических механизмов изоляции.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана» (№ гос. регистрации АААА-А18-118020890074-2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Александров А. И. Анчоусы Азовско-Черноморского бассейна, их происхождение и таксономические обозначения // *Труды Керченской научной рыбохозяйственной станции*. 1927. Т. 1, № 2–3. С. 37–99. [Aleksandrov A. I. Anchousy Azovsko-Chernomorskogo basseina, ikh proiskhozhdenie i taksonomicheskie oboznacheniya. *Trudy Kerchenskoi nauchnoi rybokhozyaistvennoi stantsii*, 1927, vol. 1, no. 2–3, pp. 37–99. (in Russ.)]
2. Алтухов Ю. П. *Популяционная генетика рыб*. Москва : Пищевая промышленность, 1974. 247 с. [Altukhov Yu. P. *Populyatsionnaya genetika ryb*. Moscow: Pishchevaya promyshlennost', 1974, 247 p. (in Russ.)]
3. Алтухов Ю. П., Лиманский В. В., Паюсова А. Н., Трувеллер К. А. Иммунологический анализ внутривидовой дифференцировки европейского анчоуса, обитающего в Черном и Азовском морях. Сообщение I. Группы крови анчоуса и возможный механизм контроля. Гетерогенность азовской расы // *Генетика*. 1969. Т. 5, № 4. С. 50–64. [Altukhov Yu. P., Limanskii V. V., Payusova A. N., Truveller K. A. Immunologicheskii analiz vnutrividovoi differentsirovki evropeiskogo anchousa, obitayushchego v Chernom i Azovskom moryakh. Soobshchenie I. Gruppy krovi anchousa i vozmoznyi mekhanizm kontrolya. Geterogenost' azovskoi rasy. *Genetika*, 1969, vol. 5, no. 4, pp. 50–64. (in Russ.)]
4. Алтухов Ю. П., Лиманский В. В., Паюсова А. Н., Трувеллер К. А. Иммунологический анализ внутривидовой дифференцировки европейского анчоуса, обитающего в Черном и Азовском морях. Сообщение II. Элементарные популяции и их место в генетико-популяционной структуре вида // *Генетика*. 1969. Т. 5, № 5. С. 81–94. [Altukhov Yu. P., Limanskii V. V., Payusova A. N., Truveller K. A. Immunologicheskii analiz vnutrividovoi differentsirovki evropeiskogo anchousa, obitayushchego v Chernom i Azovskom moryakh. Soobshchenie II. Elementarnye populyatsii i ikh mesto v genetiko-populyatsionnoi strukture vida. *Genetika*, 1969, vol. 5, no. 5, pp. 81–94. (in Russ.)]
5. Андрусов Н. Палеогеографические карты // *Бюллетень Московского общества испытателей природы*. 1926. Т. 4/24, вып. 3–4. [Andrusov N. Paleogeograficheskie karty. *Byulleten' Moskovskogo obshchestva ispytatelei prirody*, 1926, vol. 4/24, iss. 3–4. (in Russ.)]
6. Бурдак В. Д. О внутривидовых формах некоторых черноморских рыб на основании серологических исследований // *Биологические исследования Чёрного моря и его промысловых ресурсов*. Москва : Пищевая промышленность, 1968. С. 174–178. [Burdak V. D. O vnutrividovykh formakh nekotorykh chernomorskikh ryb na osnovanii

- serologicheskikh issledovaniy. In: *Biologicheskie issledovaniya Chernogo morya i ego promyslovykh resursov*. Moscow: Pishchevaya promyshlennost', 1968, pp. 174–178. (in Russ.)]
7. Виноградов К. А. К биологии северо-западной части Черного моря // *Зоологический журнал*. 1956. Т. 35, вып. 4. С. 492–500. [Vinogradov K. A. K biologii severo-zapadnoi chasti Chernogo morya. *Zoologicheskii zhurnal*, 1956, vol. 35, iss. 4, pp. 492–500. (in Russ.)]
 8. Данилевский Н. Н., Камбуров Г. Г. К изучению распределения анчоусов Азово-Черноморского бассейна при помощи овоцитопаразитологического метода // *Вопросы ихтиологии*. 1969. Т. 9, вып. 6. С. 1118–1125. [Danilevskii N. N., Kamburov G. G. K izucheniyu raspredeleniya anchousov Azovo-Chernomorskogo basseina pri pomoshchi ovotsitoparazitologicheskogo metoda. *Voprosy ikhtiologii*, 1969, vol. 9, iss. 6, pp. 1118–1125. (in Russ.)]
 9. Данилевский Н. Н., Майорова А. А. Анчоус – *Engraulis encrasicolus ponticus* Alex. // *Сырьевые ресурсы Чёрного моря*. Москва : Пищевая промышленность, 1979. С. 25–73. [Danilevskii N. N., Maiorova A. A. Anchous – *Engraulis encrasicolus ponticus* Alex. In: *Syr'evye resursy Chernogo morya*. Moscow: Pishchevaya promyshlennost', 1979, pp. 25–73. (in Russ.)]
 10. Доброволов И. Полиморфизм мышечных протеинов хамсы *Engraulis encrasicolus* (L.) Азово-Черноморского бассейна и Атлантического океана // *Вопросы ихтиологии*. 1978. Т. 18, вып. 3 (110). С. 534–540. [Dobrovolov I. Polymorphism of the muscle proteins of *Engraulis encrasicolus* (L.) from the Azov – Black Sea basin and the Atlantic Ocean. *Voprosy ikhtiologii*, 1978, vol. 18, iss. 3 (110), pp. 534–540. (in Russ.)]
 11. Доброволов И. Биохимични и популационно-генетични изследвания на промышлени видове риби от водите на България и Световния океан моря : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 01.06.18, 01.06.06. София, България : Институт зоологии, 1988. 63 с. [Dobrovolov I. *Biokhimichni i populatsionno-genetichni izsledvaniya na promyshleni vidove ribi ot vodite na B'lgariya i Svetovniya okean morya* : avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk : 01.06.18, 01.06.06. Sofia, Bulgaria: Institut zoologii, 1988, 63 p. (in Russ.)]
 12. Зайцев Ю. П. Введение в экологию Черного моря. Одесса : Эвен, 2006. 224 с. [Zaitsev Yu. P. *Vvedenie v ekologiyu Chernogo morya*. Odessa: Even, 2006, 224 p. (in Russ.)].
 13. Зернов С. А. К вопросу об изучении жизни Чёрного моря // *Записки Императорской Академии наук*. Санкт-Петербург, 1913. Т. 32, № 1. 287 с. [Zernov S. A. K voprosu ob izuchenii zhizni Chernogo morya. *Zapiski Imperatorskoi Akademii nauk*, Sankt-Petersburg, 1913, vol. 32, no. 1, 287 p. (in Russ.)]
 14. Зуев Г. В., Гуцал Д. К., Горалевич К. Г., Бондарев В. А., Мурзин Ю. Л., Новоселова Ю. В. Внутривидовая морфо-экологическая и биологическая изменчивость азово-черноморской хамсы *Engraulis encrasicolus* (Pisces: Engraulidae), зимующей у побережья Крыма // *Морской экологический журнал*. 2011. Т. 10, № 1. С. 5–18. [Zuyev G. V., Gutsal D. K., Goralevich K. G., Bondarev V. A., Murzin Yu. L., Novoselova Yu. V. Intraspecific morphological, ecological and biological variability of Azov-Black Sea anchovy *Engraulis encrasicolus* (Pisces: Engraulidae) wintering at Crimea coastal waters. *Morskoj ekologicheskij zhurnal*, 2011, vol. 10, no. 1, pp. 5–18. (in Russ.)]
 15. Зуев Г. В., Гуцал Д. К., Мельникова Е. Б., Бондарев В. А. К вопросу о внутривидовой неоднородности зимующей у побережья Крыма хамсы // *Рыбное хозяйство Украины*. 2007. № 6 (53). С. 2–9. [Zuyev G. V., Gutsal D. K., Mel'nikova E. B., Bondarev V. A. K voprosu o vnutrividovoi neodnorodnosti zimuyushchei u poberezh'ya Kryma khamsy. *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 2007, no. 6 (53), pp. 2–9. (in Russ.)]
 16. Зуев Г. В., Климова Т. Н. Многолетняя динамика репродуктивных показателей европейского анчоуса *Engraulis encrasicolus* (L. 1758) и их связь с температурными условиями // *Морской биологический журнал*. 2017. Т. 2, № 2. С. 3–19. [Zuyev G. V., Klimova T. N. Long-term dynamic of reproductive performance of European anchovy *Engraulis encrasicolus* Linnaeus, 1758 and its connection with temperature. *Morskoj biologicheskij zhurnal*, 2017, vol. 2, no. 2, pp. 3–19. (in Russ.)] <https://doi.org/10.21072/mbj.2017.02.2.01>
 17. Калнин В. В., Калнина О. В. Генетическая дифференциация и репродуктивные взаимоотношения азовской и черноморской рас европейского анчоуса. Сообщение III. Интрогрессивная гибридизация рас и популяционная структура анчоуса Чёрного моря // *Генетика*. 1985. Т. 21, № 8. С. 1352–1360. [Kalnin V. V., Kalnina O. V. Geneticheskaya differentsiatsiya i reproduktivnyye vzaimootnosheniya azovskoi i chernomorskoi ras

- evropeiskogo anchousa. Soobshchenie III. Introgresivnaya gibridizatsiya ras i populyatsionnaya struktura anchousa Chernogo morya. *Genetika*, 1985, vol. 21, no. 8, pp. 1352–1360. (in Russ.)]
18. Калнин В. В., Калнина О. В., Чащин А. К., Новоселова Г. Н. Популяционная структура анчоуса Азово-Черноморского бассейна в условиях хозяйственной деятельности // *Океанологические рыбохозяйственные исследования Черного моря* : сб. науч. тр. Москва : ВНИРО, 1985. С. 62–70. [Kalnin V. V., Kalnina O. V., Chashchin A. K., Novoselova G. N. Populyatsionnaya struktura anchousa Azovo-Chernomorskogo basseina v usloviyakh khozyaistvennoi deyatel'nosti. In: *Okeanologicheskie rybokhozyaistvennye issledovaniya Chernogo morya* : sb. nauch. tr. Moscow: VNIRO, 1985, pp. 62–70. (in Russ.)]
 19. Калнина О. В., Калнин В. В. Генетическая дифференциация и репродуктивные взаимоотношения азовской и черноморской рас европейского анчоуса. Сообщение II. Генетические отличия и внутренняя гетерогенность Азовской и Черноморской рас анчоуса // *Генетика*. 1984. Т. 20, № 2. С. 309–313. [Kalnina O. V., Kalnin V. V. Geneticheskaya differentsiatsiya i reproduktivnye vzaimootnosheniya azovskoi i chernomorskoi ras evropeiskogo anchousa. Soobshchenie II. Geneticheskie otlichiya i vnutrennyaya geterogennost' Azovskoi i Chernomorskoi ras anchousa. *Genetika*, 1984, vol. 20, no. 2, pp. 309–313. (in Russ.)]
 20. Константинов А. С. *Общая гидробиология*. Москва : Высшая школа, 1986. 472 с. [Konstantinov A. S. *Obshchaya gidrobiologiya*. Moscow: Vysshaya shkola, 1986, 472 p. (in Russ.)]
 21. Лиманский В. В., Паюсова А. Н. Об иммуногенетических отличиях элементарных популяций анчоуса // *Генетика*. 1969. Т. 5, № 6. С. 109–118. [Limanskii V. V., Payusova A. N. Ob immunogeneticheskikh otlichiyakh elementarnykh populyatsii anchousa. *Genetika*, 1969, vol. 5, no. 6, pp. 109–118. (in Russ.)]
 22. Майорова А. А. Таксономическое положение хамсы, ловимой у берегов Грузии // *Труды научной рыбохозяйственной и биологической станции Грузии*. 1934. Т. 1, вып. 1. С. 7–20. [Maiorova A. A. Taksonomicheskoe polozhenie khamsy, lovimoi u beregov Gruzii. *Trudy nauchnoi rybokhozyaistvennoi i biologicheskoi stantsii Gruzii*, 1934, vol. 1, iss. 1, pp. 7–20. (in Russ.)]
 23. Майорова А. А. Распределение и промысел черноморской хамсы (предварительное сообщение) // *Труды Азово-Черноморского научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии*. 1950. Вып. 14. С. 11–34. [Maiorova A. A. Raspredelenie i promysel chernomorskoi khamsy (predvaritel'noe soobshchenie). *Trudy Azovo-Chernomorskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta morskogo rybnogo khozyaistva i okeanografii*, 1950, iss. 14, pp. 11–34. (in Russ.)]
 24. Майорова А. А., Чугунова Н. И. Биологическое распределение и оценка запаса черноморской хамсы // *Труды Всесоюзного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии*. 1954. Т. 28. С. 5–33. [Maiorova A. A., Chugunova N. I. Biologicheskoe raspredelenie i otsenka zapasa chernomorskoi khamsy. *Trudy Vsesoyuznogo nauchno-issledovatel'skogo instituta morskogo rybnogo khozyaistva i okeanografii*, 1954, vol. 28, pp. 5–33. (in Russ.)]
 25. Майр Э. *Принципы зоологической систематики*. Москва : «Мир», 1971. 454 с. [Mair E. *Printsipy zoologicheskoi sistematiki*. Moscow: "Mir", 1971, 454 p. (in Russ.)]
 26. Майр Э. *Популяции, виды и эволюция*. Москва : «Мир», 1974. 460 с. [Mair E. *Populyatsii, vidy i evolyutsiya*. Moscow: "Mir", 1974, 460 p. (in Russ.)]
 27. Максимов Н. Е. Образ жизни промысловых рыб и их лов у берегов Болгарии и Румынии в западной части Черного моря // *Ежегодник Зоологического музея Императорской академии наук*. 1913. Т. 18, № 1. С. 1–52. [Maksimov N. E. Obraz zhizni promyslovykh ryb i ikh lov u beregov Bolgarii i Rumynii v zapadnoi chasti Chernogo morya. *Ezhegodnik Zoologicheskogo muzeya Imperatorskoi akademii nauk*, 1913, vol. 18, no. 1, pp. 1–52. (in Russ.)]
 28. Малацкий С. М. К вопросу о миграциях некоторых рыб Черного моря // *Труды научной рыбохозяйственной и биологической станции Грузии*. 1934. Т. 1, вып. 1. С. 211–236. [Malyatskii S. M. K voprosu o migratsiyakh nekotorykh ryb Chernogo morya. *Trudy nauchnoi rybokhozyaistvennoi i biologicheskoi stantsii Gruzii*, 1934, vol. 1, iss. 1, pp. 211–236. (in Russ.)]
 29. Морозов А. В. *К методике расовых исследований рыб вообще и вольты в частности*. Саратов : ОГИЗ, 1932. 75 с. (Труды Волго-Каспийской рыбохозяйственной станции). [Morozov A. V.

- K metodike rasovykh issledovaniy ryb voobshche i vobly v chastnosti.* Saratov: OGIz, 1932, 75 p. (Trudy Volgo-Kaspiiskoi rybokhozyaistvennoi stantsii). (in Russ.)]
30. Пузанов И.И. Материалы по промысловой ихтиологии Крыма // *Рыбное хозяйство.* 1923. Кн. 2. С. 10–16. [Puzanov I.I. Materialy po promyslovoi ikhtiologii Kryma. *Rybnoe khozyaistvo*, 1923, book 2, pp. 10–16. (in Russ.)]
 31. Пузанов И.И. Анчоус. Опыт научно-промысловой монографии // *Ученые записки Горьковского государственного университета.* 1936. Вып. 5. С. 3–64. (Отд. отт.). [Puzanov I.I. Anchous. Opyt nauchno-promyslovoi monografii. *Uchenye zapiski Gor'kovskogo gosudarstvennogo universiteta*, 1936, iss. 5, pp. 3–64. (Imprint). (in Russ.)]
 32. Пузанов И.И., Цеб Я.Я. О расах анчоуса, водящихся в Черном и Азовском морях // *Труды Крымского научно-исследовательского института.* 1926. Т. 1. С. 86–95. [Puzanov I.I., Tseeb Ya. Ya. O rasakh anchousa, vodyashchikhsya v Chernom i Azovskom moryakh. *Trudy Krymskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta*, 1926, vol. 1, pp. 86–95. (in Russ.)]
 33. Сказкина Е.П. Различие азовской и черноморской хамсы *Engraulis encrasicolus maeoticus* Pusanov, *Engraulis encrasicolus ponticus* Aleks. по отолитам // *Вопросы ихтиологии.* 1965. Т. 5, вып. 4 (37). С. 600–605. [Skazkina E.P. Identification of the Azov Sea anchovy (*Engraulis encrasicolus maeoticus*) and the Black Sea anchovy (*Engraulis encrasicolus ponticus*). *Voprosy ikhtiologii*, 1965, vol. 5, iss. 4 (37), pp. 600–605. (in Russ.)]
 34. Тихий М.И. Несколько слов об анчоусе // *Вестник рыбной промышленности.* 1914. Т. 1. С. 50–68. [Tikhii M.I. Neskol'ko slov ob anchouse. *Vestnik rybopromyshlennosti*, 1914, vol. 1, pp. 50–68. (in Russ.)]
 35. Тихий М.И. Анчоус Херсонеса Таврического // *Вестник рыбной промышленности.* 1917. № 1–3. С. 1–41. [Tikhii M.I. Anchous Khersonesa Tavricheskogo. *Vestnik rybopromyshlennosti*, 1917, no. 1–3, pp. 1–41. (in Russ.)]
 36. Чащин А.К. Соотношение групп крови в популяциях анчоуса Азово-Черноморского бассейна // *V Всесоюзная конференция по экологической физиологии и биохимии рыб* : тез. докл. Киев : Наукова думка, 1982. Ч. 4. 32 с. [Chashchin A.K. Sootnoshenie grupp krovi v populyatsiyakh anchousa Azovo-Chernomorskogo basseina. In: *V Vsesoyuznaya konferentsiya po ekologicheskoi fiziologii i biokhimii ryb* : tez. dokl. Kiev: Naukova dumka, 1982, pt. 2, 32 p. (in Russ.)]
 37. Чащин А.К. Об изменении популяционной структуры анчоуса *Engraulis encrasicolus* (L.) Азово-Черноморского бассейна // *Вопросы ихтиологии.* 1985. Т. 25, вып. 4. С. 583–589. [Chashchin A.K. On changes in the population structure of the anchovy *Engraulis encrasicolus* (L.) from the Azov-Black Sea basin. *Voprosy ikhtiologii*, 1985, vol. 25, iss. 4, pp. 583–589. (in Russ.)]
 38. Чащин А.К. *Дифференциация промысловых стад анчоуса, оценка их запасов и перспективы использования в Чёрном море* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.10. Москва, 1990. 20 с. [Chashchin A.K. *Differentsiatsiya promyslovykh stad anchousa, otsenka ikh zapasov i perspektivy ispol'zovaniya v Chernom more* : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.00.10. Moscow, 1990. 20 p. (in Russ.)]
 39. Чащин А.К., Акселев О.И. Миграции скопленных и доступности черноморской хамсы для промысла в осенне-зимний период // *Биологические ресурсы Чёрного моря* : сб. науч. тр. Москва : ВНИРО, 1990. С. 80–92. [Chashchin A.K., Akselev O.I. Migratsii skoplenii i dostupnosti chernomorskoï khamsy dlya promysla v osenne-zimnii period. In: *Biologicheskie resursy Chernogo morya* : sb. nauch. tr. Moscow: VNIRO, 1990, pp. 80–92. (in Russ.)]
 40. Юнева Т.В., Забелинский С.А., Никольский В.Н., Щепкина А.М., Бат Л., Кая Я., Сейхан К., Шульман Г.Е. Идентификация азовской и черноморской хамсы в Черном море у берегов Украины и Турции в промысловый период 2006–2012 гг. на основе содержания в фосфолипидах декозагексаеновой кислоты // *Морской экологический журнал.* 2014. Т. 13, № 2. С. 82–89. [Yuneva T.V., Zabelinskii S.A., Nikol'skii V.N., Shchepkina A.M., Bat L., Kaya Ya., Seikhan K., Shul'man G.E. Identification of the Azov and Black Sea anchovy in the Black Sea off the coast of Ukraine and Turkey during fishing period 2006–2012 years based on the content of docosahexaenoic fatty acid in phospholipids. *Morskoj ekologicheskij zhurnal*, 2014, vol. 13, no. 2, pp. 82–89. (in Russ.)]
 41. *Black Sea assessments* (STECF-15-16). (Oct. 2015). Cardinale M., Damalas D. (Eds). Luxemburg, 2015, 278 p. (Sci., Techn. and Econom. Comm. for Fish. STECF).

42. Chashin A. K. The Black Sea population of anchovy. *Scientia Marina*, 1996, vol. 60, suppl. 2, pp. 219–225.
43. Dobrovolov I. Study of the intraspecific divergence of anchovy *Engraulis encrasicolus* L. *Доклады Болгарской академии наук*, 1992, vol. 42, no. 2, pp. 63–65.
44. Ivanova P. P., Dobrovolov I. Population-genetic structure on European anchovy (*Engraulis encrasicolus* Linnaeus, 1758) (Osteichthyes: Engraulidae) from Mediterranean Basin and Atlantic Ocean. *Acta Adriatica*, 2006, vol. 47, no. 1, pp. 13–22.
45. Ivanova P. P., Dobrovolov I. S., Bat L., Kideys A. E., Nikolsky V. N., Yuneva T. V., Shchepkina F. M., Shulman G. E. Application of esterase polymorphism to specify population genetic structure of *Engraulis encrasicolus* (Pisces: Engraulidae) in the Black and Azov Seas. *Marine Ecological Journal*, 2013, vol. 12, no. 4, pp. 45–52.
46. *International Commission on Stratigraphy* [Electronic resource]. URL: <http://www.stratigraphy.org/ICSchart/ChronostratChart2017-02.pdf> [accessed 04.04.2018].
47. Zaitsev Y., Mamaev V. *Marine biological diversity in the Black Sea. A study of change and decline*. New York: United Nations Publications, 1997, vol. 15, 208 p.

**CURRENT POPULATION STRUCTURE
OF EUROPEAN ANCHOVY *ENGRAULIS ENCRASICOLUS* L. (ENGRAULIDAE: PISCES)
IN THE SEA OF AZOV – BLACK SEA BASIN
AND HISTORY OF ITS FORMATION**

G. V. Zuyev

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: zuev-ger@yandex.ru

European anchovy *Engraulis encrasicolus* L. is one of the most abundant fish species in the Sea of Azov – Black Sea basin. Historically it is the main commercial fish in all Black Sea countries. In modern conditions, the share of anchovy catches totals 80–85 %. In recent years (since 2001) the average annual catch was 250 tones. *E. encrasicolus* is a polytypic species. In the Black Sea and in the Sea of Azov there are two intraspecific forms – Black Sea anchovy (*E. encrasicolus ponticus* Alex.) and Sea of Azov anchovy (*E. encrasicolus maeoticus* Pusanov), and their taxonomic status is still unclear. An actual task is the assessment of the current population structure of *E. encrasicolus* and its possible changes under the influence of climatic and anthropogenic factors in order to develop the necessary measures to prevent negative impacts and to preserve the resource potential of the species. This work focuses on the study of European anchovy modern population structure in the Black Sea and the Sea of Azov, the geological and paleoclimatic conditions of its formation and assessment of possible changes taking into account real natural and anthropogenic risk factors. The work is based on the research results of intraspecific morphobiological, biochemical, genetic and ecological variability of *E. encrasicolus*, as well as spatial and reproductive relationships between Sea of Azov anchovy and Black Sea anchovy. Investigations concerned with the study of intraspecific heterogeneity problem of *E. encrasicolus* in the Black Sea and in the Sea of Azov were reviewed. Data obtained by domestic and foreign authors for a 100-year period (1913–2014) were analyzed; the list of publications includes more than 40 titles. Our own research results were also used in the work. The information about reproductive area boundaries of Sea of Azov anchovy and Black Sea anchovy was systematized and summarized. Their reproductive areas were found to be distributed over the entire water area of the Black Sea and the Sea of Azov and overlapped over the whole space. The absence of spatially separate reproductive areas and the presence of simultaneous spawning exclude belonging of Black Sea anchovy and Sea of Azov anchovy to different subspecies (geographical races). Population level of the differences between Black Sea anchovy and Sea of Azov anchovy was confirmed by the results of genetic and biochemical studies: the coefficients of genetic similarity and genetic distance between them were 0.9983–0.9985 and 0.0015–0.0017, respectively. Geological history of population structure formation of *Engraulis encrasicolus* was presented. Modern Sea of Azov anchovy and Black Sea anchovy in the past were spatially separated and came into contact again only after appearance of a number of differences between them in the course of evolution. Their isolation occurred in the newly formed Sarmatian Sea isolated from the Tethyan Ocean in the Miocene (23.0–5.3 million years ago). As a result, two geographically isolated and independent anchovy groups (western and eastern) appeared. Further development of these groups occurred at different rates. Faster rates of evolution of the western group led to the formation

of more progressive Black Sea anchovy and Mediterranean anchovy, lower rates of evolution of the eastern group led to the formation of more primitive Sea of Azov anchovy. Only in the modern era, after the last glacial period had ended and the connection of the Black Sea with the Mediterranean Sea had been reconstituted (7–5 thousand years ago) Sea of Azov anchovy and Black Sea anchovy contacted, the process was followed by their subsequent hybridization, *i. e.* by the appearance of the zone of secondary intergradation. There is a real threat of Sea of Azov anchovy genofund destruction and its “genetic absorption” by Black Sea anchovy in conditions of introgressive hybridization in recent decades associated with salinity increase of the Sea of Azov caused by human economic activity. Nevertheless, the genetic uniqueness of Sea of Azov anchovy persists to the present, first of all, due to ecological isolation mechanisms – seasonal isolation (timing) and biotope isolation (site selection) during the reproductive period. A certain pattern of redistribution in the spawning population composition of Sea of Azov anchovy and Black Sea anchovy females was identified: the share of Sea of Azov anchovy females decreased while the share of Black Sea anchovy females increased. Thus, Sea of Azov anchovy and Black Sea anchovy populations are the “temperature” races adapted to different reproductive temperature conditions: Sea of Azov anchovy – to lower temperature conditions, Black Sea anchovy – to higher ones. In addition to seasonal isolation, the biotopic isolation of Black Sea anchovy and Sea of Azov anchovy was found. Black Sea anchovy prefers to spawn in open areas of the Black Sea with water salinity above 16‰: its share is here 55–60 %, whereas in the coastal waters its share does not exceed 5–40 %. Sea of Azov anchovy, on the contrary, in spawning period prevails in the coastal freshened waters with salinity below 15‰, with its share here reaching 60–90 %.

Keywords: European anchovy, population structure, hybridization, zone of secondary intergradation, glacial period, isolation mechanisms



УДК 597.2/5:574.583(262.5)

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИХТИОПЛАНКТОНА У КРЫМСКОГО ПОЛУОСТРОВА В ЛЕТНИЙ СЕЗОН 2013 г.

© 2019 г. Т. Н. Климова¹, А. А. Субботин¹,
В. В. Мельников², А. Н. Серебренников², П. С. Подрезова¹

¹Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

²Институт природно-технических систем, Севастополь, Россия

E-mail: tnklim@mail.ru

Поступила в редакцию 23.04.2018; после доработки 19.07.2018;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Проанализированы данные, полученные в пяти комплексных экспедициях НИС «Профессор Водяницкий», которые были проведены с мая по сентябрь 2013 г., в летний нерестовый сезон. Представлена динамика видового разнообразия и пространственного распределения ихтиопланктона в связи с особенностями гидрологического режима в различных районах шельфовых и открытых вод Чёрного моря у Крымского полуострова. В ихтиопланктоне идентифицированы 17 видов икринок и личинок рыб из 13 семейств. Количество видов в ихтиопланктоне было максимальным в июне. Средняя численность икринок и личинок за нерестовый сезон составляла 50,5 и 9,2 экз.·м⁻² соответственно. Наибольшая численность икринок (109,9 экз.·м⁻²) и личинок (9,2 экз.·м⁻²) наблюдалась в июле. Преобладали икринки и личинки хамсы *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758): их доля в открытых водах в разгар нерестового сезона достигала 96 и 94 % соответственно. Максимальные показатели индексов видового разнообразия и выровненности (значимости каждого вида) наблюдались в мае, когда доминантные виды только начинали нерест и их численность в ихтиопланктоне была сравнительно низкой. Индексы видового богатства достигали наибольших величин в июне, когда количество видов в ихтиопланктоне было максимальным. Видовой состав и пространственное распределение ихтиопланктона зависели от термогидродинамической структуры морских вод в районах исследований, а выживанию личинок рыб способствовало снижение прессинга желетелого планктона на их кормовую базу. Наиболее значимыми факторами, определяющими термогидродинамическую структуру моря в летний нерестовый сезон 2013 г., являлись: региональные особенности режима прогрева поверхности моря в весенне-летний период и его выхолаживания в осенний гидрологический сезон; адвективный вклад поверхностных течений (прежде всего Основного черноморского течения); сгонно-нагонные процессы в прибрежных районах; локальные термохалинные неоднородности в областях смешения распреснённых речных вод с шельфовыми в северо-западной части моря и азовоморских вод в Керченском предпроливье — с водами открытого моря.

Ключевые слова: ихтиопланктон, икринки и личинки рыб, видовое разнообразие, пространственное распределение, гидрологический режим, циклонические и антициклонические вихри, апвеллинг, Чёрное море

Изучение видового разнообразия, численности, выживания и пространственного распределения ихтиопланктона в период нерестового сезона позволяет получить данные о видовом составе и нерестовой активности природных популяций рыб, а также оценить экологическое состояние исследуемой акватории в период их эмбрионального и постэмбрионального развития. Большинство видов ихтиофауны Чёрного моря относятся к тепловодным (южно-бореальные, субтропические, тропические), их размножение происходит в летний нерестовый сезон.

Ихтиопланктонные исследования ведутся в Чёрном море с начала XX века [3], однако вплоть до 1980-х гг. они в основном носили узкорегionalный и случайный характер. В отличие от предыдущих исследований, ихтиопланктонные съёмки, проведённые в Чёрном море в летний нерестовый сезон с 1987 по 1992 г., выполнялись в рамках комплексных океанографических экспедиций с использованием СТД-зондов с высоким пространственным разрешением в режимах вертикальных зондирований и буксировок, с применением новейших для своего времени акустических методов и с учётом актуальных данных спутниковой информации в ИК- и видимом диапазонах [18]. Такой подход позволил оценить влияние некоторых абиотических факторов на особенности пространственного и вертикального распределения икринок и личинок в период нереста теплолюбивых видов рыб. Была обнаружена тесная зависимость начала и интенсивности нереста теплолюбивых видов рыб от термогидродинамических условий. Если начало нереста лимитировал прогрев поверхностного слоя моря (далее — ПСМ) выше 16 °С, то выживание рыб на ранних этапах развития зависело от гидродинамических факторов, обуславливающих формирование устойчивых зон оптимального теплозапаса и кормовой базы личинок рыб. Так, максимальные концентрации ихтиопланктона обнаружены в пределах верхнего квазиоднородного слоя (далее — ВКС) в устойчивых конвергентных зонах на внешней границе Основного черноморского течения (далее — ОЧТ) и в квазистационарных антициклонических вихрях (далее — АЦВ) синоптических масштабов. Локальные скопления ихтиопланктона, с концентрациями, в несколько раз превышающими фоновые, были приурочены к зонам конвергенции на границах мезомасштабных циклонических вихрей и к фронтальным зонам на мористых границах прибрежных апвеллингов (далее — ПА). Время жизни таких локальных скоплений определялось периодом существования конкретных динамических структур [18, 24].

Комплексные экспедиционные исследования в летний нерестовый сезон у Крымского полуострова были возобновлены только в 2010 г. К сожалению, как в 1987–1992, так и в 2010–2011 гг. они не охватывали летний нерестовый сезон полностью и носили случайный характер. Мониторинговые планктонные исследования в период нереста массовых видов рыб регулярно проводятся только в прибрежных акваториях моря [8, 9, 12, 13, 15, 18, 25, 28].

Анализ характеристик гидрологического режима Чёрного моря почти за вековой период наблюдений (с 1920 по 2015 г.) показал, что два этапа наиболее масштабных ихтиопланктонных исследований (1987–1992 гг. и современный) соответствуют разным фазам многолетней изменчивости термической структуры вод. На фоне долгопериодных колебаний теплозапаса в деятельном слое моря выделяются два периода — холодный (с начала 1980-х до конца 1990-х гг.) и тёплый (с конца 1990-х гг.). Первый отличается пониженными среднегодовыми аномалиями теплозапаса, а второй (современный) — повышенными. На этом фоне многолетние колебания солёности характеризуются среднегодовыми пониженными аномалиями солёности с начала 1980-х гг., однако с 2011 г. отмечаются признаки завершения «пресной» фазы и перехода к стабильному повышению солёности поверхностных вод [1].

Основной причиной изменения режимных характеристик вод Чёрного моря (прежде всего прибрежных) является глобальное потепление [1]. Для Чёрного моря этот процесс связан с изменением параметров атмосферной циркуляции — со сменой субширотного переноса атмосферных процессов субмеридианальным, с увеличением количества атмосферных осадков в юго-восточной части моря, с увеличением стока рек. Глобальное потепление наиболее ощутимо проявляется в повышении температуры поверхностных вод и в снижении количества и интенсивности сгонно-нагонных процессов по сравнению со среднемноголетними данными [2, 4, 5]. Очевидно, что изменения в термическом режиме и динамике прибрежных вод, происходящие в настоящее время, отразились на фенологии нереста и на пространственном распределении ихтиопланктона.

Комплексные экспедиционные исследования, проведённые в пяти рейсах НИС «Профессор Водяницкий» с мая по сентябрь 2013 г., позволили впервые проанализировать динамику видового состава и пространственного распределения ихтиопланктона в зависимости от гидрологического

режима в течение всего летнего нерестового сезона как в шельфовых, так и в открытых водах у Крымского полуострова от Каркинитского залива до Керченской предпроливной акватории на фоне климатического глобального потепления.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В статье проанализирован материал, собранный в летний нерестовый сезон (май — сентябрь) в 72, 73, 74, 75 и 76-м рейсах НИС «Профессор Водяницкий» как на шельфе Крымского полуострова от Керченского пролива до Каркинитского залива, так и в глубоководных районах над континентальным склоном. При сборе ихтиопланктона использовали сети Богорова — Расса (далее — БР) (диаметр наружного круга — 80 см, ячея газа — 400 микрон) и Джеди (диаметр наружного круга — 36 см, ячея сита — 112 и 150 микрон). Ихтиопланктон собирали в режиме вертикальных ловов. В экспедициях с борта НИС «Профессор Водяницкий» облавливали слой от дна до поверхности на мелководных станциях и слой 0–50 и 0–100 м — на глубоководных. Ихтиопланктон фиксировали 4%-ным формальдегидом и обрабатывали в стационарных условиях в течение месяца после сбора. Численность ихтиопланктона в вертикальных ловах дана в экз. · м⁻². Идентификацию икринок и личинок рыб проводили по [9]. Видовые названия даны по [26]. Статистический анализ средних величин численности икры и личинок рыб (стандартное отклонение и доверительный интервал) выполнен в программе Microsoft Excel 2007.

Для анализа состояния ихтиопланктонных комплексов в летний нерестовый период рассчитаны показатели индексов разнообразия:

- видового разнообразия [33]

$$\bar{H} = \sum p_i \log_2 p_i,$$

где p_i — удельная численность каждого вида;

- видового богатства [36]

$$D = \frac{S - 1}{\log N},$$

где S — число видов, N — число особей;

- доминирования [30]

$$C = \sum \left(\frac{n_i}{N} \right)^2,$$

где N — число особей, n_i — численность особей каждого вида;

- выровненности [32]

$$e = \frac{\bar{H}}{\log S},$$

где \bar{H} — индекс видового разнообразия, S — число видов.

Для анализа термического режима и структуры поверхностных течений на различных этапах выполнения ихтиопланктонных съёмок в 72–76-ом рейсах использовали данные вертикальных зондирований СТД-зондами различных модификаций: Neil Brown Mark III, Sea Bird STD plus, «Сальпа». Дополнительно изучали материалы спутниковых наблюдений за температурой поверхности моря (далее — ТПМ) и сопутствующие по времени результаты гидрофизических наблюдений в некоторых прибрежных районах Крыма (Карадаг, б. Ласпи, Севастопольское взморье) [27].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В летний нерестовый сезон 2013 г. в ихтиопланктоне идентифицировали 17 видов икринок и личинок рыб из 13 семейств. Икринки и личинки умеренноводных видов шпрота [*Sprattus sprattus* (Linnaeus, 1758)] и мерланга [*Merlangius merlangus* (Linnaeus, 1758)], икринки весенненерестующей

камбалы калкана [*Scophthalmus maeoticus* (Pallas, 1814)] и личинки пелагической иглы-рыбы (*Syngnathus schmidtii* Роров, 1927) встречены только в открытых водах. Пространственное распределение икринок и личинок рыб в мае — сентябре 2013 г. представлено на рис. 1.

В мае 2013 г. ихтиопланктон собирали в 72-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» на шельфе Крымского полуострова от Керченского пролива до Каркинитского залива. Также выполнили разрез через большую топографическую ложбину (далее — БТЛ) до центра западной части моря (рис. 1).

В период ихтиопланктонной съёмки (22–30 мая) циркуляция поверхностных вод в районе исследований определялась активно меандрирующей вдоль континентального склона струей ОЧТ, двумя глубокими циклоническими меандрами (южнее Керченской предпроливной зоны и в северо-западной части моря вдоль западной границы БТЛ), а также тремя АЦВ (северо-западная периферия Кавказского АЦВ, Крымский АЦВ над свалом глубин южнее Судакско-Карадакского взморья и полностью сформировавшийся к этому времени Севастопольский АЦВ) (рис. 2).

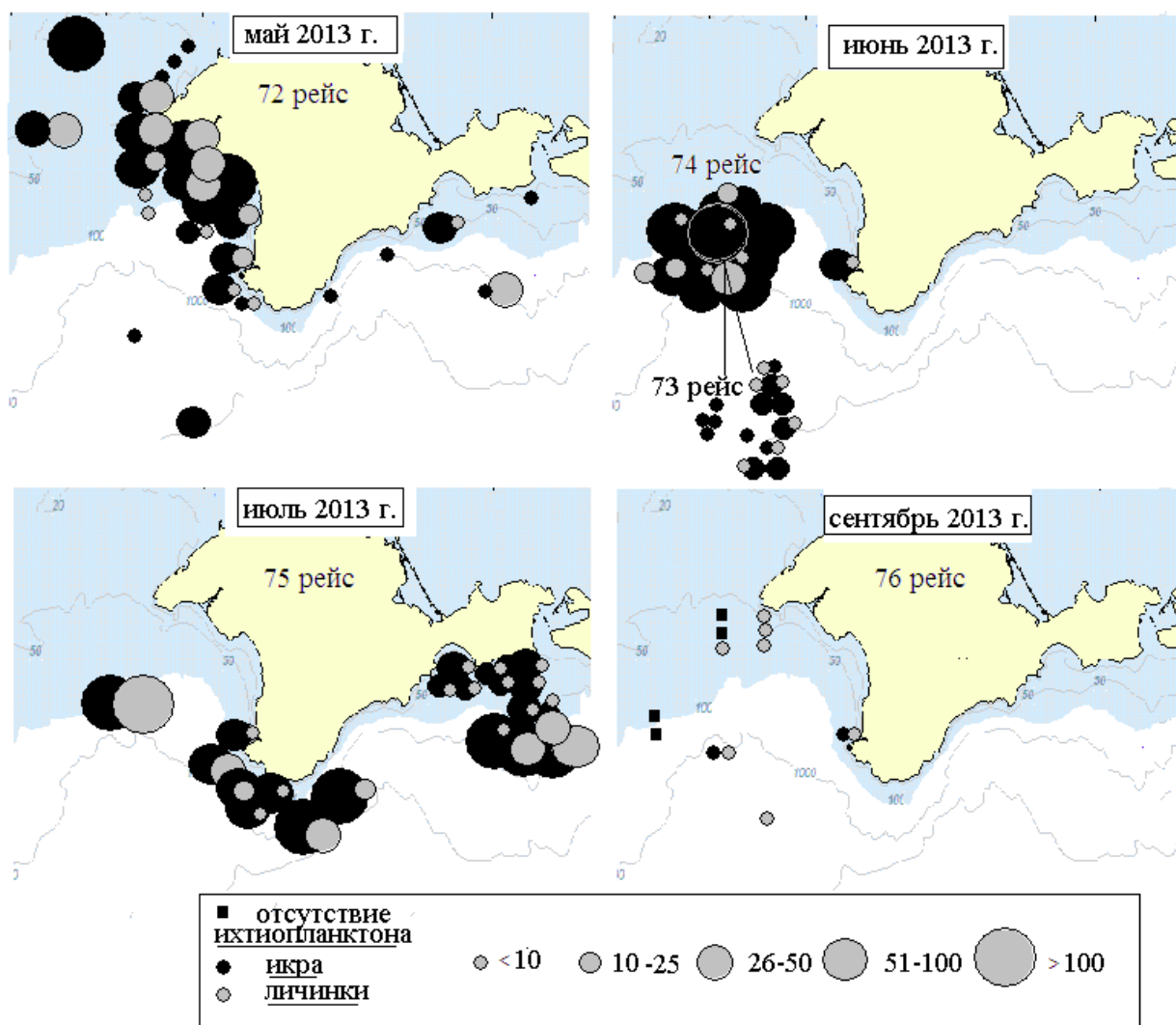


Рис. 1. Карта-схема пространственного распределения (экз.·м⁻²) икринок и личинок рыб в летний нерестовый сезон 2013 г.

Fig. 1. Schematic map of spatial distribution (ind. per m²) of fish eggs and larvae in the summer spawning season 2013

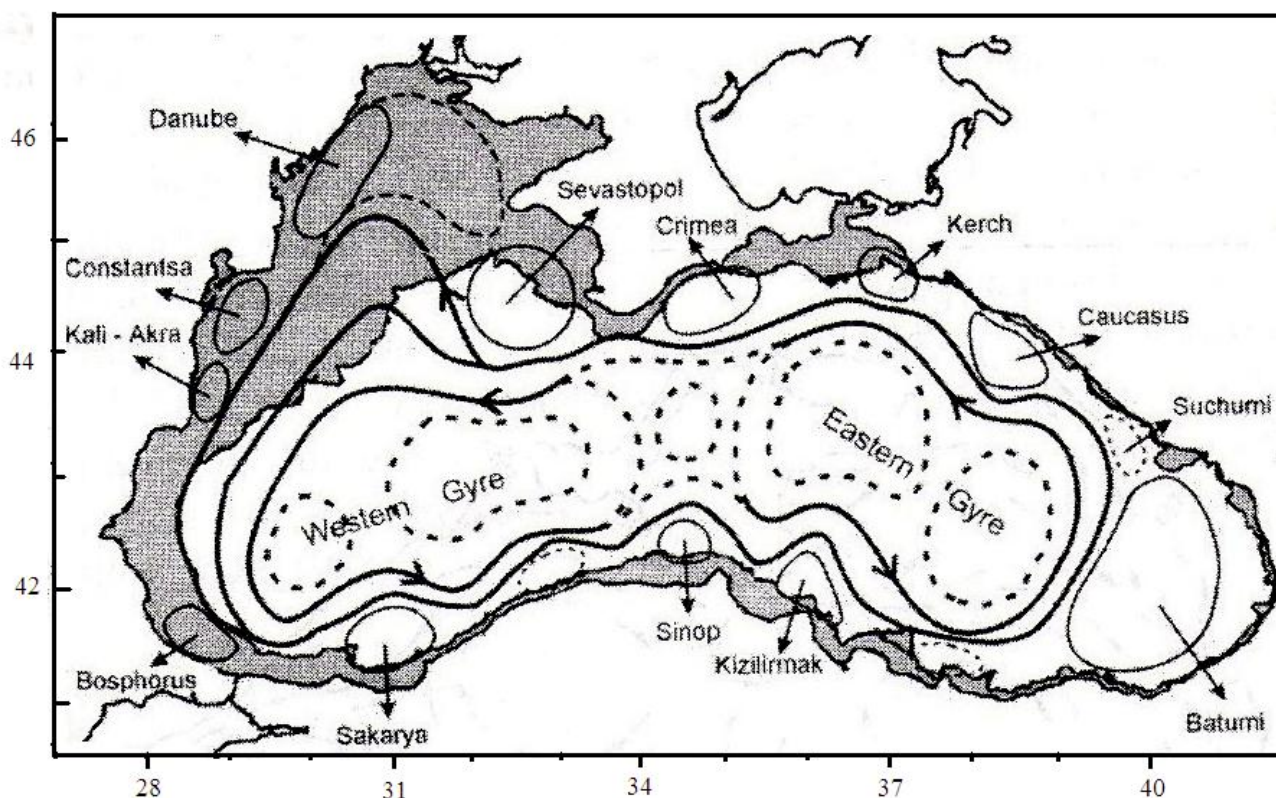


Рис. 2. Особенности поверхностной циркуляции вод Чёрного моря [29, 31]

Fig. 2. Circulation pattern of the surface layer of the Black Sea [29, 31]

Значения ТПМ и характер её пространственного распределения соответствовали таковым периода перехода от весеннего гидрологического сезона к летнему. Верхний слой во всей акватории моря оказался прогретым от 18,5 до 21,5 °С, что на 4–5 °С выше среднемноголетних значений для мая [10]. Минимальные значения температуры (менее 20 °С) отмечены в зоне влияния распреснённых речных вод в северо-западной части моря, а также в прибрежной зоне у м. Тарханкут и в Каламитском заливе — как следствие релаксации зафиксированного в середине мая у побережья Крыма кратковременного апвеллинга, понизившего ТПМ с 17,5 до 12 °С (рис. 3).

Максимальные значения температуры поверхности (20,5–21,5 °С) были приурочены к зоне взаимодействия циклонического меандра ОЧТ над свалом глубин южнее Керченского пролива и хорошо прогретых азовоморских вод, а также в области Крымского АЦВ. Толщина ВКС в прибрежной зоне полуострова варьировала от 3–10 м в районе Южного берега Крыма (далее — ЮБК) до 15–20 м в районе м. Тарханкут и в Каламитском заливе (рис. 3).

Столь значительные различия в толщине ВКС при достаточно однородном распределении ТПМ были вызваны как фазовым запаздыванием ПА в зоне ЮБК по отношению к прибрежной акватории Каламитского залива, так и сроками выполнения съёмки на обоих полигонах. Станции на шельфе ЮБК соответствовали начальной стадии развития ПА, а в районе Каламитского залива — завершающему этапу (релаксации).

В ихтиопланктоне идентифицированы 11 видов икринок и личинок рыб из 7 семейств. В восточном секторе исследований, от Керченского пролива до района Севастополя, ихтиопланктон собирали сетью БР (рис. 1, табл. 1). Средняя численность икринок составляла 14,3, а личинок — 4,3 экз.·м⁻² (табл. 1). Доля мёртвой икры в среднем — 87,7 %.

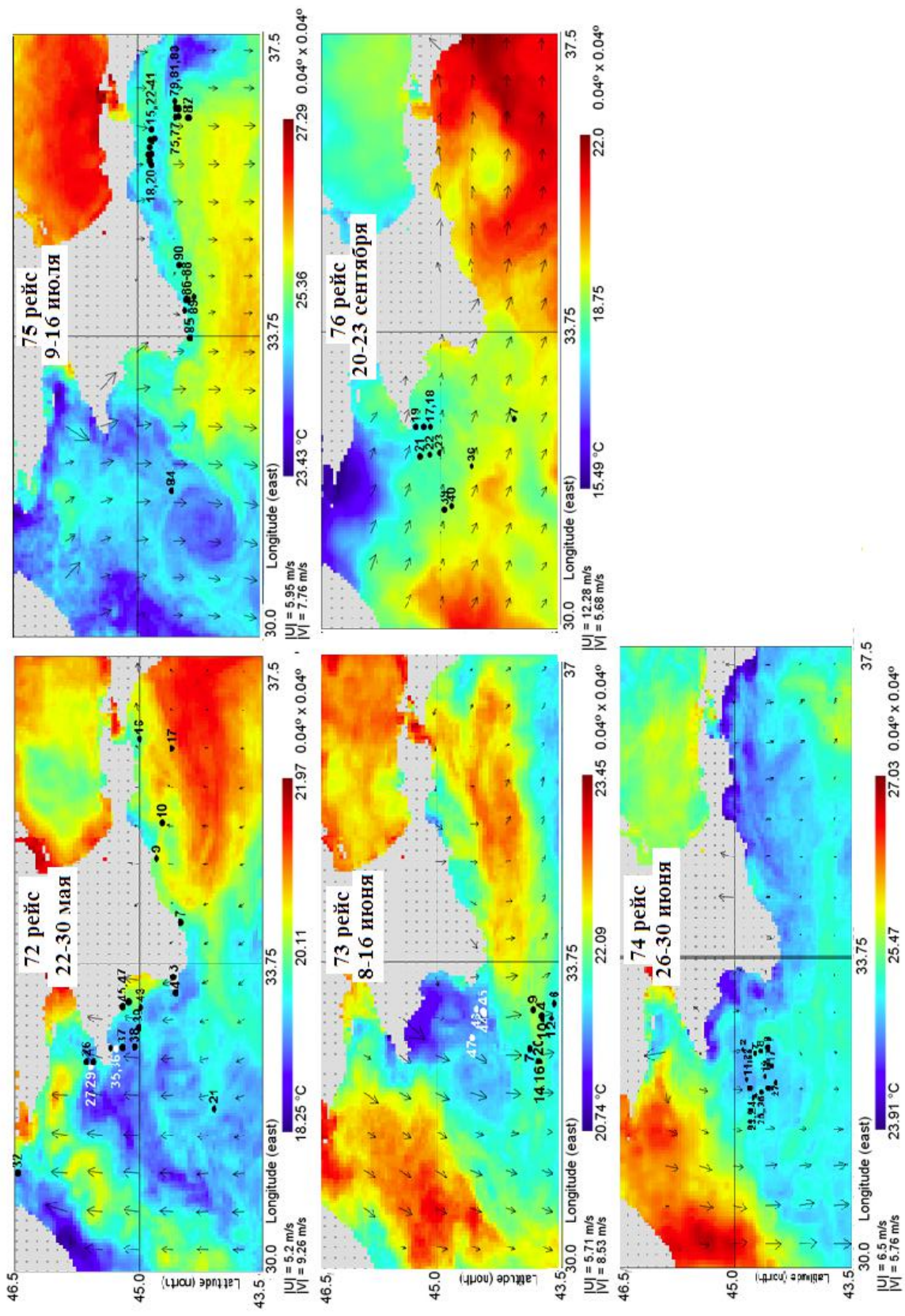


Рис. 3. Карта-схема пространственного распределения температуры поверхности воды в мае, июне, июле и сентябре 2013 г. [27]
 Fig. 3. Schematic map of spatial distribution of surface water temperature in the sea in May, June, July and September 2013 [27]

Из умеренноводных видов нерестился только шпрот, икра, личинки и молодь которого отмечены на шельфе ЮБК и в Керченском предпроливье. Теплолюбивые виды представлены икринками камбалы калкана, икринками и личинками летнерестующей хамсы [*Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758)] и личинками из сем. Gobiidae. Доминировала (77,2 % от общей численности) икра хамсы. На втором месте по численности — икра шпрота (21 %). Икра камбалы калкана отмечена единичными экземплярами. Среди личинок преобладал шпрот (76,5 %); личинки бычков составляли 17,6 %, а личинки хамсы — 5,9 % (табл. 1).

Таблица 1. Структура видового состава ихтиопланктона (%) на шельфе Крымского полуострова в летний сезон 2013 г. (числитель — икринки, знаменатель — личинки)

Table 1. Ichthyoplankton species composition structure (%) in shelf water of Crimean Peninsula in the summer spawning season 2013 (numerator – eggs, denominator – larvae)

Видовой состав	22–25 мая	26–30 мая	8–16 июня	26 июня — 01 июля	9–16 июля	20–23 сентября
	72-й рейс		73-й рейс	74-й рейс	75-й рейс	76-й рейс
	Тип планктонной сети					
	БР	Джеди	БР	БР	БР	БР
<i>Engraulis encrasicolus</i> (Linnaeus, 1758)	$\frac{77,2}{5,9}$	$\frac{95,1}{32,7}$	$\frac{96,8}{7,6}$	$\frac{95,8}{70,1}$	$\frac{95,5}{93,5}$	$\frac{0}{57,12}$
<i>Sprattus sprattus</i> (Linnaeus, 1758)	$\frac{21,0}{76,5}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0,5}{0}$	$\frac{1,0}{0,4}$	$\frac{0}{0}$
<i>Merlangius merlangus</i> (Linnaeus, 1758)	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0,8}{7,6}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0,4}$	$\frac{0}{0}$
<i>Syngnathus schmidti</i> Popov, 1927	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{23,2}$	$\frac{0}{12,0}$	$\frac{0}{1,1}$	$\frac{0}{14,3}$
<i>Syngnathus</i> sp.	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{1,9}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
<i>Lepadogaster candolii</i> Risso, 1810	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{7,6}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
<i>Blennius</i> sp.	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{4,9}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
<i>Pomatoschistus marmoratus</i> (Risso, 1810)	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{4,9}$	$\frac{0}{23,2}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
<i>Pomatoschistus minutus</i> (Pallas, 1770)	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{4,9}$	$\frac{0}{23,2}$	$\frac{0}{6,0}$	$\frac{0}{1,5}$	$\frac{0}{0}$
<i>Pomatoschistus pictus</i> (Malm, 1865)	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{9,1}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0,4}$	$\frac{0}{0}$
<i>Gobius niger</i> Linnaeus, 1758	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{32,7}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{14,3}$
<i>Gobius</i> sp.	$\frac{0}{17,6}$	$\frac{0}{10,8}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{1,9}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{14,3}$
<i>Trachurus mediterraneus</i> (Steindachner, 1868)	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0,8}{7,6}$	$\frac{3,7}{8,1}$	$\frac{4,6}{2,7}$	$\frac{0}{0}$
<i>Mullus barbatus</i> Linnaeus, 1758	$\frac{0}{0}$	$\frac{4,2}{0}$	$\frac{0,8}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0,9}{0}$	$\frac{0}{0}$
<i>Diplodus annularis</i> (Linnaeus, 1758)	$\frac{0}{0}$	$\frac{0,7}{0}$	$\frac{0,8}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
<i>Scophthalmus maeoticus</i> (Pallas, 1814)	$\frac{1,8}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
Средняя численность, экз.·м⁻²	$\frac{14,3}{4,3}$	$\frac{93,8}{16,5}$	$\frac{18,6}{1,85}$	$\frac{65,9}{7,7}$	$\frac{109,9}{23,1}$	$\frac{0,4}{1,4}$
Стандартное отклонение	$\frac{13,79}{8,91}$	$\frac{228,30}{18,08}$	$\frac{22,15}{2,54}$	$\frac{59,08}{12,72}$	$\frac{114,5}{35,09}$	$\frac{1,26}{1,35}$
Доверительный интервал	$\frac{12,56}{8,11}$	$\frac{163,10}{12,92}$	$\frac{15,25}{1,75}$	$\frac{42,21}{9,09}$	$\frac{61,49}{18,82}$	$\frac{1,03}{1,10}$

Доля мёртвой икры хамсы была высокой (84 %), однако в пробах присутствовали и её личинки (0,3 экз.·м⁻²), что свидетельствовало о результативности нереста. Доля личинок хамсы от наличной икры составляла 2,2 %.

В западном секторе исследований ихтиопланктон собирали по техническим причинам сетью Джели. В пробах идентифицированы икринки и личинки уже 10 видов рыб из 5 семейств: икринки хамсы, султанки (*Mullus barbatus* Linnaeus, 1758) и ласкиря [*Diplodus annularis* (Linnaeus, 1758)], а также личинки хамсы, морских бычков и собачек (табл. 1). Доминировала икра хамсы (95 %). Средняя численность икринок и личинок рыб составляла 93,8 и 16,5 экз.·м⁻² соответственно. Хамса предпочитает нереститься в опреснённых участках моря [9], и наибольшая численность её икры наблюдалась в водах северо-западной части моря с солёностью до 16 ‰ — на северной станции западного разреза (рис. 1). Доля мёртвой икры хамсы в этих пробах была значительно ниже, чем в пробах из южного и юго-восточного секторов исследований: в районе Каркинитского залива она составляла 68,3 %, а в Каламитском заливе — 40 %. Мёртвая икра находилась в основном на первых этапах развития, а живая — на четвёртом-пятом.

Средняя численность личинок рыб здесь была в 4 раза выше, чем в акватории от Керченского пролива до ЮБК. Личинки рыб отсутствовали только на станциях, выполненных в Каркинитском заливе. Максимальной (8,5 экз.·м⁻²) численность личинок хамсы была в Каламитском заливе, где ТПМ превышала 22 °С на фоне релаксации ПА. Доля личинок хамсы от наличной икры в пробах западного сектора исследований возросла, по сравнению с таковой в пробах из акватории моря от Керченского пролива до ЮБК, с 2,2 до 6,0 %.

По литературным данным, единичные личинки хамсы у Крымского полуострова в планктоне обычно появлялись только в июне [9]. В период наших исследований средняя численность личинок хамсы на мористых участках шельфа Крымского полуострова колебалась от 0,3 экз.·м⁻² в районе ЮБК до 8,5 экз.·м⁻² в Каламитском заливе. Выживанию икринок и личинок хамсы способствовали, вероятно, оптимальная температура воды для эмбрионального развития и благоприятная кормовая база для личинок рыб. ТПМ достигала 22 °С, что соответствовало таковой в июне и июле 1950–1970-х гг. [9]. Различия в численности ихтиопланктона в значительной мере определялись положением станций на пространственно-временных масштабах взаимодействующих динамических структур прибрежных вод и вод из системы ОЧТ (рис. 1, 3).

В июне 2013 г. исследования проводили во время 73-го и 74-го рейсов НИС «Профессор Водяницкий». Ихтиопланктонные станции были привязаны к району локализации Севастопольского АЦВ над БТЛ с глубинами от 145 м в северной части до 2150 м в южной. Если к началу первой съёмки циклонический меандр струи ОЧТ в северо-западной части моря уже трансформировался в изолированный циклонический вихрь, то к концу июня он практически прекратил своё существование (рис. 1, 2, 3).

Весь месяц над западной частью моря преобладали ветра северных румбов. Несмотря на это, активный прогрев поверхности моря привёл к повышению ТПМ с 21–22 °С в первой половине июня до 24–26 °С к концу месяца. Кратковременный ПА, наблюдавшийся в прибрежной зоне Каламитского залива в середине июня, понизил ТПМ всего на 2 °С (с 22 до 20 °С) и не привёл к деформации температурного поля на северной периферии Севастопольского АЦВ.

Пространственно-временные отличия термохалинных характеристик поверхностных вод в начале и конце месяца определяли положение станций на фоне основных циркуляционных структур. В 73-м рейсе часть станций располагалась на северо-восточной периферии АЦВ и характеризовалась стабильностью значений ТПМ (22,5–23,0 °С), поверхностной солёности (17,9–18,0 ‰) и толщины ВКС (12–15 м). Другая часть станций была выполнена в зоне дивергенции на границе струи ОЧТ и южной периферии Севастопольского АЦВ. Здесь ТПМ изменялась в интервале от 21,9 до 23,5 °С, солёность — от 18,1 до 18,6 ‰, а толщина ВКС — от 5 до 10 м. В 74-м рейсе все станции находились на северной периферии АЦВ и также характеризовались незначительной изменчивостью

температуры (24–25 °С) и солёности (17,9–18,0‰) поверхностных вод. Между тем толщина ВКС (5–10 м) на полигоне была значительно меньше, чем таковая в первой половине июня. Этот факт можно объяснить подтоком под сезонный термоклин более плотных вод из системы ОЧТ вдоль западного склона БТЛ (рис. 2, 3).

В ихтиопланктоне идентифицированы 12 видов икринок и личинок рыб из 9 семейств (рис. 1, табл. 1).

В первой и второй декадах июня 2013 г. (73-й рейс НИС «Профессор Водяницкий») большинство станций выполнены над глубинами от 380 до 1000–2150 м и только одна станция — над глубиной 145 м. В ихтиопланктоне идентифицированы икринки и личинки 9 видов рыб из 8 семейств. Средняя численность икринок составляла 18,6, а личинок — 1,9 экз.·м⁻² (рис. 1, табл. 1). Единичные экземпляры икры и личинок умеренноводного мерланга отмечены всего на двух станциях над глубинами 1000 и 1800 м. В пробах преобладала икра теплолюбивой хамсы (её доля в общей численности икры составляла 96,6 %), а икра ставриды и султанки встречалась только единично. Личинки рыб представлены лишь теплолюбивыми видами: хамсой, двумя видами бычков и пелагической иглой. Доля личинок хамсы от наличной икры в пробах — всего 0,6 %. Доля мёртвой икры колебалась от 25 до 100 %, в среднем составляя 66,7 %. Наибольшее количество видов отмечено на самой мелководной станции, выполненной над глубиной 145 м на свале глубин. На рис. 1 эта станция расположена среди станций 74-го рейса. Здесь отмечена, кроме икринок хамсы, икра ласкиря и султанки, а личинки представлены рыбой-уточкой (*Lepadogaster candolii* Risso, 1810), бычком [*Pomatoschistus minutus* (Pallas, 1770)] и мерлангом (табл. 1).

В третьей декаде июня (74-й рейс НИС «Профессор Водяницкий») ихтиопланктон собирали над глубинами от 145 до 1200 м. В пробах идентифицированы икринки и личинки 6 видов рыб из 5 семейств. Средняя численность икринок и личинок возросла до 65,9 и 7,7 экз.·м⁻² соответственно. Доминировала икра хамсы — 95,7 % от общей численности икры всех видов. Доля мёртвой икры в пробах в среднем не превышала 50 %. Личинки представлены хамсой, ставридой, двумя видами иглы-рыбы и двумя видами морских бычков (табл. 1). Доля личинок хамсы от наличной икры в море возросла до 8,6 %.

Для сравнения: в районе северо-восточного шельфа Чёрного моря в июне 2013 г. отмечено, как и на шельфе Крымского полуострова, максимальное количество видов в ихтиопланктоне [17]. В районе Сочи в июне — июле 2013 г. идентифицированы 9, а в районе Анапы и Геленджика — по 13 видов икры и личинок рыб. Количество видов сопоставимо с таковым открытых вод шельфа Крымского полуострова. Численность ихтиопланктона (икринки и личинки в сумме) в водах северо-восточного шельфа в июне была максимальной за летний сезон 2013 г. Значения показателя были существенно выше, чем таковые на шельфе Крымского полуострова: численность ихтиопланктона составляла в районе Сочи 96 экз.·м⁻², Анапы — 128 экз.·м⁻², Геленджика — 282 экз.·м⁻² [17]. В отличие от шельфа Крымского полуострова, где в ихтиопланктоне преобладала хамса, в акватории северо-восточного шельфа доминировали султанка и ласкирь, однако значительную долю в общей численности занимали скорпена и гребенчатый губан. Различия в структуре видового состава ихтиопланктона связаны, вероятно, с большей шириной прибрежной зоны северо-восточного шельфа по сравнению с таковой ЮБК. Доля мёртвой икры колебалась от 50 до 80 % [20] (значения сопоставимы с нашими данными по шельфу Крымского полуострова).

В июле 2013 г. ихтиопланктон собирали в 75-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» как на шельфе Крымского полуострова, так и в глубоководных районах над континентальным склоном от Керченского пролива до м. Херсонес (рис. 1). Структура поверхностной циркуляции во время съёмки в общих чертах соответствовала наблюдаемой в мае — июне, однако при общей неустойчивости ОЧТ положение основных динамических образований существенно изменилось. В восточной части моря Кавказский АЦВ сместился на северо-запад и оттеснил струю ОЧТ в сторону открытого моря. Циклонический меандр ОЧТ сохранил своё присутствие над мористой частью

Керченского предпроливья, расширив границы вдоль свала глубин до района Судака. При этом Крымский АЦВ сместился от Судакско-Карадагского взморья к району Ялты. В западной части моря Севастопольский АЦВ сместился вдоль континентального склона до долины палео-Дуная, оттеснив струю ОЧТ к юго-западной границе исследуемой акватории.

Термический режим ПСМ претерпел лишь незначительные изменения. Общий температурный фон составил 23,5–25,5 °С, что на 1–2 °С превысило июньские значения и на столько же — средне-многолетние для июля [10]. Наиболее прогретыми оказались воды центральной части моря в границах ОЧТ, а наименее — западные, включая северо-западную часть и прибрежную зону Крымского полуострова. Основной причиной охлаждения прибрежных вод явился ПА, образовавшийся в начале июля при резком усилении ветров северных румбов и охвативший обширную прибрежную акваторию Крыма. В районе м. Тарханкут это вызвало формирование активного вихревого диполя (далее — ВД), переместившегося к началу съёмки вдоль восточной периферии АЦВ до границы со струей ОЧТ [15]. Одновременно в районе ЮБК резко (с 25 до 12 °С) понизилась ТПМ. Дальнейшее повышение температуры прибрежных вод в районе ЮБК протекало на фоне релаксации ПА, нарушаемой кратковременными стонно-нагонными процессами. Следствием воздействия ПА на термодинамическую структуру прибрежных вод явился вынос прогретых поверхностных вод к внешней границе струи ОЧТ и образование там высокоградиентных зон конвергентного типа. Анализ положения ихтиопланктонных станций вдоль ЮБК показал, что все они в различной степени находились в зоне влияния таких динамически активных образований.

Ихтиопланктон был представлен икрой и личинками 8 видов рыб из 7 семейств. В пробах, собранных сетью Джели, обнаружены икринки и личинки только хамсы. Средняя численность икры, пойманной сетью Богорова — Расса, составляла 109,9, а личинок — 23,1 экз.·м⁻². Доминировали икра и личинки хамсы — 95,5 и 93,5 % соответственно. Второе место по численности занимала ставрида: доля её икры составляла 4,6, а личинок — 2,7 %. Остальные виды встречались единично (табл. 1).

В районе Керченского предпроливного пространства выполнены два полигона в мелководном и глубоководном участках моря. На мелководном полигоне средняя численность икринок и личинок рыб была на порядок ниже, чем в остальных районах исследований (рис. 1). Здесь же отмечена и максимальная доля мёртвой икры в пробах (около 70 %), в то время как на глубоководном полигоне доля составила всего 44 % и была минимальной во всей акватории исследований [15].

Максимальная численность ихтиопланктона отмечена на шельфе ЮБК и над континентальным склоном, где на отдельных станциях численность икры превышала 400, а личинок — 100 экз.·м⁻² (рис. 1). Доля икры и личинок хамсы над континентальным склоном составляла 92 и 91 % соответственно, а доля её личинок от наличной икры в море превышала 38 %. Следует отметить, что в июле 1950–1960 гг. максимальная доля личинок хамсы от наличной икры в море составляла 30 % [8, 9]. Высокая численность личинок рыб связана, по-видимому, с формированием благоприятной кормовой базы в зоне конвергенции на границе ПА и ОЧТ. Глубоководные станции континентального склона характеризовались наибольшей численностью зоопланктона, вдвое превышающей таковую в шельфовых водах. Свыше 50 % кормового микрозоопланктона составляли науплиусы и ранние копеподиты из рода *Acartia* [15]. Единственная станция, выполненная в западном секторе на северо-восточной периферии Севастопольского АЦВ, отличалась высокими показателями ихтиопланктона. Вероятной причиной увеличения численности ихтиопланктона явился вынос его из северной части Каламитского залива структурой ВД, наблюдаемой здесь в период съёмки (рис. 1, 3).

У берегов северо-восточной части черноморского шельфа, в отличие от акватории моря у Крымского полуострова, в июле произошло снижение как средней численности ихтиопланктона, так и количества видов [17]. Автор объясняет изменения в ихтиопланктонном комплексе негативным влиянием *Mnemiopsis leidyi* как на численность ихтиопланктона, так и на кормовую базу личинок рыб.

В августе 2013 г. ихтиопланктон исследовали исключительно в прибрежной акватории Севастополя. Идентифицированы 19 видов икринок и личинок рыб из 13 семейств. Личинки *Atherina mochon pontica* и икра *Scorpaena porcus* встречались только в горизонтальных поверхностных ловах. В вертикальных ловах средняя численность икры составляла 45,8, а личинок — 7,6 экз.·м⁻². В прибрежной зоне Севастополя продолжался интенсивный нерест хамсы, доля её икры в пробах возросла до 79,0, а личинок — до 29,6 %. Максимальная численность икры отмечена над глубинами свыше 50 м в полутора-двух милях от берега, а личинок — в кутовой части Севастопольской бухты.

В сентябре 2013 г. ихтиопланктон собирали в 76-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» в акватории локализации Севастопольского АЦВ над БТЛ. Ихтиопланктонные станции в основном сосредоточены в северной мелководной части БТЛ южнее полуострова Тарханкут и на разрезе через БТЛ, ориентированном с северо-запада на юго-восток при перепаде глубин от 59 до 1700 м (рис. 1).

Анализ гидрологических материалов, полученных в период съёмки, а также данных спутниковых наблюдений за август — сентябрь и гидрофизических съёмов в прибрежной зоне Севастополя показал, что ихтиопланктонные исследования были проведены в период интенсивного осеннего выхолаживания поверхностных вод. Резкий переход от летнего гидрологического сезона к осеннему произошёл в первой декаде сентября и был связан с вторжением в акваторию Чёрного моря холодной арктической воздушной массы. Циркуляция поверхностных вод сохранила, несмотря на длительное воздействие сильных северо-западных ветров, в общих чертах свою структуру. Струя наиболее прогретых вод ОЧТ была ориентирована с северо-востока на юго-запад и проходила над южной глубоководной частью БТЛ, а Севастопольский АЦВ ещё более сместился на юго-запад (рис. 3). Усиление северо-западных и северных ветров до штормовых значений в прибрежной зоне Крыма привело к возникновению активного ПА и к понижению температуры поверхности моря в районе ЮБК с 26 °С в конце августа до 12 °С в первых числах сентября. К началу съёмки в исследуемой акватории температурный фон ПСМ восстановился и держался в пределах 18,3–19,8 °С. При этом значения температуры поверхности моря ниже 19 °С как следствие проявления ПА наблюдались в прибрежной зоне у полуострова Тарханкут, а выше 19 °С — на разрезе через БТЛ. Максимальная температура (19,8 °С) отмечена в зоне ОЧТ на самой глубоководной станции (рис. 3).

В половине собранных в 76-м рейсе проб ихтиопланктон отсутствовал. Средняя численность икринок составляла 0,4, а личинок — 1,4 экз.·м⁻². Икринки представлены только сингилом [*Liza aurata* (Risso, 1810)]. Среди личинок преобладала (57 %) хамса; встречались отдельные экземпляры двух видов бычков и пелагической иглы (табл. 1).

Для анализа состояния ихтиопланктонных комплексов в период исследований рассчитаны индексы разнообразия [16, 30, 32, 33, 36] (рис. 3). В августе 2013 г. на шельфе Крымского полуострова ихтиопланктонную съёмку не проводили, поэтому индексы разнообразия представлены по данным ихтиопланктонных исследований в том же районе исследований в августе 2011 г. Тогда в открытых водах шельфа Крымского полуострова были отмечены икра и личинки рыб 20 видов, средняя численность икры превышала 120, а личинок — 19 экз.·м⁻². Доминировала хамса: доля её икры в пробах составляла 98, а личинок — 84 % [14] (рис. 4А).

Величина индекса видового разнообразия [33] в значительной степени зависит от доминирования отдельных видов в изучаемом сообществе [16]. В ихтиопланктоне у Крымского полуострова в летний сезон 2013 г. преобладала хамса (доля её икры и личинок в ихтиопланктоне превышала 90 %), поэтому показатели индексов видового разнообразия были невелики (рис. 4А). Значения индекса доминирования [30] возрастали с мая по август. В то же время показатели индексов видового разнообразия [33] и выровненности (значимости каждого вида) [32] снижались. Максимальные значения индексов видового разнообразия и выровненности наблюдались в мае (начало нерестового сезона): доминантные виды только начинали нерест и, соответственно, показатели индексов доминирования были минимальными (рис. 4А).

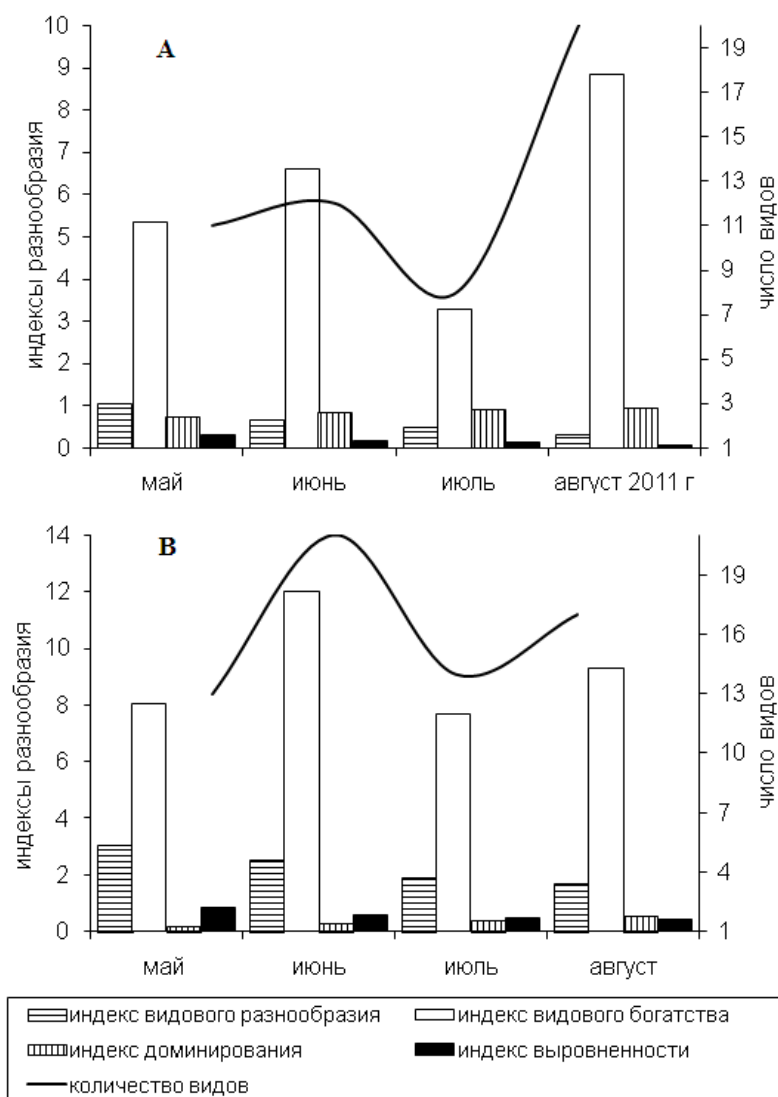


Рис. 4. Индексы видового разнообразия ихтиопланктона у Крымского полуострова (А) и в прибрежной акватории Севастополя (В) с мая по август 2013 г.

Fig. 3. Indices of species diversity of ichthyoplankton off the Crimean Peninsula (A) and in the coastal waters of Sevastopol (B) from May to August 2013

Индексы видового богатства [36] достигали наибольшей величины в июне, когда количество видов в ихтиопланктоне было максимальным (рис. 4А). В июле (с увеличением биомассы основного конкурента в питании личинок рыб — гребневика *M. leidyi*) резко снизилось количество видов и численность личинок рыб, что негативно отразилось на показателях индекса видового богатства (рис. 4А). Одновременно наблюдался интенсивный нерест хамсы, численность её икры и личинок достигла максимальных величин. Возросли, по сравнению с июньскими, значения показателей индексов доминирования, снизились показатели всех остальных индексов разнообразия (табл. 1, рис. 4А). В августе 2011 г. у Крымского полуострова мы наблюдали высокую численность и большое количество видов в ихтиопланктоне, а индексы видового богатства были сопоставимы с такими в прибрежных районах исследований [14]. Такое же распределение показателей индексов разнообразия отмечено летом 2013 г. в прибрежной акватории Севастополя (рис. 4В). Доминирование отдельных видов в ихтиопланктоне прибрежной акватории выражено слабо, поэтому индексы разнообразия в летний нерестовый период 2013 г. были здесь в 3–4 раза выше, чем на шельфе Крымского полуострова (рис. 4А, 4В).

В последние годы гребневик *B. ovata*, основным объектом питания которого служит *M. leidyi*, появляется уже во второй декаде июля и к середине августа значительно снижает численность *M. leidyi*. В летний период 2013 г. гребневик *B. ovata* отмечен в районе м. Сарыч уже в начале второй декады июля; его появление способствовало восстановлению кормовой базы личинок рыб и увеличению в августе их численности и разнообразия в ихтиопланктоне [15, 21]. В июле и августе 1990-х и начале 2000-х гг. с увеличением численности гребневика *M. leidyi* в ихтиопланктоне наблюдалось резкое снижение численности и разнообразия личинок рыб. Август 2011 и 2013 гг. характеризовался тем, что на шельфе Крымского полуострова продолжался результативный нерест теплолюбивых видов рыб [13, 14, 18, 24, 25]. В прибрежной акватории Севастополя в августе 2013 г. численность икры была одного порядка с таковой в июле, а численность личинок — в 5 раз выше. В августе 2011 г. в открытых водах шельфа Крымского полуострова в ихтиопланктоне отмечены 20 видов, а средняя численность икры и личинок превышала 120 и 19 экз. \cdot м⁻² соответственно [14]. В ихтиопланктоне преобладали икра и личинки хамсы (показатели индексов доминирования превышали 0,9), что привело к снижению показателей индексов видового разнообразия и выровненности до минимальных значений. В то же время увеличение количества видов в ихтиопланктоне способствовало появлению в августе второго пика в показателях индексов видового богатства (рис. 4).

Изучив весь массив первичных гидрофизических данных за период со второй половины мая по конец сентября 2013 г., мы выделили наиболее значимые факторы, определяющие термогидродинамическую структуру ПСМ в исследуемой акватории моря севернее 43,5° с. ш. К ним относятся: региональные особенности режима прогрева ПСМ в весенне-летний период и выхолаживания поверхности моря в осенний гидрологический сезон; адвективный вклад поверхностных течений (прежде всего ОЧТ); квазистационарные АЦВ; сгонно-нагонные процессы в прибрежных районах; локальные термохалинные неоднородности в областях смешения распреснённых речных вод с шельфовыми в северо-западной части моря и азовоморских вод в Керченском предпроливье — с водами открытого моря. Региональные отличия в распределении ТПМ связаны с интенсивностью и инерционностью процесса прогрева ПСМ, с адвекцией тепла поверхностными течениями, с интенсивностью и продолжительностью ПА, а также с локальными особенностями зон конвергенции и дивергенции поверхностных течений. Одним из основных факторов, регулирующих выживание икры и личинок рыб, является толщина ВКС. Прибрежные акватории моря с хорошо развитым ВКС, имеющим высокий теплозапас, оказались наиболее стабильными и благоприятными районами для размножения теплолюбивых видов рыб.

Видовой состав ихтиопланктона изменяется от прибрежной зоны к открытому морю. У Крымского полуострова максимальное количество видов ограничено неритической зоной. В открытых водах на расстоянии свыше 10 миль от берега обычно встречаются только хамса, ставрида и пелагическая игла. Наличие в пробах, собранных над континентальным склоном, икры и личинок прибрежных видов рыб объясняется сгонно-нагонными явлениями в прибрежных районах, а также выносом их грибовидными течениями (ВД). Наличием сгонно-нагонных явлений объясняется и появление в прибрежных водах икры и личинок умеренноводных видов рыб, в частности шпрота и мерланга, которые в летний гидрологический сезон размножаются под слоем термоклина [9, 18].

Система циркуляции прибрежных вод при ПА существенно отличается от устоявшейся. Это касается, прежде всего, активизации восходящих движений в узкой прибрежной зоне, оттока поверхностных вод от берега в сторону открытого моря и их замещения холодными промежуточными водами. При этом вдольбереговая составляющая прибрежных течений, как правило, в пределах ВКС имеет антициклоническую направленность, а ниже наблюдается подповерхностное компенсационное циклоническое противотечение. В зависимости от своей интенсивности, ПА имеет «явный» или «скрытый» характер. В первом случае к поверхности поднимаются воды холодного промежуточного слоя, а ТПМ может снизиться на 10–15 °С. Во втором случае к поверхности выходят воды из сезонного термоклина, а ТПМ уменьшается лишь на несколько градусов [11].

Механизмы образования и воздействия ВД на термохалинную структуру и циркуляцию прибрежных вод до настоящего времени мало изучены [7, 19]. В большинстве случаев информация об этих вихревых структурах основана на спутниковых наблюдениях, а контактные измерения единичны [6, 7]. Последнее связано с чрезвычайно высокой динамикой ВД — коротким (от нескольких часов до нескольких суток) периодом существования, высокой (до $1\text{--}2\text{ м}\cdot\text{с}^{-1}$) скоростью перемещения, трудно предсказуемым временем образования и неясностью причин возникновения.

Имея высокую начальную скорость и резкие боковые и нижнюю границы, ВД способны переносить и осуществлять «залповые выбросы» прибрежных вод с фактически неизменными термохалинными и гидрохимическими характеристиками, со взвесью и загрязняющими веществами, а также с различными планктонными организмами как в другие прибрежные районы, так и непосредственно в систему ОЧТ. Объёмы «вбрасываемых» вод определяются размерами ВД и в сезоны с устойчивой стратификацией могут составлять $10^9\text{--}10^{11}\text{ м}^3$ [7, 18]. В этом случае ВД представляется исключительно важным механизмом взаимодействия прибрежных вод и вод открытой части моря. Отток поверхностных вод от берега в результате воздействия ВД компенсируется подъёмом холодных промежуточных вод по типу ПА.

Из биотических факторов наибольшее влияние на численность черноморского ихтиопланктона в летний нерестовый сезон оказывает наличие желетелого макропланктона. Резкое увеличение его биомассы наблюдалось в Чёрном море с конца 1980-х гг. за счёт вселения и массового развития гребневика *Mnemiopsis leidyi*. Этот вид обитает в ВКС и является хищником и пищевым конкурентом как личинок и молоди теплолюбивых видов рыб, так и взрослых рыб-планктофагов. Увеличение биомассы желетелого макропланктона — один из основных биотических факторов, которые привели к негативным изменениям в экосистеме Черноморского шельфа в начале 1990-х гг. — изменению структуры планктона (снижение доли кормового планктона), уменьшению видового разнообразия и численности ихтиопланктона и, наконец, коллапсу в рыбном промысле, основным объектом которого была хамса — тепловодный планктофаг с коротким жизненным циклом. Массовое появление *M. leidyi* наблюдается обычно в июле, когда температура воды в море повышается до $23\text{--}25\text{ }^\circ\text{C}$ [18, 22, 23]. С начала 2000-х гг., после акклиматизации нового вселенца (гребневик *Beroe ovata*, основным объектом питания которого является *M. leidyi*), популяция *M. leidyi* в основном контролируется *B. ovata* [21, 23, 34, 35]. После 10 лет наблюдений (2004–2013) можно уверенно говорить об уменьшении численности популяции мнемииопсиса, связанном, по-видимому, не только с более продолжительным и усиливающимся прессом *B. ovata*, но и со значительным снижением плодовитости *M. leidyi* в связи с потеплением климата [20, 21]. В июле — августе 2010–2013 гг. температура поверхности воды в море достигала $26\text{--}30\text{ }^\circ\text{C}$ (эти значения превышают оптимальную температуру для жизнедеятельности гребневиков). В первой декаде июля 2013 г. у Крымского полуострова желетельный макропланктон был представлен *Aurelia aurita*, *Mnemiopsis leidyi* и *Pleurobrachia pileus*. Зоны повышенного обилия желетельных наблюдались на свале глубин. По численности преобладала *P. pileus*, составляя 73,5 % от общего количества желетельных гидробионтов. На долю *M. leidyi* и *A. aurita* приходилось 16,5 и 10 % соответственно. Значения общей биомассы варьировали от 2,4 до $11\,056,0\text{ мг}\cdot\text{м}^{-3}$, в среднем составляя $2679,6\text{ мг}\cdot\text{м}^{-3}$. По биомассе преобладали *M. leidyi* и *A. aurita*, обитающие над сезонным термоклином: их доля составляла 18,2 и 81,6 % соответственно. Внутрисезонная изменчивость состава и обилие желетелого макропланктона в открытых водах у Крымского полуострова сопоставимы с таковыми для прибрежных вод [15, 21].

Выводы:

1. В летний сезон 2013 г. в ихтиопланктоне у Крымского полуострова идентифицированы 17 видов икры и личинок рыб из 13 семейств. Доминировала икра хамсы, доля которой в среднем составляла 93,5 %. Средняя численность икры и личинок рыб была максимальной в июле — 109,9 и 9,5 экз. $\cdot\text{м}^{-2}$ соответственно.

2. На фоне климатического глобального потепления, благодаря быстрому прогреву поверхности воды в море, в 2013 г. в мае наблюдался результативный нерест летненерестующих видов рыб. Если в 1950–1970-х гг. единичные личинки хамсы в планктоне обычно появлялись только в июне, то в 2013 г. уже в мае средняя численность её личинок колебалась от 0,3 экз.·м⁻² на траверзе ЮБК до 8,5 экз.·м⁻² в мелководном Каламитском заливе.
3. Самые высокие показатели индексов видового разнообразия и выровненности в ихтиопланктоне зафиксированы в мае, благодаря сравнительно невысокой численности обычно доминирующих видов икры и личинок рыб. Максимальные значения индексов видового богатства в ихтиопланктоне отмечены в июне, когда количество видов икры и личинок рыб было наибольшим.
4. Неблагоприятные условия для размножения популяции *M. leidyi* в июле и августе (температура выше 26 °С) и быстрое увеличение численности гребневика *B. ovata* ограничивали время преобладания *M. leidyi* в планктоне и способствовали быстрому восстановлению численности кормового зоопланктона.
5. В летний нерестовый сезон 2013 г. наиболее значимыми факторами, определяющими пространственное распределение ихтиопланктона (севернее 43,5° с. ш.), являлись: региональные особенности режима прогрева поверхностного слоя моря в весенне-летний период и его выхолаживания в осенний гидрологический сезон; адвективный вклад поверхностных течений (прежде всего Основного черноморского течения); сгонно-нагонные процессы в прибрежных районах; локальные термохалинные неоднородности в областях смешения распреснённых речных вод с шельфовыми в северо-западной части моря и азовоморских вод в Керченском предпроливье — с водами открытого моря.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана» (№ гос. регистрации АААА-А18-118020890074-2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Белокопытов В. Н. *Климатические изменения гидрологического режима Черного моря* : автореф. дис. ... д-ра геогр. наук : 25.00.28. Севастополь, 2017. 42 с. [Belokopytov V. N. *Klimaticheskie izmeneniya gidrologicheskogo rezhima Chernogo morya* : avtoref. dis. ... d-ra geogr. nauk : 25.00.28. Sevastopol, 2017, 42 p. (in Russ.)]
2. Боровская Р. В., Ломакин П. Р., Попов М. А. Апвеллинг в Балаклавской бухте и прилегающих акваториях Черного моря на базе спутниковых данных // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа*. Севастополь : ЭКОСИ-гидрофизика, 2009. Вып. 20. С. 169–171. [Borovskaya R. V., Lomakin P. R., Popov M. A. Arpelling v Balaklavskoi bukhte i prilgayushchikh akvatoriyakh Chernogo morya na baze sputnikovyykh dannyykh. In: *Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoi i shel'fovoi zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa*. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2009, iss. 20, pp. 169–171. (in Russ.)]
3. Водяницкий В. А. Наблюдения над пелагическими яйцами рыб Черного моря // *Труды Севастопольской биологической станции*. 1936. Т. 5. С. 3–43. [Vodyanitsky V. A. Nablyudeniya nad pelagicheskimi yaitsami ryb Chernogo morya. *Trudy Sevastopolskoi biologicheskoi stantsii*, 1936, vol. 5, pp. 3–43. (in Russ.)]
4. *Гидрометеорологические условия морей Украины*. Т. 2. *Черное море*. Севастополь : ЭКОСИ-гидрофизика, 2012. 420 с. [*Gidrometeorologicheskie usloviya morei Ukrainy*. Vol. 2. *Chernoie more*. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2012, 420 p. (in Russ.)]
5. *Гидрометеорология и гидрохимия морей СССР*. Т. 4. *Черное море*. Вып. 1. *Гидрометеорологические условия*. Санкт-Петербург : Гидрометеоздат, 1991. 429 с. [*Gidrometeorologiya i gidrokhimiya morei SSSR*. Vol. 4. *Chernoie more*. Iss. 1. *Gidrometeorologicheskie usloviya*. Sankt-Petersburg: Gidrometeoizdat, 1991, 429 p. (in Russ.)]
6. Гинсбург А. И., Федоров К. Н. Грибовидные течения в океане по данным спутниковых

- изображений // *Исследования Земли из космоса*. 1984. №3. С. 19–26. [Ginsburg A. I., Fedorov K. N. Gribovidnye techeniya v okeane po dan-nym sputnikovykh izobrazhenii. *Issledovaniya Zemli iz kosmosa*, 1984, no. 3, pp. 19–26. (in Russ.)]
7. Гришин Г. А., Субботин А. А. Особенности гидрометеорологической структуры и циркуляции вод Северо-Западной части Черного моря: судовые и спутниковые наблюдения 1988–1990 гг. // *Морской гидрофизический журнал*. 1993. № 1. С. 61–68. [Grishin G. A., Subbotin A. A. Osobennosti gidrometeorologicheskoi struktury i tsirkulyatsii vod Severo-Zapadnoi chasti Chernogo morya: sudovye i sputnikovye nablyudeniya 1988–1990. *Morskoy gidrofizicheskij zhurnal*, 1993, no. 1, pp. 61–68. (in Russ.)]
 8. Дехник Т. В., Дука Л. А., Калинина Э. М., Овен Л. С., Салехова Л. П., Синюкова В. И. Размножение и экология массовых рыб Черного моря на ранних стадиях онтогенеза / отв. ред. В. А. Водяницкий. Киев : Наукова думка. 1970. 211 с. [Dehnik T. V., Duka L. A., Kalinina E. M., Oven L. S., Salekhova L. P., Sinyukova V. I. *Razmnozhenie i ekologiya massovykh ryb Chernogo morya na rannikh stadiyakh ontogeneza* / V. A. Vodyanitsky (Ed.). Kiev: Naukova dumka, 1970, 211 p. (in Russ.)]
 9. Дехник Т. В. *Ихтиопланктон Черного моря*. Киев : Наукова думка, 1973. 234 с. [Dekhnik T. V. *Ikhtio plankton Chernogo morya*. Kiev: Naukova dumka, 1973, 234 p. (in Russ.)]
 10. Иванов В. А., Белокопытов В. Н. *Океанография Черного моря*. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. 212 с. [Ivanov V. A., Belokopytov V. N. *Okeanografiya Chernogo morya*. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2011, 212 p. (in Russ.)]
 11. Иванов В. А., Михайлова Э. Н. *Арвеллинг в Черном море*. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2008. 92 с. [Ivanov V. A., Mikhailova E. N. *Arvelling v Chernom more*. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2008, 92 p. (in Russ.)]
 12. *Ихтиофауна черноморских бухт в условиях антропогенного воздействия* / ред. Л. С. Овен. Киев : Наукова думка, 1993. 143 с. [Ikhtiofauna chernomorskikh bukht v usloviyakh antropogennogo vozdeistviya / Oven L. S. (Ed.). Kiev: Naukova dumka, 1993, 143 p. (in Russ.)]
 13. Климова Т. Н. *Ихтиопланктон Черного моря как индикатор экологического состояния шельфовых вод Украины* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.10. Москва, 2005. 25 с. [Klimova T. N. *Ikhtio plankton Chernogo morya kak indikator ekologicheskogo sostoyaniya shel'fovykh vod Ukrainy* : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk: 03.00.10. Moscow, 2005, 25 p. (in Russ.)]
 14. Климова Т. Н., Вдодович И. В., Загородняя Ю. А. Состояние ихтиопланктона у Крымского полуострова в августе 2011 г. // *Вопросы ихтиологии*. 2018. Т. 58, № 3. С. 342–347. [Klimova T. N., Vdodovich I. V., Zagorodnyaya Yu. A. State of the ichthyoplankton community along the Crimean peninsula in August 2011. *Voprosy ikhtologii*, 2018, vol. 58, no. 3, pp. 342–347. (in Russ.)]
 15. Мельников В. В., Климова Т. Н., Игнатьев С. М., Вдодович И. В., Серегин С. А., Попова Е. В. Состояние ихтио-, микро- и макропланктонного комплексов Черного моря в районе Крымского полуострова в июле 2013 г. // *Системы контроля окружающей среды*. 2015. Вып. 21. С. 94–102. [Mel'nikov V. V., Klimova T. N., Ignat'ev S. M., Vdodovich I. V., Seregin S. A., Popova E. V. Sostojanie ihtio-, mikro- i makroplanktonnogo kompleksov Chernogo morya v raione Krymskogo poluostrova v iyule 2013 g. *Sistemy kontrolya okruzhayushhei sredy*. 2015, iss. 21, pp. 94–102. (in Russ.)]
 16. Одум Ю. *Экология*. Москва : Мир, 1986. Т. 2. 373 с. [Odum Yu. *Ekologiya*. Moscow: Mir, 1986, vol. 2, 373 p. (in Russ.)]
 17. Селифонова Ж. П. *Структурно-функциональная организация экосистем заливов и бухт Черного и Азовского морей (Российский сектор)* : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.10. Мурманск, 2015. 270 с. [Selifonova Zh. P. *Strukturno-funksional'naya organizatsiya ekosistem zalivov i bukht Chernogo i Azovskogo morei (Rossiskii sektor)*. [dissertation]. Murmansk, 2015, 270 p. (in Russ.)]
 18. *Современное состояние ихтиофауны Черного моря* / ред. С. М. Коновалов. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 1995. 214 с. [Sovremennoe sostoyanie ikhtiofauny Chernogo morya / Konovalov S. M. (Ed.). Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 1995, 214 p. (in Russ.)]
 19. Федоров К. Н. *Физическая природа структуры океанических фронтов*. Ленинград : Гидрометеориздат, 1983. 296 с. [Fedorov K. N. *Fizicheskaya priroda struktury okeanicheskikh frontov*. Leningrad: Gidrometeoizdat, 1983, 296 p. (in Russ.)]

20. Финенко Г. А., Аболмасова Г. И., Романова З. А., Дацьк Н. А., Аннинский Б. Е. Динамика популяции гребневиков *Mnemiopsis leidyi* и ее воздействие на зоопланктон в прибрежных районах Черного моря у берегов Крыма в 2004–2008 // *Океанология*. 2013. Т. 53, № 1. С. 88–97. [Finenko G. A., Abolmasova G. I., Romanova Z. A., Datsyk N. A., Anninskii B. E. Population dynamics of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* and its impact on the zooplankton in the coastal regions of the Black Sea of the Crimean coast in 2004–2008. *Okeanologiya*, 2013, vol. 53, no. 1, pp. 88–97. (in Russ.)]
21. Финенко Г. А., Дацьк Н. А. Репродуктивные особенности гребневика *Mnemiopsis leidyi* А. Agassiz 1865 в шельфовой зоне Черного моря // *Морские биологические исследования: достижения и перспективы* : в 3-х т. : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, приуроч. к 145-летию Севастопольской биологической станции (Севастополь, 19–24 сент. 2016 г.) / под общ. ред. А. В. Гаевской. Севастополь, 2016. Т. 1. С. 317–319. [Finenko G. A., Datsyk N. A. The reproductive features of ctenophore *Mnemiopsis leidyi* in inshore zone of the Black Sea. In: *Morskie biologicheskie issledovaniya: dostizheniya i perspektivy* : v 3-kh t. : sb. materialov Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, priuroch. k 145-letiyu Sevastopol'skoi biologicheskoi stantsii (Sevastopol, 19–24 Sept., 2016) / A. V. Gaevskaya (Ed.). Sevastopol, 2016, vol. 1, pp. 317–319. (in Russ.)]
22. Цихон-Луканина Е. А., Резниченко О. Г., Лукашева Т. А. Питание гребневика-мнемиопсиса // *Рыбное хозяйство*. 1995. № 4. С. 46–47. [Tsikhon-Lukanina E. A., Reznichenko O. G., Lukasheva T. A. Pitaniye grebnevika-mnemiopsisa. *Rybnoe khozyaistvo*, 1995, no. 4, pp. 46–47. (in Russ.)]
23. Finenko G. A., Romanova Z. A., Abolmasova G. I., Anninsky B. E., Svetlichny L. S., Hubareva E. S., Bat L., Kideys A. E. Population dynamics, ingestion, growth and reproduction rates of the invader *Beroe ovata* and its impact on plankton community in Sevastopol Bay, the Black Sea. *Journal of Plankton Research*, 2003, vol. 25, iss. 5, pp. 539–549. <https://doi.org/10.1093/plankt/25.5.539>
24. Gordina A. D., Niermann U., Kideys A. E., Subbotin A. A., Artyomov Yu. G., Bingel F. State of summer ichthyoplankton in the Black Sea. In: *NATO TU-Black Sea Project: Ecosystem Modeling as a Management Tool for the Black Sea: Sympos. on Sci. Results* / L. Ivanov, T. Oguz (Eds). Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1998, pp. 367–380.
25. Gordina A. D., Zagorodnyaya Ju. A., Kideys A. E., Bat L., Satilmis H. H. Summer ichthyoplankton, food supply of fish larvae and impact of invasive ctenophores on the nutrition of fish larvae in the Black Sea during 2000 and 2001. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2005, vol. 85, pp. 537–548. <https://doi.org/10.1017/S002531540501146X>
26. *World Register of Marine Species (WoRMS)*. URL: <http://www.marinespecies.org/index.php> [accessed 22.04.2018].
27. *4 km AVHRR Pathfinder Project* / National Oceanic Atmospheric Administration. URL: <https://www.nodc.noaa.gov/SatelliteData/pathfinder4km> [accessed 22.04.2018].
28. Klimova T. N., Vdodovich I. V., Zagorodnyaya Yu. A., Ignatyev S. M., Malakhova L. V., Dotsenko V. S. Ichthyoplankton in the Plankton Community of the Crimean Peninsula Shelf Zone (Black Sea) in July 2010. *Journal of Ichthyology*, 2014, vol. 54, iss. 6, pp. 409–421. <https://doi.org/10.1134/S0032945214030060>
29. Korotaev B., Oguz T., Nikiforov A., Koblinsky C. Seasonal interannual and mesoscale variability of the Black Sea upper layer circulation derived from altimeter data. *Journal Geophysical Research: Oceans*, 2003, vol. 108, iss. C4. <https://doi.org/10.1029/2002JC001508>
30. Margalef R. Information theory in ecology. *General Systems*, 1958, vol. 3, pp. 36–71.
31. Oguz T., Latun V. S., Latif M. A., Vladimirov V. V., Sur H. I., Makarov A. A., Ozsoy E., Kotovshikov B. B., Ereemeev V., Unluata U. Circulation in the surface and intermediate layers of the Black Sea. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Paper*, 1993, vol. 40, iss. 8, pp. 1597–1612. [https://doi.org/10.1016/0967-0637\(93\)90018-X](https://doi.org/10.1016/0967-0637(93)90018-X)
32. Pielou E. C. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. *Journal Theoretical Biology*, 1966, vol. 10, iss. 2, pp. 70–83. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(66\)90133-0](https://doi.org/10.1016/0022-5193(66)90133-0)
33. Shannon C. E., Weaver W. *The Mathematical Theory of Communication*. Urbana: University of Illinois Press, 1949, 117 p.
34. Shiganova T. A., Bulgakova Yu. V., Volovik S. P., Mirzoyan Z. A., Dudkin S. I. The new invader *Beroe ovata* Mayer 1912 and its effect on the ecosystem in the northeastern Black Sea.

- Hydrobiologia*, 2001, vol. 451, iss. 1–3, pp. 187–197. <https://doi.org/10.1023/A:1011823903518>
35. Shiganova T. A., Molinero J., Sommer U., Javidpous J., Malej A., Chrestou E., Marambio M., Fuetes V., Mirseyan Z. A., Gulsahin N., Lombard F., Lilley M. K. S., Angel D. L. Adaptive strategy of the invader *Mnemiopsis leidyi* and its predators *Beroe* spp. in the Eurasian Seas. In: *Report of the Joint CIESM/ICES Workshop on Mnemiopsis Science*. Coruña, Spain, 2014, pp. 4–11.
36. Simpson E. H. Measurement of diversity. *Nature*, 1949, iss. 163, pp. 688.

SPATIAL DISTRIBUTION OF ICHTHYOPLANKTON NEAR THE CRIMEAN PENINSULA IN THE SUMMER SPAWNING SEASON 2013

T. N. Klimova¹, A. A. Subbotin¹, V. V. Melnikov², A. N. Serebrennikov², P. S. Podrezova¹

¹Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation

²Institute of Natural and Technical Systems, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: tklim@mail.ru

Data obtained in five complex cruises of RV “Professor Vodyanitsky”, carried out from May to September 2013, in the summer spawning season, are analyzed. The dynamics of ichthyoplankton species diversity and spatial distribution depending on hydrological regime peculiarities in different regions of the shelf and open waters of the Black Sea off the Crimean Peninsula is presented. Totally 17 species of fish eggs and larvae from 13 families were identified in ichthyoplankton, maximum number of species was observed in June. Average eggs and larvae numbers during the spawning season were 50.5 and 9.2 specimen per m², respectively. Maximum abundance of eggs and larvae was observed in July (109.9 and 9.2 specimen per m², respectively). Eggs and larvae of anchovy *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) dominated: their proportion in open waters in the height of the spawning season amounted 96 and 94 %, respectively. Maximum indexes of species diversity and evenness (significance of each species) were observed in May, at the beginning of spawning season, when dominant species had just started their spawning and their abundance in ichthyoplankton was comparatively low. Species richness indexes reached the maximum value in June, when maximum species number in ichthyoplankton was observed. Species composition and spatial distribution of ichthyoplankton depended on the thermohydrodynamic structure of the sea in the studied regions, and decline of jelly plankton pressing on ichthyoplankton fodder base contributed to the survival of fish larvae. The most significant factors determining the thermohydrodynamic structure of the sea in the summer spawning season 2013 were: regional peculiarities of the sea surface warming up regime in spring-summer period and its cooling in autumn hydrological season; advective contribution of surface currents (first of all, the Main Black Sea Current); wind-driven processes (upwelling and vortex dipole) in the coastal regions; local thermohaline inhomogeneities in the areas of freshened river water mixing with shelf waters in the north-western part of the Black Sea and the Sea of Azov waters at the beginning of the Kerch Strait mixing with open sea waters.

Keywords: ichthyoplankton, fish eggs and larvae, species diversity, spatial distribution, hydrological regime, cyclonic and anticyclonic eddies, upwelling, Black Sea



УДК 593.1:591.4

РАЗНООБРАЗИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТИПОВ У ГАПЛОТИПА Н4 PLASOZOA SP.

© 2019 г. Д. Ю. Романова

Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

E-mail: driaromanova@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.01.2019; после доработки 15.02.2019;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Эволюционная ветвь Пластинчатых (Placozoa) имеет большое значение для понимания происхождения и эволюции Metazoa. Представители типа Placozoa обладают простым строением тела, однако полное отсутствие органов, нервной системы и мышечных клеток резко контрастирует с достаточно сложными поведенческими реакциями, в том числе динамическими изменениями формы тела. Известно 19 гаплотипов Placozoa, включающих два вида — *Trichoplax adhaerens* (Н1) и *Hoilungia hongkongensis* (Н13) — и пока ещё малоисследованные штаммы, обозначаемые как Н2–Н19 Placozoa sp. Хотя все Placozoa имеют похожий фенотип (пластинчатую дископодобную форму тела), анализ клеточной организации был сделан только для Н1 (*Trichoplax adhaerens*) с идентификацией шести типов клеток. В этой работе мы, используя конфокальную и электронную микроскопию, исследовали организацию штамма Н4, который близок к новому роду — *Hoilungia*. У Н4 обнаружены все шесть основных типов клеток, идентифицированных ранее у Н1. Между тем мы выявили у штамма Н4 большее разнообразие клеток по форме, плотности и, впервые, по мембранному потенциалу митохондрий, чем ранее было описано для Н1. Это позволяет нам подчеркнуть важность объединения методов молекулярно-генетических исследований и микроскопии для уточнения клеточной систематики, включая параметры митохондриальной активности для классификации клеток и их состояний. Сравнительно-эволюционное изучение клеточных типов у разных экологических групп Placozoa и их сопоставление с функциями расширяют понимание того, как относительно простой организм формирует сложное поведение и как типы клеток эволюционируют.

Ключевые слова: *Trichoplax adhaerens*, *Hoilungia*, Placozoa, эволюция, типы клеток

Изучение типа Пластинчатых, или Placozoa, имеет большое значение для понимания происхождения и эволюции Metazoa в целом и возникновения нервных систем в частности [9, 15, 17, 25]. К сожалению, это один из наименее исследованных пяти мегатаксонов, или эволюционно наиболее древних линий животных, т. н. Basal Metazoa [25].

До 2018 г. считалось, что *Trichoplax adhaerens* является единственным представителем типа Placozoa [9]. Ранее были выделены 19 гаплотипов, собранных в лабораторные коллекции из тропических и субтропических вод Мирового океана [2, 8, 26]. Штаммы обозначали как Н1–Н19 по мере выделения и культивирования [5, 6, 8, 22]. В частности, Н1 относится к исходному гаплотипу, описанному Греллем в 1971 г. [10, 11, 12, 13, 14]. Штамм Н13 ранее считали одним из гаплотипов Placozoa, составляющих кладу V [8], однако более подробный анализ его генома привёл к пересмотру систематического положения. В результате клоновая линия Н13 была выделена в отдельный род *Hoilungia hongkongensis* [9]. Культивируемый нами штамм Н4 находится в одной клade с новым родом *Hoilungia* [8]; также он может быть отдельным видом, отличным от *Trichoplax adhaerens*.

По общему плану клеточного строения все штаммы похожи — уплощённая форма тела, напоминающая несимметричную пластину, а также меняющиеся длина (от 0,1 до 2–3 мм) и толщина (от 15 до 40 мкм) [1, 14, 19, 21]. Тело животных состоит примерно из 50 тысяч клеток [24], относящихся к шести основным типам, которые формируют три слоя. Нижний слой представлен вентральным эпителием и контактирующими с ним липофильными и железистыми типами клеток, верхний — дорзальным эпителием; средний слой — это волокнистый и кристаллический типы клеток [24]. По данным Серавина, у особей из природной среды дорзальный слой имеет «блестящие шары» [1]; у культивируемых штаммов они обнаружены не были [24]. Тело животных может принимать различную форму в процессе жизнедеятельности и движения — от дископодобной [11, 12, 14] до вытянутой, содержащей многочисленные инвагинации или фестончатый край [20, 23, 24]. Форма тела зависит от слаженности работы как вентрального, так и дорзального слоя [3].

Между тем по результатам, полученным при секвенировании единичных клеток, возможно предположить, что у представителей типа Placozoa может быть до 30–50 типов клеток [18]. Это расширяет круг вопросов, связанных с биологией Placozoa, поскольку объект исследования обладает сложными поведенческими реакциями и способен к половому воспроизведению [3, 4, 7]. Филогенетические отличия всех штаммов Placozoa предполагают различия в морфологии типов клеток, поведения и экологии, однако эти параметры не исследовались для штамма H4 Placozoa sp.

Метод сканирующей электронной микроскопии ранее был применён только для изучения строения штамма Грелля — H1 [24]. Основной упор исследователи делали на методы трансмиссионной электронной и лазерной сканирующей микроскопии [7, 20, 24]. В результате были получены подробные данные по морфологии основных пяти типов клеток и выявлен новый, шестой тип — кристаллический.

Задачами настоящего исследования были изучение разнообразия клеточных типов и их идентификация с помощью методов сканирующей электронной и лазерной сканирующей микроскопии для лабораторного штамма H4 Placozoa sp., принадлежащего, возможно, к роду *Hoilungia*. Все шесть основных типов клеток были найдены у H4. Мы обнаружили значительно большее разнообразие клеток по форме, плотности и, впервые, по мембранному потенциалу митохондрий у H4, чем ранее было описано для H1.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Культивация. В работе использован штамм Placozoa sp. H4 (HWH-B, штамм, найденный на Гавайях). Животных содержали при постоянной температуре (28 ± 2) °C в 20-литровом аквариуме. В качестве субстрата использовали зелёную водоросль *Tetraselmis marina* и цианобактерии *Leptolyngbya ectocarpus* и *Spirulina versicolor*. Поддержание жизнеспособности культуры животных включает замену искусственной морской воды с солёностью 35‰ (artificial sea water, далее — ASW) каждые 10 дней с сохранением значений pH в диапазоне 7,6–8,2. Перед экспериментами особей отсаживали на стерильную чашку Петри и промывали ASW трижды, затем помещали в пробирку типа Эппендорф объёмом 1,5 мл.

Лазерная сканирующая микроскопия. Для протокола прижизненного окрашивания митохондрий в пробирки с десятью особями, трижды промытыми искусственной морской водой, добавляли 40 мкл 1 mM MitoTracker Orange (Sigma, США) к 100 мкл ASW и инкубировали 25 минут. Далее особей штамма H4 фиксировали в прогревом до 41 °C 4%-ном параформальдегиде на воде ASW 1 ч, затем инкубировали в течение 16 ч при температуре 41 °C. Трижды промывали в 100 мкл 0,1 M PBS (pH 7,4) (натрий-фосфатный буфер) по 20 минут, затем — в 100 мкл PBT (натрий-фосфатный буфер) в течение 20 минут, далее — трижды в 100 мкл PBS по 5 минут. После добавляли 40 мкл 26,4 нМ фаллоидина (Alexa Fluor™ 488 Phalloidin, Thermo Fisher Scientific, США) и инкубировали в течение 40 минут. Далее образцы трижды отмывали в 100 мкл PBS по 5 минут.

Окрашивание DAPI (Carl Roth, Германия, 1:1000, 10 мкл·мл⁻¹) проводили в 100 мкл раствора PBS. Животных монтировали на предметном стекле с помощью 20 мкл ProLong™ Gold Antifade (Thermo Fisher Scientific, США).

Образцы исследовали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе Carl Zeiss Microscopy LSM 710 с объективом Plan-Apochromat 63x/1.40 Oil DIC M27 immersion lens (Zeiss, Германия). Изображения получены с помощью программного пакета ZEN (blue edition) (Zeiss, Германия). Обработка изображений проведена с использованием ZEN (blue edition), Imaris, ImageJ. Профили интенсивности построены при идентичных условиях получения изображения. Интенсивность сопоставляется с расстоянием по снимкам, что обозначается красной полосой на панелях профилей для трёх использованных красителей — DAPI, MitoTracker Orange, Alexa Fluor™ 488 Phalloidin.

Сканирующая электронная микроскопия. Животных без заметных морфологических изменений отсаживали в чашку Петри. Трижды промывали средой ASW, затем фиксировали в 2,5%-ном глютаральдегиде, приготовленном на среде ASW. Для штамма H4 на данном этапе использовали прогретый до 41 °C раствор этого же фиксатора. Затем образцы трижды промывали раствором 0,1 М PBS (pH 7,4) по 10 минут. Вторичную фиксацию проводили с использованием солевого буфера (0,9 М NaCl, 0,2 М какодилата натрия (pH 7,4), 1 % OsO₄) в течение часа. Образцы обезвоживали в серии растворов ацетона восходящей концентрации (30, 50, 70, 80, 90, 95 и 100 %), выдерживая по 5 минут в каждом. Сушку в критической точке проводили на установке CPD 030 (Balzers). Образцы исследовали на сканирующем электронном микроскопе Quanta 250 (FEI, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клетки тела животного формируют три чётко выраженных слоя — дорзальный и вентральный эпителий и заключённый между ними промежуточный средний слой, как и у *Trichoplax adhaerens* (H1) [24]. Вентральный слой представлен эпителиальными и плотно прилегающими к ним липофильными клетками (рис. 1А, С, Е). Эпителий характеризуется наличием ресничек и микроворсинок (рис. 1А, чёрные стрелочки).

Дорзальный слой тоже состоит из эпителиальных клеток (рис. 1В). Широкая поверхность клеток обращена во внешнюю среду (рис. 1В, чёрные стрелочки) и характеризуется наличием реснички (рис. 1В, белая стрелочка). Некоторые реснички вентрального (рис. 1А, Е) и дорзального (рис. 1В) слоёв имеют на своем конце утолщения различной формы, предполагаемые рецепторы, хотя здесь не исключены артефакты фиксации при приготовлении препаратов для электронной микроскопии.

Волокнистые клетки располагаются в среднем слое животного, непосредственно под дорзальным эпителием. Клетки имеют отростки, контактирующие с отростками других волокнистых клеток (рис. 1D, белая стрелочка).

У штамма H4 был найден кристаллический тип клеток. Эти клетки расположены рядами по всему телу животных (рис. 2А) (в противоположность тому, что у H1 они концентрируются в области краевого эпителия [24]).

Используя профили интенсивности флуоресценции трёх красителей, мы обнаружили различия в распределении ядер, мембранного потенциала митохондрий и актиновых волокон в клетках различных слоёв животного (рис. 3, 4). Отмеченная гетерогенность в активности мембранного потенциала митохондрий в разных слоях клеток (рис. 3А, В) предполагает использование в дальнейшем биоэнергетических параметров для более детальной классификации типов клеток у Placozoa.

Рис. 4 показывает пищеварительную полость для штамма H4 (белые звёздочки). Одна из полостей содержит четыре клетки микроводоросли *Tetraselmis marina* (рис. 4, верхний правый угол) и частично переваренные клетки (рис. 4, маленькие стрелочки). Полости не содержат ядер и актиновых филаментов и не показывают наличие мембранного потенциала митохондрий, что указывает на активное пищеварение и на повреждение микроводорослей.

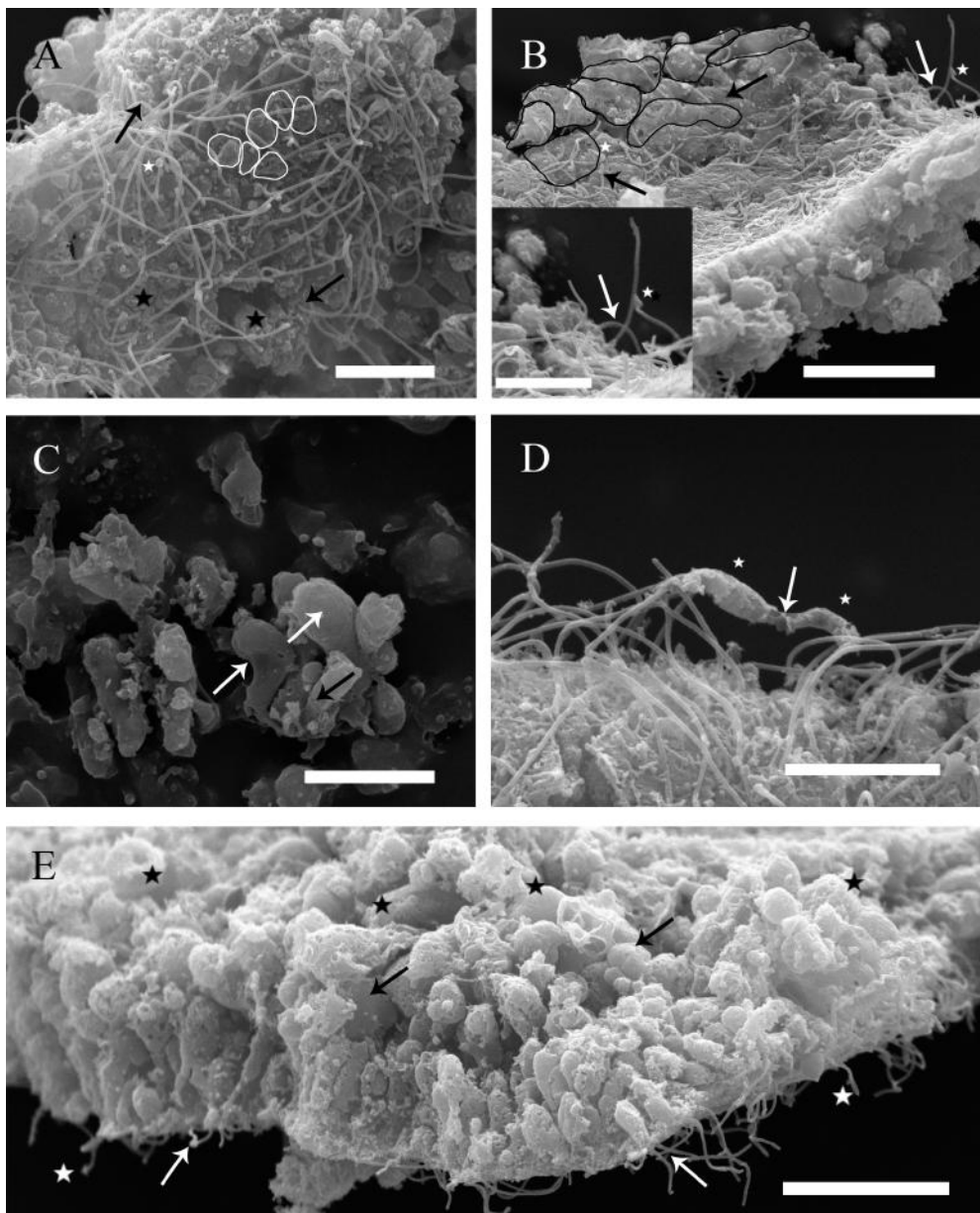


Рис. 1. Сканирующая электронная микроскопия основных типов клеток штамма H4 у Placozoa: А — внешняя поверхность вентральных эпителиальных клеток (чёрными звёздочками показаны поверхности эпителиальных клеток, чёрными стрелочками — реснички, белым цветом обведены поверхности клеток); В — дорзальные эпителиальные клетки (чёрными стрелочками показана поверхность эпителиальных клеток, белой стрелочкой — реснички, белые звёздочки показывают возможные рецепторы, чёрным цветом обведены поверхности клеток); С — липофильные клетки показаны белыми стрелочками, чёрной стрелочкой отмечены эпителиальные клетки; D — волокнистый тип клеток с отростками отмечен двумя звёздочками, десмосомальный контакт показан белой стрелочкой; E — расположение слоёв различных типов клеток от вентрального эпителия (снизу) к дорзальному (сверху), чёрными стрелочками отмечен средний слой клеток, белыми стрелочками показаны реснички, белыми звёздочками отмечены возможные рецепторы, чёрными звёздочками показаны железистые клетки. Размерные шкалы: А, D, вставка на В — 5 мкм; В, С, E — 10 мкм

Fig. 1. Scanning electron microscopy of the major cell types in H4 haplotype of Placozoa: A – ventral epithelium (black stars show the outer surface of the epithelium cells, black arrows show cilia, white circled cell surfaces); B – the upper layer of the dorsal epithelium (black arrows show the surface of epithelial cells, white arrows – cilia, black circled – cell surface); C – the lipophils are shown by white arrows, black arrow shows epithelial cells; D – two asterisks label fiber cell types with processes, desmosomal contact is shown with a white arrow; E – the overview of different cell layers (the ventral epithelium – bottom, the dorsal – top), black arrows indicate the middle layer of cells, white stars show cilia and putative receptors of ventral epithelium, black stars show gland cells. Scale bars: A, D, sidebar on B – 5 μm ; B, C, E – 10 μm

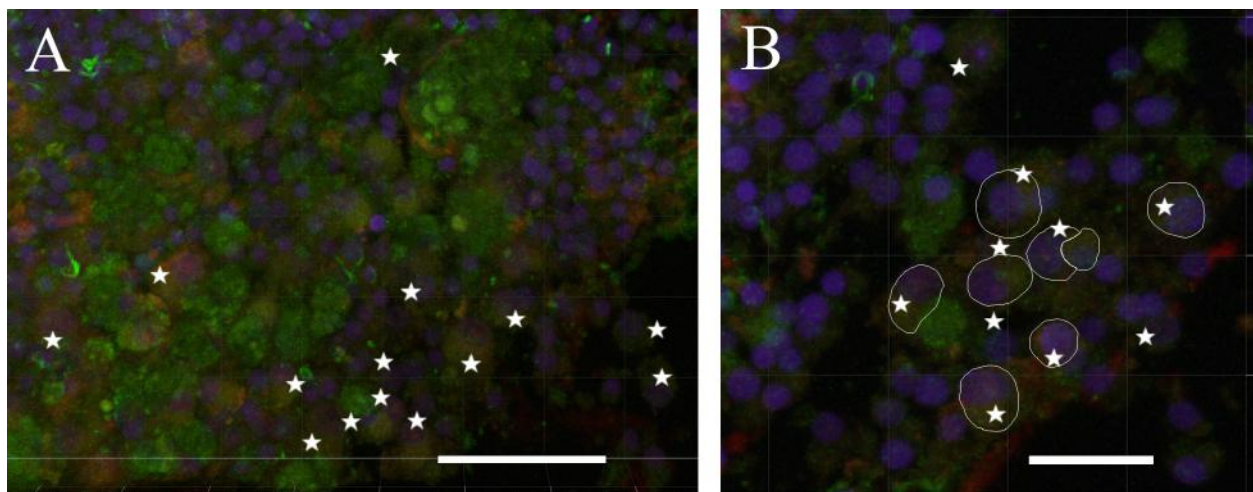


Рис. 2. Лазерная сканирующая микроскопия кристаллического типа клеток. Распределение клеток в теле животного показывает, что этот тип клеток может находиться у штамма H4 не только в зоне краевого эпителия, но и за его пределами (звёздочки — кристаллический тип клеток). Синий цвет — ядра, окрашенные DAPI; красный — митохондрии, окрашенные MitoTracker Orange; зелёный — актиновые филаменты, окрашенные Alexa Fluor™ 488 Phalloidin. Размерные шкалы: А — 20 мкм, В — 10 мкм

Fig. 2. Laser scanning microscopy of the crystal cell type. The distribution of cells in the animal body shows that this cell type was broadly distributed along the entire body of the H4 haplotype, and the crystal cells (stars) are not exclusively restricted to the marginal epithelium zone as in H1. Blue – nucleus stained by DAPI; red – mitochondria stained by MitoTracker Orange; green – actin filaments visualized by Alexa Fluor™ 488 Phalloidin. Scale bars: A – 20 μm , B – 10 μm

ОБСУЖДЕНИЕ

Эволюционная ветвь Пластинчатых имеет большое значение для понимания происхождения и эволюции Metazoa [8]. Представители типа Placozoa обладают простым строением тела (у них нет органов, нервной системы и мышечных клеток), однако демонстрируют достаточно сложные поведенческие реакции [20, 23, 24]. Известно 19 гаплотипов Placozoa, среди которых на данный момент выделены два вида: *Trichoplax adhaerens* (H1) и *Hoilungia hongkongensis* (H13). Точная систематика других гаплотипов ещё не стандартизирована, и здесь они обозначаются как Placozoa sp. [9].

Представители всех 19 штаммов Placozoa обладают практически идентичным фенотипом — пластинчатой дископодобной формой тела. В процессе поиска пищи Placozoa могут скоординированно двигаться в заданном направлении с помощью инвагинаций краевого эпителия. Каким образом, не имея мышц и нейронов, животные с помощью шести типов клеток могут организованно и синхронно передвигаться? Вентральные эпителиальные клетки вертикально вытянуты; с краевой стороны они имеют по одной ресничке и микроворсинке, которые участвуют в передвижении и питании животного [20, 23, 24].

Слои вентрального и дорзального эпителия имеют переходную морфологию в краевой зоне (форма клеток там — грушевидная) (рис. 1А, Е). Именно краевой эпителий участвует в формировании инвагинаций при движении животных (рис. 4). Важно отметить, что наличие на вентральном и дорзальном слоях некоторого количества ресничек с утолщениями позволяет предположить, что это могут быть рецепторы (рис. 1А, В, Е). И всё же не исключено, что это артефакты фиксации во время приготовления препаратов для электронной микроскопии. Данные требуют дальнейшего исследования.

Наибольший интерес представляют волокнистые клетки. Ранее было сделано предположение, что именно они участвуют в процессе изменения формы тела животного [11, 20, 23, 24]. Вероятно, координация движений возможна за счёт множества контактов отростков волокнистых клеток (рис. 1D). Между собой клетки соединены десмосомами (рис. 1D, белая стрелочка).

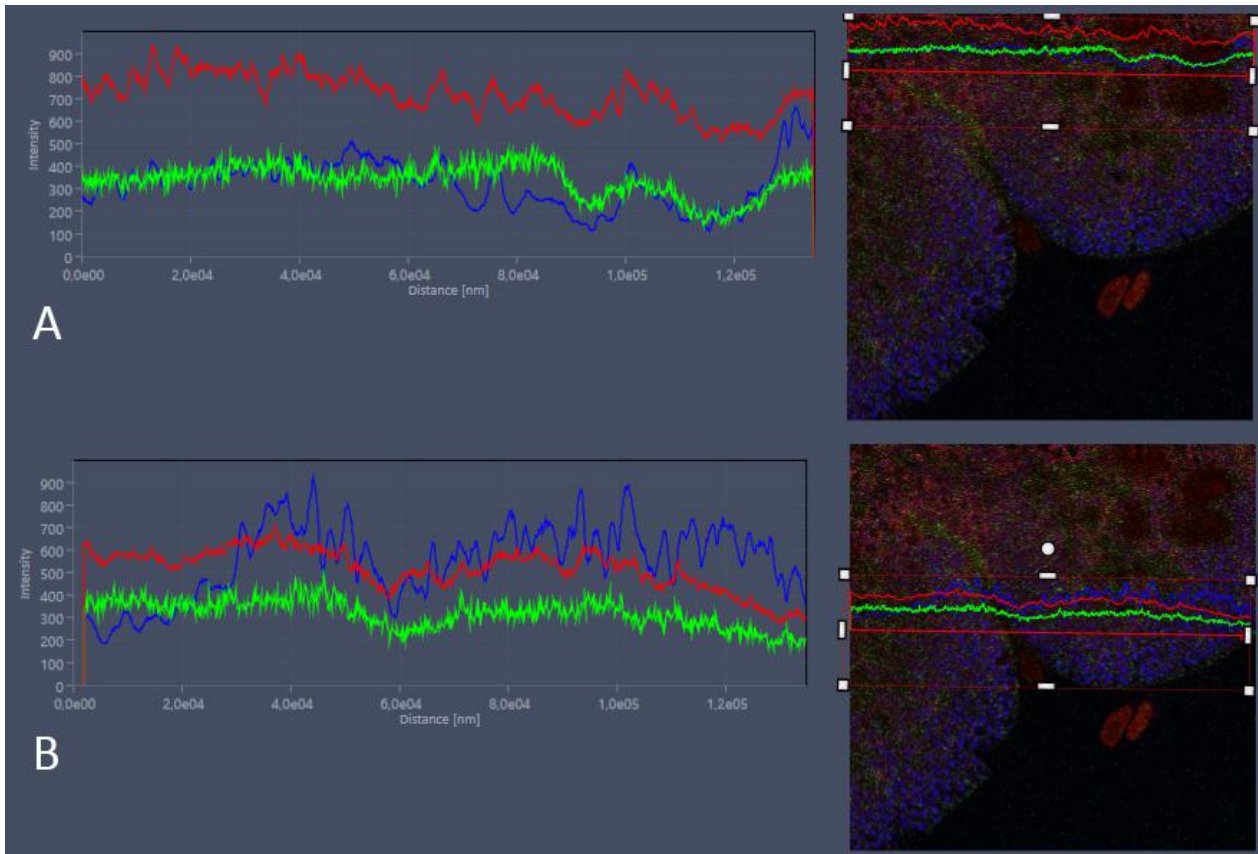


Рис. 3. Профили интенсивности флюоресценции для разных клеточных маркеров у H4 (*Placozoa* sp.). Профили интенсивности построены при идентичных условиях получения изображения. Интенсивность (ось Y) сопоставляется с расстоянием (ось X) по снимкам, что обозначено красной полосой на панелях профилей для трёх использованных красителей. Синий цвет — ядра, окрашенные DAPI; красный — митохондрии, окрашенные MitoTracker Orange; зелёный — актиновые филаменты, окрашенные Alexa Fluor™ 488 Phalloidin

Fig. 3. The intensity profiles of different fluorescent cellular markers in H4 (*Placozoa* sp.). Intensity profiles are built under identical imaging conditions. The intensity (Y-axis) is compared to the distance (X-axis) from the confocal images, which is indicated by the red stripe in the profile panels for each of the three dyes used in this study. Blue – nucleus stained by DAPI; red – mitochondria stained by MitoTracker Orange; green – actin filaments visualized by Alexa Fluor™ 488 Phalloidin

Секреторную функцию выполняют железистые клетки сферической формы (рис. 1E) с липидосодержащими гранулами, основная функция которых связана с продукцией пищеварительных ферментов и компонентов, участвующих в активации сигнальных молекул [24]. Для всех штаммов показано схожее строение железистого типа клеток. Клетки этого типа, располагающиеся в среднем слое, важны для процесса питания. У животных образуются пищеварительные полости (рис. 4), и, вероятно, с ними непосредственно контактируют железистые клетки, обеспечивая процесс пищеварения.

Новым идентифицированным типом были кристаллические клетки, найденные у штамма Грелля — H1 [24]. Их основными маркерами являются включение кристалла арагонита, плотно охваченное двумя митохондриями, расплоснутое ядро и минимальное содержание клеточных включений [16]. Майорова и соавторы предполагают, что кристаллические клетки играют роль рецепторов гравитации и участвуют в ориентации тела животного в пространстве [16]. Нами замечено, что данный тип клеток может находиться не только в краевой зоне (20 мкм), как отмечалось ранее [24], но и по всей площади дорзальной стороны животного (рис. 2A, распределение клеток показано белыми звёздочками).

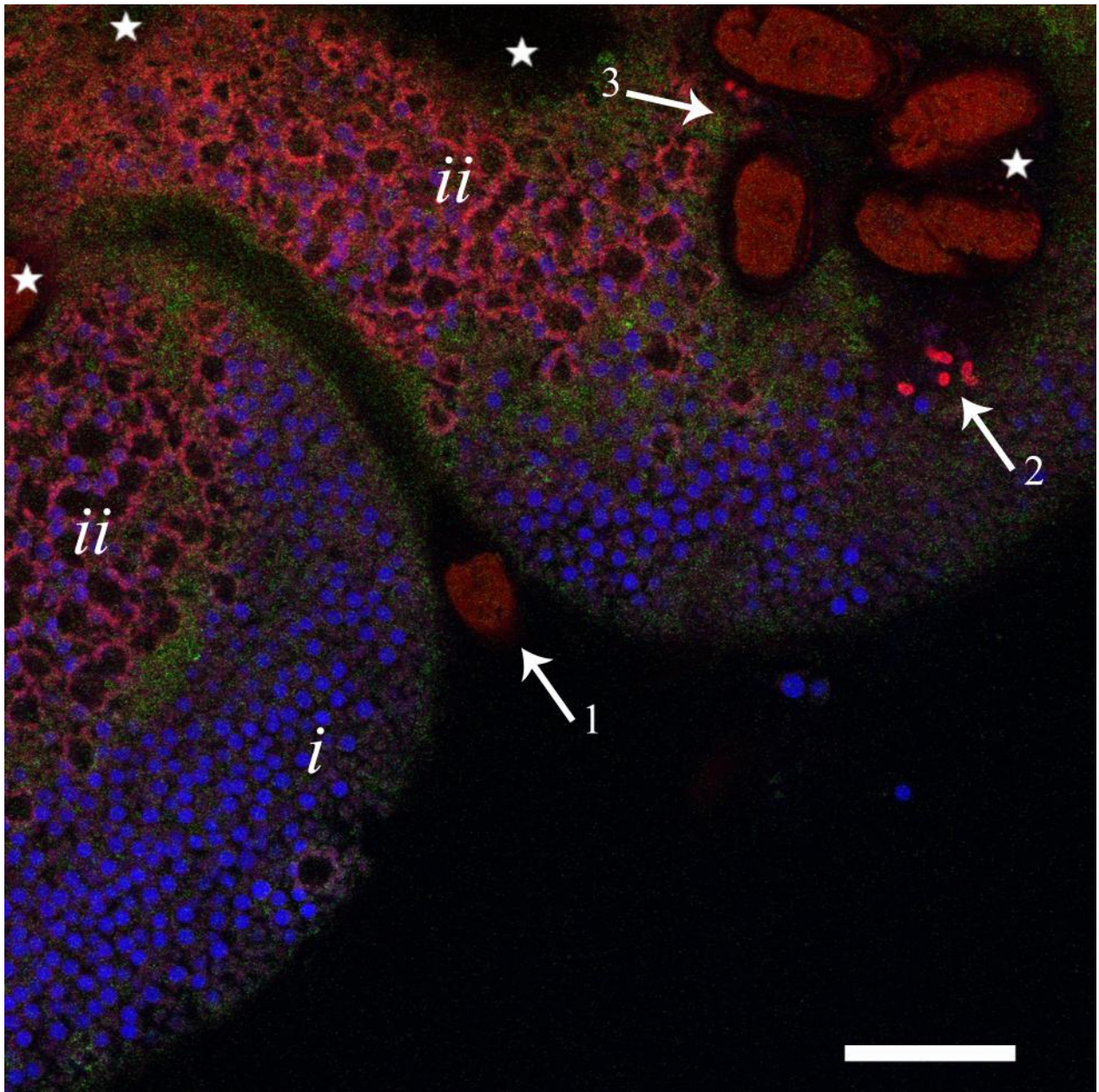


Рис. 4. Организация типов клеток Placozoa sp. (гаплотип H4), выявленная тремя красителями (ядерный DAPI — синий; MitoTracker Orange — красный; F-актин / Alexa Fluor™ 488 Phalloidin — зелёный). На фотографии заметна пищеварительная полость с *Tetraselmis marina* (белые звёздочки); некоторые из водорослей частично переварены. Стрелочки 2, 3 — возможно, митохондрии или хлоропласты из полупереваренной клетки водоросли. Стрелочка 1 указывает на *T. marina* вблизи инвагинации краевого слоя животного. Белые звёздочки указывают на пищеварительные полости. Краевой эпителиальный слой содержит множество плотно упакованных клеток с низкой интенсивностью окрашивания мито-маркера (и, возможно, с низким митохондриальным потенциалом). С помощью мито-трекера мы идентифицировали два типа клеток — эпителиальные клетки (*i*) и волокнистые клетки (*ii*). Митохондрии в волокнистых клетках локализуются на периферии, а в эпителиальных клетках находятся вблизи ядер. Размерная шкала — 20 мкм

Fig. 4. Regional organization of cell types in Placozoa sp. (H4 haplotype) as revealed by three fluorescent markers (nuclear DAPI – blue; MitoTracker Orange – red; F-actin by Alexa Fluor™ 488 Phalloidin – green). A digestive cavity with *Tetraselmis marina* is noted (white stars); some of algae are half-digested. Arrows 2, 3 – possible mitochondria or chloroplasts from semi-digested algal cells. Arrow 1 indicates *T. marina* near to invagination of the lateral edge in H4. White stars point out digestive cavities. Marginal epithelial layer contains numerous densely packed cells with low intensity of labeling of the mito-marker. Using the mito-tracker we can distinguish two types of cell – epithelial cells (*i*) and fiber cells (*ii*). Mitochondria are localized at the periphery of the fiber cells, whereas in epithelial cells mitochondria are located near the nucleus. Scale bar is 20 μm

Основные типы клеток у *Trichoplax adhaerens* (Placozoa), в том числе новый, шестой тип (кристаллические клетки для штамма Грелля), подробно описаны в [24]. Мы провели микроскопические исследования на штамме Н4 вида Placozoa sp. Анализ микрофотографий и сравнение с исследуемыми ранее штаммами Placozoa показали, что морфологически гаплотипы Н1, Н2 и Н4 по основным типам клеток не различаются. Все основные типы клеток были найдены у штамма Н4. Отметим, что гетерогенность клеток по мембранному потенциалу митохондрий была показана впервые для Placozoa. Мы также описали пищеварительные полости — без клеточных структур, но иногда с одной или несколькими клетками водорослей (рис. 4).

Заключение. В этой работе мы исследовали морфологические различия между двумя штаммами Placozoa — Н1 (*Trichoplax adhaerens*) и Н4. Ранее филогенетический анализ показал разделение всех штаммов на семь основных групп. Важно отметить, что исследуемый нами Н4 находится в одной кладе со штаммом Н13, который недавно был выделен в новый род *Hoilungia hongkongensis*.

Placozoa sp. характеризуется кажущейся простотой строения, однако в ходе исследования морфологии шести основных клеточных типов мы обнаружили значительно большее разнообразие клеток по их форме и возможной внутриклеточной активности митохондрий у Н4, чем ранее было описано для Н1. Это позволяет подчеркнуть важность объединения методов молекулярно-генетических исследований и микроскопии для уточнения клеточной систематики и для её интерпретации. Сравнительно-эволюционное изучение клеточных типов у разных экологических групп Placozoa и их сопоставление с функциями конкретных типов клеток расширяют понимание того, как относительно простой организм формирует сложное поведение и как типы клеток эволюционируют.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства РФ (грант № 14.WO3.31.0015).

Благодарность. Работы по микроскопированию выполнялись в ЦКП «Ультрамикроанализ» при ФГБУН ЛИН СО РАН (г. Иркутск) и в ЦКП «Таксон» при ЗИН РАН (г. Санкт-Петербург). Авторы благодарны В. В. Старунову (ЗИН РАН) за помощь в подготовке образцов перед микроскопированием и М. А. Никитину (НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского, МГУ, г. Москва) — за предоставление штамма Н4 Placozoa sp.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Серавин Л. Н., Гудков А. В. *Trichoplax adhaerens* (тип Placozoa) — одно из самых примитивных многоклеточных животных. Санкт-Петербург : ТЕССА, 2005. 69 с. [Seravin L. N., Gudkov A. V. *Trichoplax adhaerens* (Placozoa) — одно из самых примитивных многоклеточных животных. Sankt-Petersburg: TESSA, 2005, 69 p. (in Russ.)]
2. Aleoshin V. V., Konstantinova A. V., Nikitin M. A., Okshtein I. L. On the genetic uniformity of the genus *Trichoplax* (Placozoa). *Russian Journal of Genetics*, 2004, vol. 40, no. 12, pp. 1423–1425. <https://doi.org/10.1007/s11177-005-0015-y>
3. Armon S., Bull M., Aranda-Diaz A., Prakash M. Ultra-fast contractions and emergent dynamics in a living active matter — the epithelium of the primitive animal *Trichoplax adhaerens*. *Biophysical Journal*, 2018, vol. 114, no. 3, pp. 649a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.11.3503>
4. Belahbib H., Renard E., Santini S., Jourda C., Claverie J. M., Borchiellini C., Le Bivic A. New genomic data and analyses challenge the traditional vision of animal epithelium evolution. *BMC Genomics*, 2018, vol. 19, no. 1, pp. 393. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4715-9>
5. DeSalle R., Schierwater B. *Key Transitions in Animal Evolution* / DeSalle R., Schierwater B. (Eds). Boca Raton, FL: CRC Press, 2010, 446 p.
6. Eitel M., Schierwater B. The phylogeography of the Placozoa suggests a taxon rich phylum in tropical and subtropical waters. *Molecular Ecology*, 2010, vol. 19, no. 11, pp. 2315–2327. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04617.x>
7. Eitel M., Guidi L., Hadrys H., Balsamo M., Schierwater B. New insights into placozoan sexual reproduction and development. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 5, pp. e19639.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019639>
8. Eitel M., Osigus H.J., DeSalle R., Schierwater B. Global diversity of the Placozoa. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 4, pp. e57131. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057131>
 9. Eitel M., Francis W.R., Varoqueaux F., Daraspe J., Osigus H.J., Krebs S., Vargas S., Blum H., Williams G.A., Schierwater B., Wörheide G. Comparative genomics and the nature of placozoan species. *PLoS Biology*, 2018, vol. 16, no. 7, pp. e2005359. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005359>
 10. Grell K.G. *Trichoplax adhaerens* F.E. Schulze und die entstehung der Metazoen. *Naturwissenschaftliche Rundschau*, 1971, vol. 24, pp. 160–161.
 11. Grell K.G., Benwitz G. Die Ultrastruktur von *Trichoplax adhaerens* F.E. Schulze. *Cytobiologie*, 1971, vol. 4, pp. 216–240.
 12. Grell K.G. Eibildung und furchung von *Trichoplax adhaerens* F.E. Schulze (Placozoa). *Zoomorphology*, 1972, vol. 73, no. 4, pp. 297–314. <https://doi.org/10.1007/BF00391925>
 13. Grell K.G., Benwitz G. Elektronenmikroskopische beobachtungen über das wachstum der eizelle und die bildung der „befruchtungsmembran“ von *Trichoplax adhaerens* F.E. Schulze (Placozoa). *Zoomorphology*, 1974, vol. 79, no. 4, pp. 295–310. <https://doi.org/10.1007/BF00277511>
 14. Grell K.G., Ruthmann A. Placozoa. In: *Microscopic Anatomy of Invertebrates* / F. W. Harrison and J. A. Westfall (Eds). New York: Wiley-Liss, 1991, pp. 13–27.
 15. Laumer C.E., Gruber-Vodicka H., Hadfield M.G., Pearse V.B., Riesgo A., Marioni J.C., Giribet G. Support for a clade of Placozoa and Cnidaria in genes with minimal compositional bias. *eLife*, 2018, vol. 7, pp. e36278. <https://doi.org/10.7554/eLife.36278>
 16. Mayorova T.D., Smith C.L., Hammar K., Winters C.A., Pivovarova N.B., Aronova M.A., Leapman R.D., Reese T.S. Cells containing aragonite crystals mediate responses to gravity in *Trichoplax adhaerens* (Placozoa), an animal lacking neurons and synapses. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 1, pp. e0190905. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190905>
 17. Moroz L.L. The genealogy of genealogy of neurons. *Communicative & Integrative Biology*, 2014, vol. 7, no. 6, pp. e993269. <https://doi.org/10.4161/19420889.2014.993269>
 18. Moroz L.L. NeuroSystematics and Periodic System of Neurons: Model vs Reference Species at Single-Cell Resolution. *ACS Chemical Neuroscience*, 2018, vol. 9, pp. 1884–1903. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00100>
 19. Schierwater B. My favorite animal, *Trichoplax adhaerens*. *BioEssays*, 2005, vol. 27, pp. 1294–1302. <https://doi.org/10.1002/bies.20320>
 20. Schierwater B., De Salle R. Placozoa. *Current Biology*, 2018, vol. 28, iss. 3, pp. R97–R98.
 21. Schulze F.E. *Trichoplax adhaerens*, nov. gen., nov. spec. *Zoologischer Anzeiger*, 1883, vol. 6, pp. 92–97.
 22. Signorovitch A.Y., Dellaporta S.L., Buss L.W. Caribbean placozoan phylogeography. *Biological Bulletin*, 2006, vol. 211, iss. 2, pp. 149–156. <https://doi.org/10.2307/4134589>
 23. Smith C.L., Pivovarova N., Reese T.S. Coordinated feeding behavior in *Trichoplax*, an animal without synapses. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 9, pp. e0136098. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136098>
 24. Smith C.L., Varoqueaux F., Kittelmann M., Azam R.N., Cooper B., Winters C.A., Eitel M., Fasshauer D., Reese T.S. Novel cell types, neurosecretory cells, and body plan of the early-diverging metazoan *Trichoplax adhaerens*. *Current Biology*, 2014, vol. 24, no. 14, pp. 1565–1572. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.046>
 25. Telford M.J., Moroz L.L., Halanych K.M. Evolution: A sisterly dispute. *Nature*, 2016, vol. 529, no. 7586, pp. 286. <http://doi.org/10.1038/529286a>
 26. Voigt O., Collins A.G., Pearse V.B., Pearse J.S., Ender A., Hadrys H., Schierwater B. Placozoa – no longer a phylum of one. *Current Biology*, 2004, vol. 14, iss. 22, pp. R944–R945. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.10.036>

CELL TYPES DIVERSITY OF H4 HAPLOTYPE PLACOZOA SP.**D. Y. Romanova**

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: driaromanova@yandex.ru

Placozoa is one of the five basal metazoan lineages critical for our understanding of animal evolution in general, and the origin of neuromuscular organization in particular. All Placozoa have the simplest known animal body plan, without neurons and muscles, but relatively complex behaviors. Totally 19 haplotypes of placozoans have been identified including two genera, *Trichoplax adhaerens* (H1) and *Hoilungia hongkongensis* (H13), plus a number of less characterized ecological groups also known as H2–H19 Placozoa sp. However, microscopic anatomy had been characterized for H1 (*Trichoplax adhaerens*) only. Here, using scanning and confocal microscopy, we described morphological organization of H4, the haplotype similar to *Hoilungia*. All six basal morphological cell types have been found in H4. Nevertheless, we recognized a greater heterogeneity of cell populations (in their shape, density, mitochondrial distribution and activity) than described elsewhere for H1. This study expands our knowledge about the biology of these enigmatic groups of marine organisms.

Keywords: *Trichoplax adhaerens*, *Hoilungia*, Placozoa, evolution, cell types



УДК 595.32:591.13(262.5)

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ РАЗМЕРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК И ВЫЖИВАЕМОСТИ
НАУПЛИУСОВ КРЫМСКИХ АРТЕМИЙ
ARTEMIA SPP. (BRANCHIOPODA: ANOSTRACA)
ПРИ ПИТАНИИ МИКРОВОДОРОСЛЯМИ РАЗНЫХ ВИДОВ**

© 2019 г. Д. Ю. Смирнов, Л. О. Аганесова, А. Н. Ханайченко

Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

E-mail: mitsmirnov@gmail.com

Поступила в редакцию 30.03.2018; после доработки 06.06.2018;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Науплиусы жаброногих рачков *Artemia* spp. (Branchiopoda: Anostraca) — один из основных видов живых кормов, применяемых при культивировании личинок морских рыб. Для улучшения биохимического состава артемий их насыщают специализированными искусственными смесями или микроводорослями, содержащими незаменимые для личинок рыб компоненты. Размеры, скорость роста и выживаемость науплиусов (N) и метанауплиусов (MN) артемий могут иметь большое значение при их использовании в качестве живого корма. Цель настоящей работы — выполнить сравнительный анализ размерных характеристик и выживаемости науплиусов крымских артемий производства компании Artemia cysts при питании разными видами микроводорослей. Науплиусы артемий получили в соответствии с общепринятой методикой. В качестве корма использовали следующие виды микроводорослей: *Isochrysis galbana*, *Prorocentrum micans*, *Gymnodinium wulfii*, *Prorocentrum cordatum*, *Tetraselmis suecica*, *Phaeodactylum tricornerutum*. Средний диаметр сухих цист артемий составил 0,230 мм. Средние значения длины и ширины ортонауплиусов артемий — 0,473 и 0,150 мм соответственно. Односуточные MN, питавшиеся *T. suecica*, имели достоверно меньшие средние значения длины [(0,698 ± 0,014) мм], чем MN, питавшиеся *I. galbana*, *P. micans*, *G. wulfii* и *Ph. tricornerutum* ($P < 0,05$). Двух- и трёхсуточные MN, питавшиеся *I. galbana*, имели достоверно большие средние значения длины и ширины (двухсуточные — 1,19 и 0,324 мм; трёхсуточные — 1,53 и 0,47 мм соответственно), чем MN, питавшиеся *Ph. tricornerutum*, *T. suecica*, *P. micans* и *P. cordatum*. Среди всех метанауплиусов, насыщавшихся микроводорослями, минимальные средние значения длины имели MN, питавшиеся *P. cordatum*. Выживаемость метанауплиусов при насыщении *P. cordatum*, *P. micans* и *T. suecica* была максимальной (выше 95%). Сочетание небольших размеров и высокой выживаемости метанауплиусов, питавшихся *P. cordatum* (микроводоросль со значительным содержанием докозагексаеновой и эйкозапентаеновой кислот), предполагает их использование в качестве перспективного живого корма для личинок морских рыб.

Ключевые слова: артемия, цисты, метанауплиусы, микроводоросли, размеры, выживаемость, аквакультура, Крым

В технологическом процессе разведения большинства морских рыб одним из обязательных звеньев является выращивание живых кормов. По ряду причин биологического характера (малый размер рта, слабо выраженный охотничий инстинкт и др.) личинки многих видов морских рыб, выращиваемых и перспективных для марикультуры, на ранних стадиях своего развития не могут употреблять инертные (искусственные) корма, а питаются только живыми организмами.

Жаброногие ракообразные рода *Artemia* Leach, 1819 (Branchiopoda: Anostraca) широко распространены в ультрагалинных водных системах (озёра, лиманы), в том числе на Крымском

полуострове [21]. Благодаря малым размерам, мягкому и тонкому наружному скелету, а также высокому содержанию белка и липидов [9], науплиусы, или ортонауплиусы (далее — N), и метанауплиусы (далее — MN) артемий активно используются в аквакультуре в качестве живого корма личинок морских рыб (камбала, палтус, дорада, лаврак и многие другие). Между тем в составе артемии отсутствуют некоторые эссенциальные компоненты, в частности высоконенасыщенные жирные кислоты — эйкозапентаеновая (далее — ЭПК) и докозагексаеновая (далее — ДГК) [13], которые не синтезируются в организме личинок [24], но необходимы для их нормального развития.

Ортонауплиусы используют для роста собственные энергетические ресурсы [23], так как их рот и анус ещё закрыты, пищеварительная система не функционирует. Спустя 8–12 ч после первой линьки у личинок артемий (MN I) начинает функционировать пищеварительный тракт и появляется возможность отфильтровывать частицы размером 1–40 мкм [4]. Повышение питательной ценности артемии возможно только начиная со стадии MN. В марикультурной практике оно осуществляется с помощью метода обогащения (биоинкапсуляции) высоконенасыщенных жирных кислот в составе искусственных эмульсий [13, 15, 22], хотя применение последних приводит к загрязнению среды выращивания и к появлению проблем с пищеварением личинок. Для модификации состава MN артемий можно использовать и морские микроводоросли: некоторые из них способны синтезировать и аккумулировать значительное количество высоконенасыщенных жирных кислот [17, 25]. К таким микроводорослям относятся часто применяемые в аквакультуре и экспериментальных исследованиях для кормления и насыщения живых кормов *Isochrysis galbana* Parke, 1949, *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, 1897 и *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher, 1959, а также ряд видов динофлагеллят (*Prorocentrum micans* Ehrenberg, 1834, *Prorocentrum cordatum* (Ostenfeld) J. D. Dodge, 1975, *Gymnodinium wulfii* J. Schiller, 1933). Последние содержат значительное количество ЭПК и ДГК, ранее не применявшихся для насыщения артемий, но успешно использованных для кормления и культивирования разных видов копепод [1, 5, 6, 19] и насыщения коловраток [12]. Отдельные виды динофлагеллят (*Dinophysis acuminata* Claparède & Lachmann, 1859) могут быть токсичными при массовом цветении и разложении органической массы [11], однако наши предварительные эксперименты показали отсутствие токсичности используемых в экспериментах видов динофлагеллят при их концентрации в среде до 10^4 кл·мл⁻¹ как для питающихся ими артемий, так и для личинок рыб, которые питаются артемиями.

Цель настоящей работы — выполнить сравнительный анализ размерных характеристик и выживаемости науплиусов крымских артемий при питании разными видами микроводорослей для определения возможности их применения в качестве живых кормов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для получения науплиев артемий в экспериментальных исследованиях использовали промышленно законсервированные цисты артемий (из крымских солёных озёр в районе г. Саки; производство компании Artemia cysts). В связи с тем что видовая принадлежность данных артемий (очевидно, *Artemia parthenogenetica* Bowen & Sterling, 1978) не подтверждена генетическими исследованиями, в дальнейшем употребляется термин «артемия». Перед декапсуляцией сухие цисты артемии были гидратированы путём помещения их в холодную дистиллированную воду на 1 ч. В качестве декапсулирующего раствора использовали бытовой химический препарат «Белизна» (изготовлен на основе гипохлорита натрия), добавляемый к пресной воде в соотношении 1 : 1. Декапсуляцию цист проводили в стакане под визуальным контролем (при сжигании наружной оболочки они становились желтовато-серыми) до появления розовато-оранжевого цвета; состояние обрабатываемых цист отслеживали под бинокуляром [23]. После тщательного промывания пресной водой декапсулированные цисты артемий инкубировали при температуре 28 °С в сосудах с подготовленной морской водой (прошедшая грубую очистку, отстаивная, затем механически очищенная последовательной

фильтрацией через картриджные фильтры с размером пор 10, 5 и 1 мкм и стерилизованная с помощью ультрафиолета), при постоянной аэрации и круглосуточном искусственном освещении.

Производили последовательные измерения диаметра сухих, гидратированных и декапсулированных цист. Во время пика выклева (через 19–20 ч после начала инкубации) науплиусы измерили и разделили на семь групп (в двух повторностях), в шесть из которых добавили монокультуры микроводорослей. Седьмая группа — контрольная. В экспериментах использовали микроводоросли Prymnesiophyceae (*Isochrysis galbana*); Dinophyceae (*Prorocentrum micans*, *Gymnodinium wulfii*, *Prorocentrum cordatum*); Chlorodendrophyceae (*Tetraselmis suecica*); Bacillariophyceae (*Phaeodactylum tricorutum*), полученные из лабораторных моновидовых накопительных культур, которые были выращены на основе стерилизованной черноморской воды (солёность — 18‰), обогащённой средой Уолна [7]. Плотность микроводорослей в экспериментах с насыщением артемий поддерживали на уровне 0,02–0,08 мг сух. массы на мл. В течение трёх суток после выклева исследовали размерные характеристики и выживаемость MN артемий, насыщенных разными видами микроводорослей. Измерение организмов (25 штук для каждой повторности) и определение их выживаемости (подсчёт живых науплиусов в каждой повторности) проводили под бинокляром при увеличении 2×8, 4×8. Достоверность различий между средними значениями определяли по *t*-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний диаметр сухих цист крымских артемий — $(0,230 \pm 0,007)$ мм, гидратированных — $(0,253 \pm 0,007)$ мм, декапсулированных — $(0,230 \pm 0,007)$ мм (табл. 1). Значения коэффициентов вариации (*CV*) по размерам цист практически не отличались, составляя от 6,42 до 8,00 %. Отмечены достоверные различия между средними размерами сухих цист и гидратированных, а также между размерами гидратированных цист и декапсулированных ($P < 0,05$).

Таблица 1. Диаметр цист крымских (г. Саки) артемий до и после декапсуляции (*CI*, 95 %)

Table 1. Diameter of the cysts of the Crimean (Saki) brine shrimp before and after decapsulation (*CI*, 95 %)

Цисты	Количество измерений	Диаметр цист, мм	Коэффициент вариации <i>CV</i> , %
Сухие	25	$0,230 \pm 0,007$	7,69
Гидратированные	25	$0,253 \pm 0,007$	6,42
Декапсулированные	25	$0,230 \pm 0,007$	8,00

Средние размеры ортонауплиусов крымских артемий — длина $(0,473 \pm 0,011)$ мм и ширина $(0,150 \pm 0,005)$ мм — характеризовались такой же низкой вариабельностью (5,89 и 9,62 % соответственно), как и размеры цист (табл. 2).

Спустя 8 ч артемии переходили на стадию метанауплиусов и сразу же после открытия пищеварительного тракта начинали питаться. Выявлены достоверные различия ($P < 0,05$) между средними значениями длины односуточных MN, питавшихся предложенными видами микроводорослей, и MN контрольной группы (табл. 2). При сравнении средних значений ширины достоверные различия между метанауплиусами, питавшимися микроводорослями *T. suecica* и *P. cordatum*, и MN контрольной группы отсутствовали ($P > 0,1$). При этом метанауплиусы, питавшиеся *T. suecica*, имели достоверно меньшие средние значения длины, чем метанауплиусы, потреблявшие *I. galbana*, *P. micans*, *G. wulfii* и *Ph. tricorutum*. Средние значения ширины метанауплиусов, питавшихся *T. suecica*, были достоверно меньше тех же значений у метанауплиусов, потреблявших *I. galbana*, *G. wulfii* и *Ph. tricorutum*. При питании мелкоразмерными *I. galbana* и крупноразмерными микроводорослями *P. micans*, *G. wulfii* и *Ph. tricorutum* средние значения длины и ширины односуточных метанауплиусов достоверно не различались.

Таблица 2. Морфометрические показатели науплиев и односуточных метанауплиев крымских (г. Саки) артемий при питании разными видами микроводорослей (CI, 95 %)

Table 2. Morphometry of the nauplii and 1-day old metanauplii of the Crimean (Saki) brine shrimp fed on different species of microalgae (CI, 95 %)

Стадия развития	Длина, мм	CV, %	Ширина, мм	CV, %
Ортонауплиусы	0,473 ± 0,011	5,89	0,150 ± 0,006	9,62
MN, без корма	0,625 ± 0,028	11,14	0,147 ± 0,005	8,95
MN, <i>I. galbana</i>	0,788 ± 0,032	10,08	0,178 ± 0,009	12,53
MN, <i>P. micans</i>	0,757 ± 0,024	7,94	0,164 ± 0,006	8,89
MN, <i>G. wulfii</i>	0,770 ± 0,021	6,69	0,177 ± 0,005	7,74
MN, <i>P. cordatum</i>	0,693 ± 0,020	7,32	0,164 ± 0,008	11,71
MN, <i>Ph. tricornutum</i>	0,746 ± 0,018	5,94	0,182 ± 0,005	6,29
MN, <i>T. suesica</i>	0,698 ± 0,014	5,17	0,157 ± 0,005	7,24

На вторые сутки после перехода науплиусов на метанауплиальную стадию MN, питавшиеся *I. galbana* и *G. wulfii*, имели достоверно бóльшие средние значения длины и ширины тела, чем метанауплиусы, потреблявшие *T. suesica* и *P. cordatum* (рис. 1, 2). Кроме того, особи, питавшиеся *P. cordatum*, на вторые сутки отличались достоверно меньшими размерами от метанауплиусов, кормившихся *P. micans* и *Ph. tricornutum*. На третьи сутки MN, питавшиеся *I. galbana*, имели достоверно бóльшие размеры, чем особи, насыщенные другими видами микроводорослей (рис. 1, 2). Достоверно меньшими средними значениями длины на третьи сутки характеризовались метанауплиусы, питавшиеся *P. cordatum*. Средние значения ширины MN, питавшихся *P. cordatum*, на третьи сутки достоверно не отличались от значений метанауплиусов, кормившихся *Ph. tricornutum* и *T. suesica*.

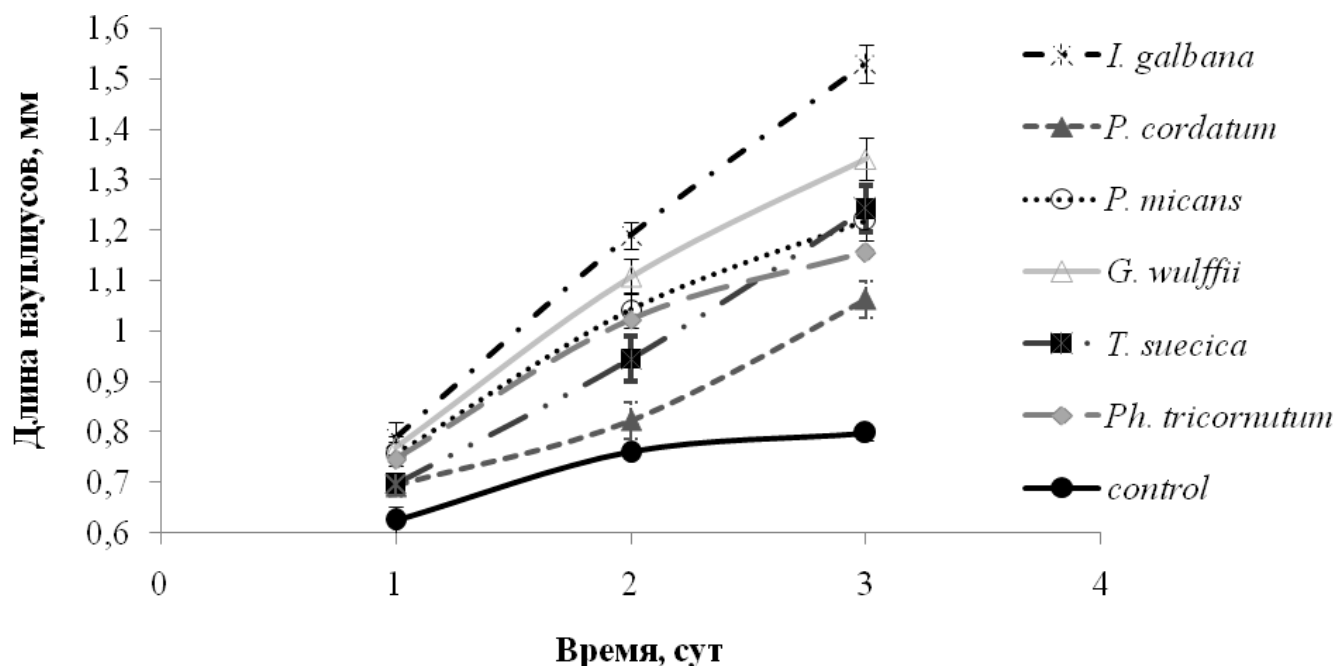


Рис. 1. Изменения длины метанауплиусов крымских (г. Саки) артемий через 1–3 суток после начала питания разными видами микроводорослей (CI, 95 %)

Fig. 1. Changes in the length of metanauplii of the Crimean (Saki) brine shrimp 1–3 days after start of feeding on different species of microalgae (CI, 95 %)

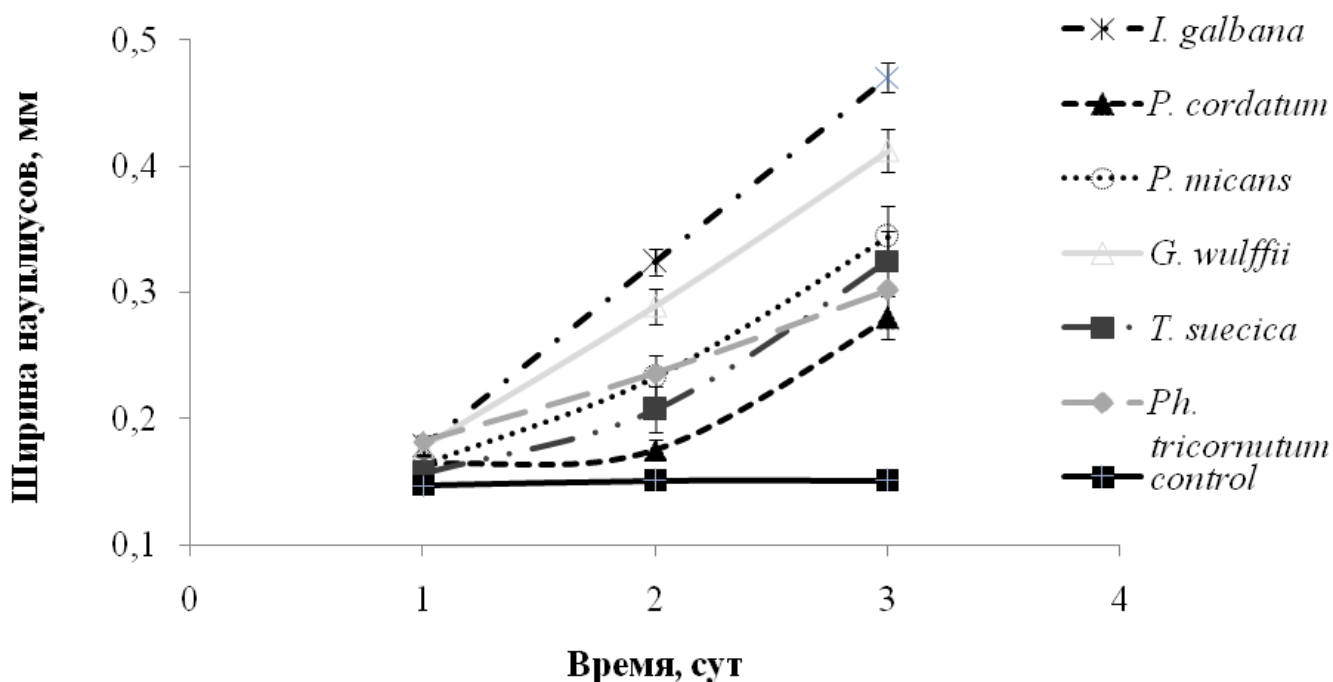


Рис. 2. Изменения ширины метанауплиусов крымских (г. Саки) артемий через 1–3 суток после начала питания разными видами микроводорослей (CI, 95 %)

Fig. 2. Changes in the width of metanauplii of the Crimean (Saki) brine shrimp 1–3 days after start of feeding on different species of microalgae (CI, 95 %)

Среднее значение выживаемости односуточных метанауплиусов, питавшихся *Ph. tricornutum*, по сравнению с таковым MN, потреблявших другие микроводоросли, было достоверно ниже и не отличалось от значения контрольной группы (рис. 3). Метанауплиусы артемий, питавшиеся *P. cordatum* и *T. suecica*, на вторые и третьи сутки имели достоверно более высокий процент выживания ($P < 0,05$), чем MN, насыщенные *I. galbana*. При этом их показатели выживаемости не отличались от показателей метанауплиусов, кормившихся *P. micans*, *G. wulfii*, *Ph. tricornutum*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Размерные характеристики сухих цист артемий из крымских солёных озёр (производство компании Artemia cysts) близки к таковым цист партеногенетических артемий (*Artemia* spp.) из разных популяций, собранных в водоёмах Алтая (Россия) и острова Лесбос (Греция), а также в озере Аиби (Китай) [2]. Средний диаметр сухих цист партеногенетических артемий варьирует от 0,230 мм (Алтай и о. Лесбос) до 0,239 мм (озеро Аиби) [2]. По нашим данным, диаметр сухих цист крымских артемий составил 0,230 мм. По такому параметру, как среднее значение длины, ортонауплиусы крымских артемий [(0,473 ± 0,011) мм] крупнее ортонауплиусов артемий из алтайских популяций (0,450 мм), но мельче ортонауплиусов артемий из озера Аиби (0,483 мм) и из популяций артемий водоёмов о. Лесбос (0,494 мм) [3].

Для личинок морских рыб, которые имеют очень маленькие размеры рта и проглатывают свою жертву за одно схватывание, размер науплиусов имеет ключевое значение. Личинки, которым предлагают слишком крупных науплиусов артемии, могут голодать, поскольку не способны проглотить добычу. Описана, в частности, высокая степень корреляции между длиной науплиусов артемии и смертностью личинок одного вида морской атерины — *Menidia menidia* (Linnaeus, 1766) [15]. Для ранних личинок тюрбо [*Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758)] рекомендуется использовать одновременно с коловратками науплиусов артемии шириной 0,144 мм (с увеличением до 0,225 мм на 10-й день) [8]. Полученные нами средние значения ширины науплиусов составляли

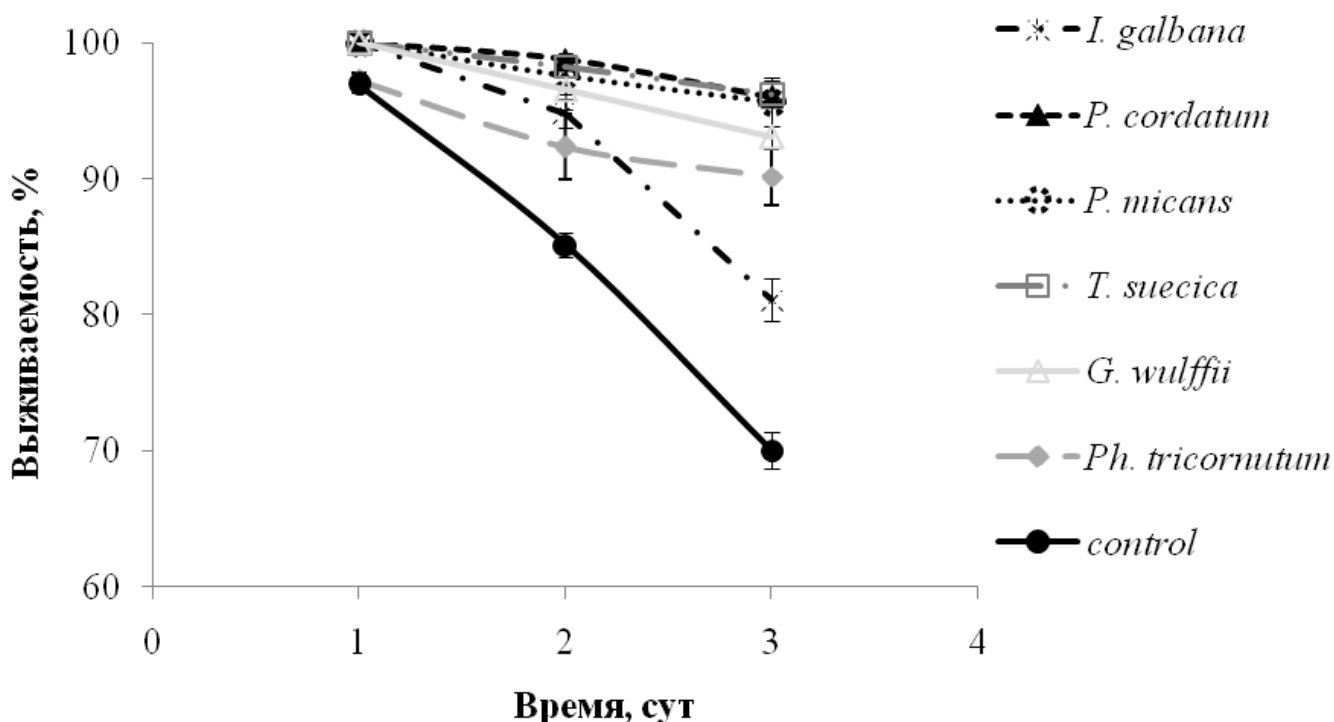


Рис. 3. Выживаемость метанауплиусов крымских (г. Саки) артемий через 1–3 суток после начала питания разными видами микроводорослей (CI, 95 %)

Fig. 3. Survival of metanauplii of the Crimean (Saki) brine shrimp 1–3 days after start of feeding on different species of microalgae (CI, 95 %)

0,150 мм, а таковые односуточных метанауплиусов варьировали в зависимости от предложенного им вида микроводорослей от 0,157 до 0,178 мм. Средние значения ширины двухсуточных метанауплиусов при насыщении их микроводорослями *I. galbana* и *G. wulfii* составили $(0,324 \pm 0,011)$ и $(0,289 \pm 0,014)$ мм соответственно. Такие параметры метанауплиусов снижают возможность их поимки личинками рыб с небольшими размерами рта, а значит, их не рекомендуется использовать для кормления личинок на ранних стадиях развития. Напротив, двухсуточные метанауплиусы, питавшиеся *P. cordatum* и *T. suecica*, отличались не только достоверно меньшими средними значениями ширины [$(0,175 \pm 0,008)$ и $(0,207 \pm 0,018)$ мм], но и достоверно более высокой выживаемостью [$(98,76 \pm 0,5)$ и $(98,26 \pm 0,68)$ %], от метанауплиусов, насыщенных *I. galbana* [$(94,83 \pm 1,05)$ %]. Ранее также было показано, что метанауплиусы артемий, питавшиеся *T. suecica*, характеризовались меньшими размерами и лучшей выживаемостью [16]. Несмотря на то что в жирнокислотном составе *T. suecica* много ЭПК [10], насыщенные ими науплиусы оказываются дефицитными по ДГК. Напротив, среди использованных в наших экспериментах видов микроводорослей наиболее высокое содержание ДГК определено у *P. cordatum* — 20 % [14, 20] — и у *I. galbana* — не менее 16 % [18]. При кормлении личинок рыб на ранних стадиях их развития необходимы живые корма минимальных размеров [9]; полученные нами экспериментальные результаты как по размерным характеристикам, так и по показателям выживаемости метанауплиусов крымских артемий при питании *P. cordatum* позволяют рекомендовать кормление ими личинок рыб. Мы предполагаем, что использование *P. cordatum* даст возможность повысить содержание ДГК, необходимой для роста и нормального развития рыб, но отсутствующей в составе артемий, а небольшие размеры метанауплиусов поспособствуют более эффективному схватыванию их личинками рыб [15].

Выводы:

1. Метанауплиусы I стадии развития, питавшиеся *T. suesica*, достоверно отличались меньшими средними значениями длины [(0,698 ± 0,014) мм] от метанауплиусов, питавшихся *I. galbana*, *P. micans*, *G. wulfii* и *Ph. tricornutum* ($P < 0,05$). Метанауплиусы, насыщенные *P. cordatum*, достоверно характеризовались минимальными средними значениями длины на вторые и третьи сутки — (0,823 ± 0,036) и (1,063 ± 0,036) мм.
2. Двухсуточные и трёхсуточные метанауплиусы, питавшиеся *I. galbana*, имели достоверно большие средние значения длины и ширины [(1,19 ± 0,027) и (0,324 ± 0,011) мм, (1,53 ± 0,038) и (0,47 ± 0,027) мм соответственно], чем метанауплиусы, питавшиеся *Ph. tricornutum*, *T. suesica*, *P. micans* и *P. cordatum*.
3. Выживаемость метанауплиусов при питании всеми предложенными видами микроводорослей с первых по третьи сутки была достаточно высокой (> 80 %).
4. Выживаемость метанауплиусов с первых по третьи сутки при питании *P. cordatum*, *P. micans* и *T. suesica* достигала максимального значения (выше 95 %).
5. Метанауплиусы артемий, питающиеся *P. cordatum*, могут быть рекомендованы в качестве экспериментального живого корма для личинок морских рыб.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации АААА-А18-118021350003-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Аганесова Л. О. Выживаемость и длительность развития копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Arctodiaptomus salinus* в зависимости от питания микроводорослями разных таксономических групп // *Морской экологический журнал*. 2011. Т. 10, № 2. С. 27–33. [Aganesova L. O. Survival and development times of the copepods *Calanipeda aquaedulcis* and *Arctodiaptomus salinus* depending on feeding microalgae of different taxonomic groups. *Morskoy ekologicheskij zhurnal*, 2011, vol. 10, no. 2, pp. 27–33. (in Russ.)]
2. Голубев А. П., Шевцова С. Н. Биометрическая характеристика размеров цист в популяциях жаброногих раков рода *Artemia* с разной плоидностью // *Сахаровские чтения 2006 года: экологические проблемы XXI века* : материалы 6-ой Междунар. науч. конф., Минск, 18–19 мая 2006 г. Минск, 2006. С. 300–303. [Golubev A. P., Shevtsova S. N. Biometricheskaya kharakteristika razmerov tsist v populyatsiyakh zhabronogikh rakov roda *Artemia* s raznoi ploidnost'yu. In: *Sakharovskie chteniya 2006 goda: ekologicheskie problemy XXI veka* : materialy 6-oi Mezhdunar. nauch. konf., Minsk, 18–19 May, 2006. Minsk, 2006, pp. 300–303. (in Russ.)]
3. Голубев А. П., Шевцова С. Н. Морфометрическая характеристика яиц и науплисов из партеногенетических и двуполых популяций жаброногих раков рода *Artemia* // *Сахаровские чтения 2005 года: экологические проблемы XXI века* : материалы 5-ой Междунар. науч. конф., Минск, 20–21 мая 2005 г. Минск, 2005. С. 193–194. [Golubev A. P., Shevtsova S. N. Morfometricheskaya kharakteristika yaits i nauplisov iz partenogeneticheskikh i dvupolykh populyatsii zhabronogikh rakov roda *Artemia*. In: *Sakharovskie chteniya 2005 goda: ekologicheskie problemy XXI veka* : materialy 5-oi Mezhdunar. nauch. konf., Minsk, 20–21 May, 2005. Minsk, 2005, pp. 193–194. (in Russ.)]
4. Литвиненко Л. И., Литвиненко А. И., Бойко Е. Г. *Артемия в озерах Западной Сибири*. Новосибирск : Наука, 2009. 304 с. [Litvinenko L. I., Litvinenko A. I., Boiko E. G. *Artemiya v ozerakh Zapadnoi Sibiri*. Novosibirsk: Nauka, 2009. 304 p. (in Russ.)]
5. Петипа Т. С. *Трофодинамика копепод в морских планктонных сообществах*. Киев : Наукова думка, 1981. 245 с. [Petipa T. S. *Trofodinamika kopepod v morskikh planktonnykh soobshchestvakh*. Kiev: Naukova dumka, 1981, 245 p. (in Russ.)]
6. Ханайченко А. Н. Влияние микроводорослевой диеты на характеристики воспроизводства копепод // *Экология моря*. 1999. Вып. 49. С. 56–61.

- [Khanaychenko A. N. The effect of microalgal diet on copepod reproduction parameters. *Ekologiya morya*, 1999, iss. 49, pp. 56–61. (in Russ.)]
7. Andersen R. A. *Algae culturing techniques*. New York: Elsevier Academic Press, 2005, 578 p.
 8. Cunha I., Planas M. Optimal prey size for early turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) based on mouth and ingested prey size. *Aquaculture*, 1999, vol. 175, iss. 1–2, pp. 103–110. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00040-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00040-X)
 9. Emmerson W. D. Predation and energetics of *Penaeus indicus* (Decapoda, Penaeidae) larvae feeding on *Brachionus plicatilis* and *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 1984, vol. 38, iss. 3, pp. 201–209. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90144-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90144-3)
 10. Guzmán H. M., de la Jara Valido A., Duarte L. C., Presmanes K. F. Estimate by means of flow cytometry of variation in composition of fatty acids from *Tetraselmis suecica* in response to culture conditions. *Aquaculture international*, 2010, vol. 18, iss. 2, pp. 189–199. <https://doi.org/10.1007/s10499-008-9235-1>
 11. Kat M. *Dinophysis acuminata* blooms, the distinct cause of Dutch mussel poisoning. In: *Toxic Dinoflagellates* : proc. 3rd Intern. Conf. on Toxic Dinoflagellates, St. Andrews, New Brunswick, Canada, 8–12 June, 1985. New York: Elsevier, 1985, pp. 73–77.
 12. Khanaychenko A. N., Dhert P., Van Ryckeghem K., Sorgeloos P. Evaluation of fatty acid composition of live feed fed Dinophyceae. In: *Aquaculture and Water: Fish Culture, Shellfish Culture and Water Usage* : International Conference Aquaculture Europe'98, Bordeaux, France, 7–10 October, 1998. Oostende: European Aquaculture Society, 1998, pp. 133–134.
 13. Léger P., Bengtson D. A., Simpson K. L., Sorgeloos P. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. In: *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*, 1986, vol. 24, pp. 521–623.
 14. Makri A., Bellou S., Birkou M., Papatrehas K., Dolapsakis N. P., Bokas D., Aggelis G. Lipid synthesized by micro-algae grown in laboratory- and industrial-scale bioreactors. *Engineering in Life Sciences*, 2011, vol. 11, iss. 1, pp. 52–58. <https://doi.org/10.1002/elsc.201000086>
 15. Merchie G. Use of nauplii and meta-nauplii. In: *Manual on the production and use of live food for aquaculture* / P. Lavens, P. Sorgeloos (Eds). Rome, 1996, pp. 137–163. (FAO Fisheries Technical Paper ; no. 361.)
 16. Mohebbi F., Hafezieh M., Seidgar M., Hosseinzadeh Sahhafi H., Mohsenpour Azari A., Ahmadi R. The growth, survival rate and reproductive characteristics of *Artemia urmiana* fed by *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros* sp., *Chlorella* sp. and *Spiroliina* sp. as feeding microalgae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 2016, vol. 15, no. 2, pp. 727–737.
 17. Patil V., Reitan K. I., Knutsen G., Mortensen L. M., Källqvist T., Olsen E., Gislerød H. R. Microalgae as source of polyunsaturated fatty acids for aquaculture. *Current Topics in Plant Biology*, 2005, vol. 6, pp. 57–65.
 18. Payne M. F. Evaluation of diets for culture of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. *Aquaculture*, 2000, vol. 187, iss. 1–2, pp. 85–96. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00391-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00391-9)
 19. Poulet S. A., Laabir M., Ianora A., Miralto A. Reproductive response of *Calanus helgolandicus*. I. Abnormal embryonic and naupliar development. *Marine Ecology Progress Series*, 1995, vol. 129, no. 1/3, pp. 85–95. <https://doi.org/10.3354/meps129085>
 20. Reitan K. I., Rainuzzo J. R., Øie G., Olsen Y. Nutritional effects of algal addition in first-feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. *Aquaculture*, 1993, vol. 118, iss. 3–4, pp. 257–275. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90461-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90461-7)
 21. Shadrin N., Anufrieva E., Galagovets E. Distribution and historical biogeography of *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Anostraca) in Ukraine. *International Journal of Artemia Biology*, 2012, vol. 2, no. 2, pp. 30–42.
 22. Sorgeloos P., Lavens P., Leger P. H., Tackaert W., Versichele D. *Manual for the culture and use of brine shrimp Artemia in aquaculture* / Artemia Reference Center, State University of Ghent, Belgium. Ghent: State University of Ghent, 1986, 319 p.
 23. Van Stappen G. Use of cysts. In: *Manual on the production and use of live food for aquaculture* / P. Lavens, P. Sorgeloos (Eds). Rome, 1996, pp. 107–136. (FAO Fisheries Technical Paper ; no. 361.)
 24. Tocher D. R. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 2010, vol. 41, iss. 5, pp. 717–732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>
 25. Zhukova N. V., Aizdaicher N. A. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae. *Phytochemistry*, 1995, vol. 39, iss. 2, pp. 351–356. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00913-E](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00913-E)

**VARIABILITY OF SIZE CHARACTERISTICS AND SURVIVAL
OF THE NAUPLII OF CRIMEAN BRINE SHRIMP
ARTEMIA SPP. (BRANCHIOPODA: ANOSTRACA)
FEEDING ON DIFFERENT SPECIES OF MICROALGAE**

D. Yu. Smirnov, L. O. Aganesova, A. N. Khanaychenko

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: mitsmirnov@gmail.com

Nauplii of brine shrimps *Artemia* spp. (Branchiopod: Anostraca) are one of the main species of live food used in marine fish larviculture. Specialized formulated enrichments or microalgae containing essential components for fish larvae are routinely used for improvement of biochemical composition of *Artemia*. Size, growth rate and survival of nauplii and metanauplii are important when *Artemia* is used as a live food. The goal of this study was to carry out comparative analysis of size characteristics and survival of metanauplii of the Crimean brine shrimp (produced by “Artemia cysts” company) feeding on different species of microalgae. Nauplii were hatched in accordance with the generally accepted procedure. Microalgae of different taxons – *Isochrysis galbana*, *Prorocentrum micans*, *Gymnodinium wulfii*, *Prorocentrum cordatum*, *Tetraselmis suecica*, *Phaeodactylum tricornutum* – were used for feeding metanauplii. The average diameter of dry *Artemia* cysts was 0.230 mm. The average length and width of nauplii were 0.473 and 0.150 mm, respectively. The average length of 1-day old metanauplii fed on *T. suecica* [(0,698 ± 0,014) mm] was significantly less than that of 1-day metanauplii fed on *I. galbana*, *P. micans*, *G. wulfii*, and *Ph. tricornutum* ($P < 0.05$). The average length and width of the 2-day and 3-days old metanauplii fed on *I. galbana* (1.19 and 0.324; 1.53 and 0.47 mm, respectively) were significantly larger than those of metanauplii fed on *Ph. tricornutum*, *T. suecica*, *P. micans*, and *P. cordatum*. Metanauplii fed on *P. cordatum* were significantly smaller than those fed on other diets. The survival of metanauplii fed on *P. cordatum*, *P. micans*, and *T. suecica* was the highest (above 95 %). The combination of the smallest sizes and highest survival rate of metanauplii fed on *P. cordatum* (microalgae with high DHA/EPA content) assumes the use on metanauplii as an experimental live food for marine fish larvae.

Keywords: *Artemia*, cysts, metanauplii, microalgae, size, survival, aquaculture, Crimea



УДК [582.263+582.261.1]:581.143

РАСЧЁТ УДЕЛЬНОЙ СКОРОСТИ РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

© 2019 г. Р. П. Тренкеншу

Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

E-mail: r.trenkenshu@rambler.ru

Поступила в редакцию 08.06.2018; после доработки 09.08.2018;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

В работе рассматриваются методические приёмы количественной оценки удельной скорости роста микроводорослей в периодической и непрерывной культуре. Показано, что для доказательства постоянства удельной скорости роста достаточно неизменности либо соотношения двух химических характеристик биомассы, либо размерной структуры популяции клеток. Проведён критический анализ правомерности использования логарифмической формулы для оценки удельной скорости роста (μ) микроводорослей в экспоненциальной фазе роста накопительной культуры: $\mu = (\ln B_2 - \ln B_1) / (t_2 - t_1)$, где B_1 и B_2 — плотности (концентрации) культуры в моменты времени t_1 и t_2 соответственно. Эта формула повсеместно используется большинством исследователей микроводорослей без доказательств экспоненциального характера роста. При наличии таких доказательств применение логарифмической формулы теряет смысл. Приведены примеры количественного описания экспериментальных данных для двух видов морских микроводорослей в экспоненциальной и линейной фазах роста культуры.

Ключевые слова: культура микроводорослей, экспоненциальная фаза роста, удельная скорость роста

Одной из важнейших характеристик роста микроводорослей является параметр их удельной скорости роста. По определению, удельная скорость роста показывает относительный прирост плотности культуры за малый промежуток времени:

$$\mu = \frac{dB}{Bdt},$$

где B — плотность культуры;

t — время;

dB — прирост плотности за бесконечно малый промежуток времени dt .

Плотность может быть выражена в любых единицах — концентрации биомассы, числа клеток и т. д.

Эта характеристика широко применяется для оценки влияния того или иного фактора внешней среды на рост и видоспецифические параметры изучаемой популяции клеток. Основным методом исследований монокультур микроводорослей позволяет выявить влияние одного фактора внешней среды при неизменных условиях всех остальных. При этом появляется возможность непосредственного измерения различных видоспецифических характеристик не только культуры, но и клеток микроводорослей, а именно: биохимического состава, морфометрической структуры популяции, массы клеток и др. Также производится оценка физиологических параметров клеток и культуры, связанных с ростом и развитием популяции.

В идеале экспериментальное измерение этих параметров возможно при непрерывном динамически равновесном выращивании микроводорослей при неизменных физико-химических условиях внешней среды, в которых находятся клетки. Такие условия реализуются при использовании систем непрерывного культивирования микроводорослей — плотностата [4] или хемостата [8, 9, 10]. Эти системы принципиально различаются по способу управления культурой: в плотностате постоянной задаётся плотность культуры, в хемостате — удельная скорость протока среды. В обоих случаях на вход системы культивирования поступает свежая питательная среда, а на выходе происходит слив культуры. После адаптации клеток к заданным условиям в хемостате стабилизируется плотность культуры, а в плотностате — удельная скорость роста. Все без исключения характеристики клеток становятся константами, что приводит к постоянству их соотношений. Это означает стабильность биохимического состава и размерной структуры популяции клеток.

При определённых условиях удельная скорость роста будет постоянной величиной и в накопительной (периодической) культуре. На этой фазе роста накопительной культуры скорость роста количественно описывается простым дифференциальным уравнением:

$$\frac{dB}{dt} = \mu B .$$

Если удельная скорость роста является величиной постоянной, уравнение можно проинтегрировать, задав начальные условия. Обозначив начальную плотность культуры как B_0 , для начального момента времени этой фазы роста (t_0) получим логарифмический, или экспоненциальный, закон роста:

$$\begin{aligned} \mu = const, \quad \int_{B_0}^B \frac{dB}{B} &= \mu \int_{t_0}^t dt, \\ \ln B - \ln B_0 &= \mu(t - t_0), \\ B &= B_0 e^{\mu(t-t_0)}. \end{aligned}$$

Если этот закон роста выполняется, то для расчёта удельной скорости роста достаточно двух любых экспериментальных точек:

$$\mu = \frac{\ln B_2 - \ln B_1}{t_2 - t_1} = \frac{\ln \frac{B_2}{B_1}}{t_2 - t_1} .$$

Этой формулой для расчёта удельной скорости роста пользуются большинство исследователей, изучающих рост микроводорослей. Между тем сведения, подтверждающие экспоненциальный рост культуры и, соответственно, правомерность применения этой формулы, приводятся лишь в редких случаях.

Критический анализ литературных данных, в которых используется приведённая формула, показывает, что в подавляющем количестве работ (число публикаций исчисляется тысячами, поэтому нет смысла их цитировать) авторы допускают ошибку при оценке удельной скорости роста, что нередко приводит к неправильным выводам.

В предлагаемой работе рассматриваются условия, при которых наблюдаются экспоненциальный рост и, соответственно, постоянство удельной скорости роста.

Непрерывная культура. При непрерывном процессе выращивания микроводорослей культура со временем достигает динамического равновесия, наблюдается постоянство плотности культуры, концентрации клеток и компонентов биомассы, стабилизируется их соотношение. Это свойство приводит к равенству удельных скоростей продукции всех без исключения биохимических составляющих популяции клеток и, соответственно, роста культуры [5, 6].

Постоянство биохимического состава. Обозначим характеристики культуры для динамически равновесного роста надстрочным индексом (*). Выделим любую биохимическую составляющую (B_i^*) в биомассе микроводорослей (B^*). Скорость продукции этой составляющей биомассы будет постоянной величиной:

$$P_i^* = \mu^* B_i^* .$$

Продуктивность также будет постоянной величиной:

$$P^* = \mu^* B^* .$$

Отсюда следует, что доля любой составляющей в биомассе будет постоянной на всём промежутке времени непрерывного стационарного роста:

$$\frac{B_i^*}{B^*} = \frac{P_i^*}{P^*} = const , \mu^* = const ,$$

то есть неизменность биохимического состава непрерывной культуры микроводорослей может служить подтверждением постоянства удельной скорости роста.

Постоянство размерной структуры популяции клеток. Выделим любую размерную группу численностью N_i из общего числа клеток (N_0) популяции. Клетки элиминируются с протоком среды со следующей скоростью:

$$V_i^* = \mu^* N_i^* ,$$

$$V_0^* = \mu^* N_0^* .$$

Если эти скорости или доли любой размерной группы в популяции постоянны на длительном промежутке времени, удельная скорость роста тоже постоянна:

$$\frac{N_i^*}{N_0^*} = \frac{V_i^*}{V_0^*} = const , \mu^* = const .$$

Этим условием также можно воспользоваться для подтверждения корректности расчёта удельной скорости роста.

Накопительная (периодическая) культура. Такой способ выращивания микроводорослей наиболее часто используется в исследовательской практике. Рост культуры характеризуется фазами, число которых зависит от предыстории культуры от плотности в начальный момент. Если клетки помещаются в условия, аналогичные предшествующим, культура растёт с теми же характеристиками, что и прежде (фактически это аналог непрерывной культуры). В случае если новые условия отличаются от прежних, клетки адаптируются к ним: изменяется биохимический состав клеток и размерная структура популяции. Этот период называют скрытым, или лаг-фазой. По его окончании может наступить логарифмическая (экспоненциальная) фаза роста культуры.

Главное условие для экспоненциального роста фотоавтотрофных накопительных культур — низкая оптическая плотность культуры и относительно высокие концентрации элементов питания. В этом случае изменения концентраций минеральных элементов питания за счёт роста клеток будут несущественными, а световые условия для отдельных клеток — неизменными (будет отсутствовать «самозатенение» клеток). Удельная скорость роста, морфометрическая структура популяции клеток и макромолекулярный состав биомассы будут определяться только поверхностной освещённостью культуры [5, 6].

Обозначим характеристики культуры для экспоненциальной фазы роста надстрочным индексом (ln). Выделим любую биохимическую составляющую (B_i^{ln}) в биомассе микроводорослей (B^{ln}).

$$B^{ln} = B_0^{ln} e^{\mu^{ln}(t-t_{ln0})} , B_i^{ln} = B_{i0}^{ln} e^{\mu^{ln}(t-t_{ln0})} .$$

При этом соотношение всех форм биомассы будет постоянным на всём промежутке экспоненциального роста:

$$\frac{B_i^{\ln}}{B^{\ln}} = \frac{B_{i0}^{\ln} e^{\mu^{\ln}(t-t_{\ln 0})}}{B_0^{\ln} e^{\mu^{\ln}(t-t_{\ln 0})}} = \frac{B_{i0}^{\ln}}{B_0^{\ln}}.$$

Аналогично для размерной структуры популяции:

$$N^{\ln} = N_0^{\ln} e^{\mu^{\ln}(t-t_{\ln 0})}, \quad N_i^{\ln} = N_{i0}^{\ln} e^{\mu^{\ln}(t-t_{\ln 0})},$$

$$\frac{N_i^{\ln}}{N^{\ln}} = \frac{N_{i0}^{\ln} e^{\mu^{\ln}(t-t_{\ln 0})}}{N_0^{\ln} e^{\mu^{\ln}(t-t_{\ln 0})}} = \frac{N_{i0}^{\ln}}{N_0^{\ln}}.$$

Следовательно, постоянство молекулярного состава биомассы или размерной структуры популяции клеток служит подтверждением экспоненциального (логарифмического) роста и постоянства удельной скорости накопления биомассы в накопительной культуре микроводорослей. Отсюда вытекает возможность использования логарифмической формулы:

$$\mu^{\ln} = \frac{\ln B_2^{\ln} - \ln B_1^{\ln}}{t_2 - t_1} = \frac{\ln \frac{B_2^{\ln}}{B_1^{\ln}}}{t_2 - t_1}, \quad \mu^{\ln} = \frac{\ln N_2^{\ln} - \ln N_1^{\ln}}{t_2 - t_1} = \frac{\ln \frac{N_2^{\ln}}{N_1^{\ln}}}{t_2 - t_1}.$$

Здесь необходимо заметить, что в реальности точность оценки удельной скорости роста микроводорослей будет определяться погрешностью измерения плотности культуры, что может привести к разным значениям для различных пар данных, то есть такая оценка будет приближённой.

Графоаналитический метод. Этот способ можно применить для более точной оценки удельной скорости роста микроводорослей, когда в эксперименте измеряется только один показатель изменения плотности культуры со временем. С учётом того что рост микроводорослей является автокаталитическим процессом и на достаточно длительном промежутке времени возможными колебаниями данных можно пренебречь, рост плотности культуры с высокой точностью можно описать показательной функцией в виде экспоненты. Такого рода колебания данных могут быть вызваны либо ошибками измерения, либо циклическими процессами внутри клетки. Чаще всего колебания наблюдаются при подсчёте концентрации клеток; это происходит за счёт частичной синхронизации моментов их деления [2].

Рост популяции клеток. Рассмотрим подобный случай на конкретном примере. В работе [3] представлены результаты изучения роста морской микроводоросли *Dunaliella viridis* в накопительной культуре. Воспользуемся приведёнными в этой публикации данными.

Выделим участок накопительной кривой, который, по предположению, соответствует логарифмической фазе роста. Она заканчивается на шестые сутки. Графически этот участок показан на рис. 1.

Как видно из рис. 1, данные хорошо описываются уравнением экспоненциального роста:

$$N^{\ln} = N_0^{\ln} e^{\mu^{\ln} t}.$$

На это указывает высокий коэффициент детерминации ($R^2 = 0,987$) при начальном значении концентрации клеток $N_0^{\ln} = 0,016$ млн·мл⁻¹ и удельной скорости роста популяции клеток $\mu^{\ln} = 0,74$ сут⁻¹. Аналогичные результаты получены авторами работы [3].

Иная картина будет наблюдаться при расчёте удельной скорости роста по логарифмической формуле, если нет подтверждения постоянства размерной структуры популяции клеток. Для примера используем те же экспериментальные данные, что и в предыдущем случае [3].

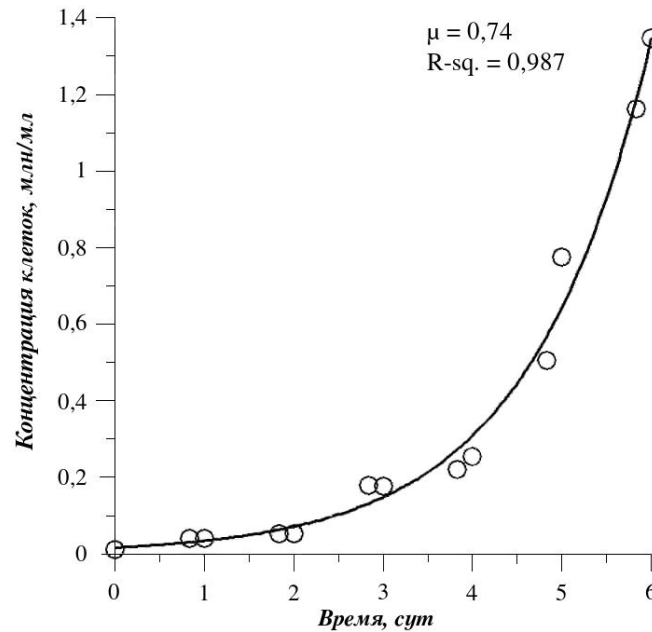


Рис. 1. Кривая роста накопительной культуры *Dunaliella viridis*. Светлые кружочки — экспериментальные данные из работы [5]; линия — аппроксимация данных экспоненциальным уравнением

Fig. 1. Growth curve of batch culture *Dunaliella viridis*. Light circles – experimental data from paper [5]; line – approximation of data by the exponential equation

Рассчитаем удельную скорость роста по логарифмической формуле:

$$\mu^{\ln} = \frac{\ln \frac{N_2^{\ln}}{N_1^{\ln}}}{t_2 - t_1}.$$

Эта формула даёт нам право использовать любую пару точек. Сделаем расчёт для двух соседних экспериментальных точек на всём промежутке экспоненциального роста. Полученные результаты приведены на рис. 2.

Рис. 2 убедительно показывает, что использование логарифмической формулы для двух экспериментальных точек нельзя рекомендовать для корректного расчёта удельной скорости роста микроводорослей. Необходимо заметить, что эта логарифмическая формула довольно часто применяется и для оценки роста популяций других организмов.

Оценка роста по концентрации биомассы. Более гладкие кривые роста наблюдаются в экспериментах, в которых рост плотности культуры микроводорослей измеряется (прямым или косвенным методом) по изменению концентрации биомассы. Рассмотрим такой случай также на конкретном примере. В [1] представлены экспериментальные данные по изучению роста накопительной культуры морской микроводоросли *Phaeodactylum tricornutum*. В этой работе автор контролировала рост по изменению оптической плотности в области 750 нм с периодическим измерением сырого и сухого веса.

Рис. 3 иллюстрирует оценку области экспоненциальной фазы роста и удельной скорости роста на основе коэффициента детерминации. Экспериментальные данные описываются уравнением экспоненты:

$$D_{750}^{\ln} = D_{0,750}^{\ln} e^{\mu^{\ln} t}.$$

Как видно из представленного графика, наилучшим образом ($R^2 = 0,999$) данные описываются при использовании уравнения для области экспоненциальной фазы роста, оканчивающейся на 4-е сутки ($t = 4$). При этом удельная скорость роста $\mu^{\ln} = 0,66 \text{ сут}^{-1}$. Аналогичные результаты получены автором работы [1].

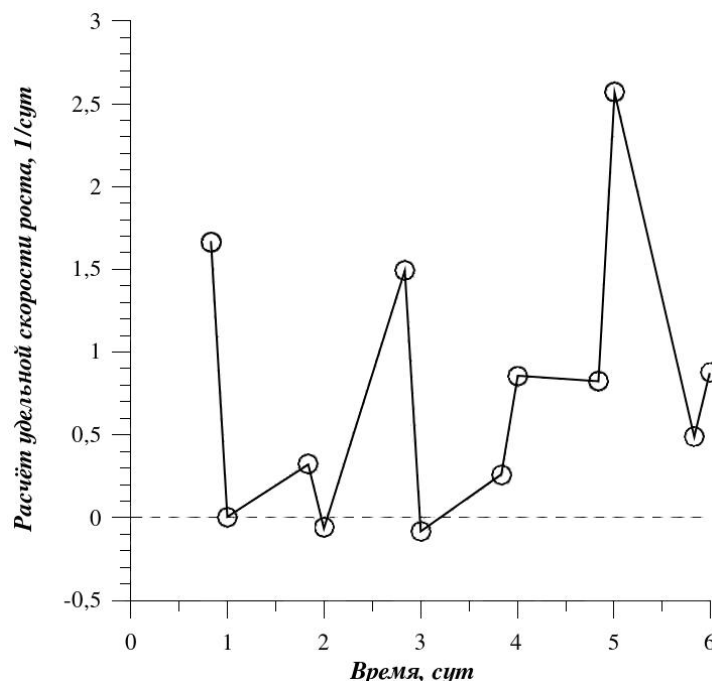


Рис. 2. Кривая роста накопительной культуры *Dunaliella viridis*. Пример некорректного расчёта удельной скорости роста *Dunaliella viridis* по тем же экспериментальным данным (рис. 1), но с использованием логарифмической формулы для двух соседних точек

Fig. 2. An example of incorrect calculation of the specific growth rate of *Dunaliella viridis* by the same experimental data (Fig. 1), but with using logarithmic formula for two neighboring points

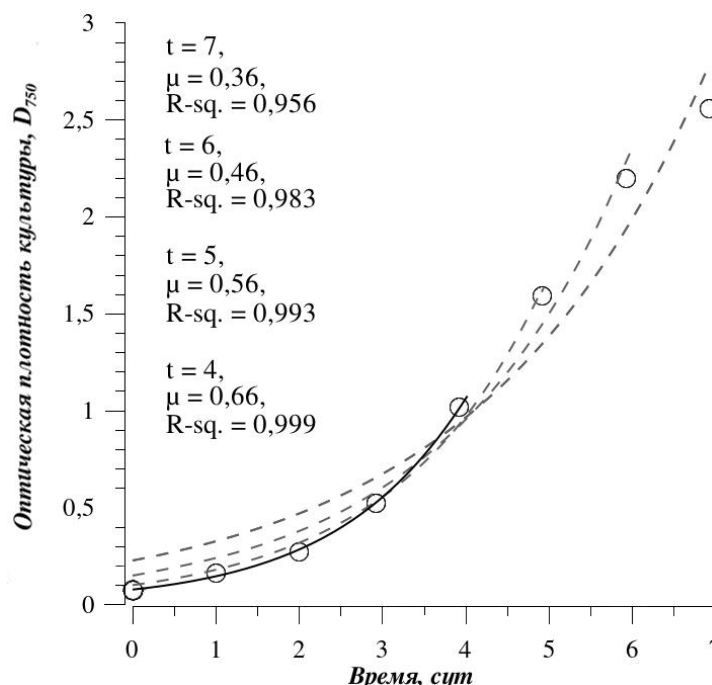


Рис. 3. Оценка удельной скорости роста микроводоросли *Phaeodactylum tricorntutum* в предполагаемой экспоненциальной фазе роста накопительной культуры. Светлые кружочки — экспериментальные данные из работы [1]; пунктирные линии — оценка удельной скорости при использовании различного числа точек; сплошная линия — область экспоненциального роста

Fig. 3. Estimation of specific growth rate of microalgae *Phaeodactylum tricorntutum* in the supposed exponential phase of growth of batch culture. Light circles – experimental data from work [1]; dotted lines – estimation of specific rate at use of different number of points; solid line – area of exponential growth

Линейная фаза роста. Окончание экспоненциальной фазы роста означает смену фактора, лимитирующего рост культуры. При полном минеральном обеспечении культуры таким фактором может служить снижение светового питания клеток за счёт повышения плотности культуры. Если рост микроводорослей происходит в плоскопараллельном слое, то, как правило, на некотором промежутке времени наблюдается линейный рост плотности культуры [7].

В этом случае накопление биомассы (B) описывается простым линейным уравнением:

$$B = B_0 + P t ,$$

где P — скорость роста плотности культуры (продуктивность) ($P = \text{const}$);

B_0 — плотность культуры в начале линейной фазы роста.

Удельная скорость роста на этом участке будет уменьшаться с ростом плотности культуры. Рассчитать изменение удельной скорости со временем можно с использованием её величины из определения и последней формулы:

$$\mu = \frac{P}{B}, \quad \mu = \frac{P}{B_0 + P t} .$$

В качестве примера такого расчёта приведём данные по линейному участку роста морской микроводоросли *Phaeodactylum tricornutum* из работы [1]. На рис. 4 показаны экспериментальные данные, уравнения линейного роста и удельной скорости, а также полученные их графические изображения. Необходимо отметить высокий коэффициент детерминации линейной модели ($R^2 = 0,999$).

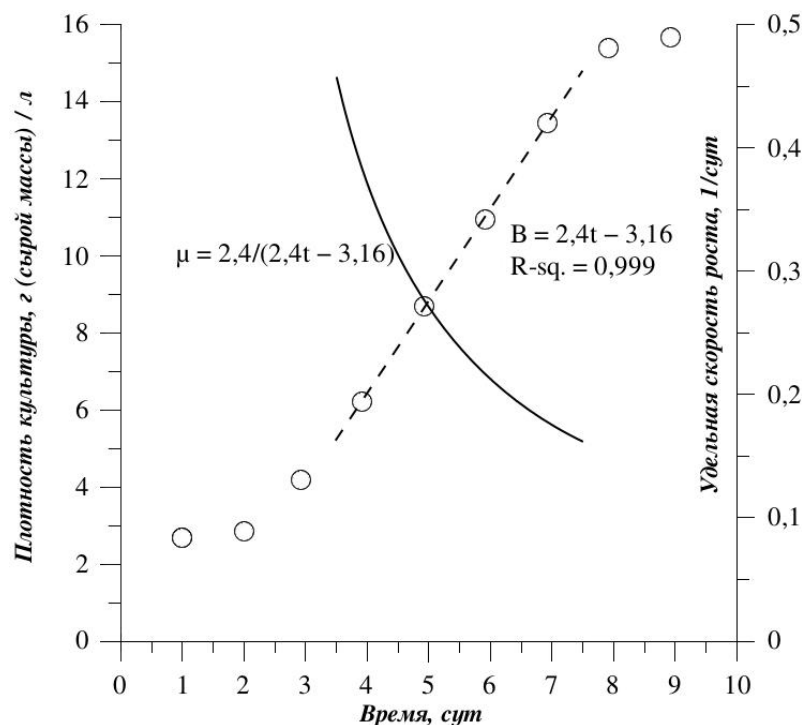


Рис. 4. Пример расчёта изменения удельной скорости роста *Phaeodactylum tricornutum* со временем в области линейного роста. Светлые кружочки — экспериментальные данные [1]; пунктирная линия — линейная модель; сплошная линия — расчётная кривая изменения удельной скорости роста

Fig. 4. An example of calculating the change in the specific growth rate of *Phaeodactylum tricornutum* over time in the area of linear growth. Light circles – experimental data [1]; dotted line – linear model; solid line – calculated curve of change of specific growth rate

Заключение. В предлагаемой работе представлены методические приемы расчёта удельной скорости роста микроводорослей в культуре. Показаны условия, при которых возможна относительно точная оценка этого важнейшего показателя роста культуры по динамике накопления биомассы или концентрации клеток. Также дана оценка диапазонов экспоненциальной и линейной фаз роста.

К основному выводу можно отнести положение о доказательстве правомерности использования общепринятой логарифмической формулы:

$$\mu = \frac{\ln B_2 - \ln B_1}{t_2 - t_1} = \frac{\ln \frac{B_2}{B_1}}{t_2 - t_1}.$$

Данное доказательство неизбежно приводит к отсутствию смысла в применении этой формулы.

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБУН ИМБИ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации АААА-А18-118021350003-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Жондарева Я. Д. Миксотрофный рост *Phaeodactylum tricorutum* на неорганической среде с глюкозой и глицерином в накопительной культуре // *Морские биологические исследования: достижения и перспективы* : в 3-х т. : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, приуроч. к 145-летию Севастопольской биологической станции (Севастополь, 19–24 сент. 2016 г.) / под общ. ред. А. В. Гаевской. Севастополь, 2016. Т. 3. С. 378–381. [Zhondareva Ya. D. Miksotrofnyi rost *Phaeodactylum tricorutum* na neorganicheskoi srede s glyukozoi i glitserinom v nakopitel'noi kul'ture. In: *Morskie biologicheskie issledovaniya: dostizheniya i perspektivy* : v 3-kh t. : sb. materialov Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, priuroch. k 145-letiyu Sevastopol'skoi biologicheskoi stantsii (Sevastopol, 19–24 Sept., 2016) / A. V. Gaevskaya (Ed.). Sevastopol, 2016, vol. 3, pp. 378–381. (in Russ.)]
2. Мальцева О. А. Морфометрические характеристики клеток микроводоросли *Dunaliella viridis* в накопительной культуре [Электронный ресурс] // *Вопросы современной альгологии*. 2017. № 1 (13). URL: <http://algology.ru/1137> [дата обращения 01.06.2018]. [Maltceva O. A. Morphometric characteristic of cells microalgae *Dunaliella viridis* in batch culture [Electronic resource]. *Voprosy sovremennoi al'gologii*, 2017, no. 1 (13). URL: <http://algology.ru/1137> [accessed 01.06.2018]. (in Russ.)]
3. Меметшаева О. А., Боровков А. Б. Репродуктивная активность клеток *Dunaliella viridis* Teod. в накопительной культуре при непрерывном освещении и свето-темновых циклах [Электронный ресурс] // *Вопросы современной альгологии*. 2018. № 1 (16). URL: <http://algology.ru/1262> [дата обращения 01.06.2018]. [Memetshaeva O. A., Borovkov A. B. Reproductive activity of *Dunaliella viridis* Teod. cells in a batch culture under continuous illumination and light-dark cycles [Electronic resource]. *Voprosy sovremennoi al'gologii*, 2018, no. 1 (16). URL: <http://algology.ru/1262> [accessed 01.06.2018]. (in Russ.)]
4. Терсков И. А., Гительзон И. И., Сидько Ф. Я., Ковров Б. Г., Батов В. А., Белянин В. Н. Интенсивное непрерывное культивирование хлореллы в плотностном режиме при различной освещенности // *Управляемое культивирование микроводорослей*. Москва : Наука, 1964. С. 55–84. [Terskov I. A., Gitel'zon I. I., Sid'ko F. Ya., Kovrov B. G., Batov V. A., Belyanin V. N. Intensivnoe nepreryvnoe kul'tivirovanie khlorely v plotnostnom rezhime pri razlichnoi osveshchennosti. In: *Upravlyаемое kul'tivirovanie mikrovodoroslei*. Moscow: Nauka, 1964, pp. 55–84. (in Russ.)]
5. Тренкеншу Р. П. Влияние света на макромолекулярный состав микроводорослей в непрерывной культуре невысокой плотности (Часть 1) [Электронный ресурс] // *Вопросы современной альгологии*. 2017. № 2 (14). URL: <http://algology.ru/1180> [дата обращения 01.06.2018]. [Trenkenshu R. P.

- Influence of light on macromolecular composition of microalgae in continuous culture of low density (Part 1) [Electronic resource]. *Voprosy sovremennoi al'gologii*, 2017, no. 2 (14). URL: <http://algology.ru/1180> [accessed 01.06.2018]. (in Russ.)]
6. Тренкеншу Р.П. Влияние света на макромолекулярный состав микроводорослей в непрерывной культуре невысокой плотности (Часть 2) [Электронный ресурс] // *Вопросы современной альгологии*. 2017. № 3 (15). URL: <http://algology.ru/1241> [дата обращения 01.06.2018]. [Trenkenshu R.P. Influence of light on macromolecular composition of microalgae in continuous culture of low density (Part 2) [Electronic resource]. *Voprosy sovremennoi al'gologii*, 2017, no. 3 (15). URL: <http://algology.ru/1241> [accessed 01.06.2018]. (in Russ.)]
 7. Тренкеншу Р. П., Лелеков А. С., Новикова Т. М. Линейный рост морских микроводорослей в культуре // *Морской биологический журнал*. 2018. Т. 3, № 1. С. 53–60. [Trenkenshu R. P., Lelekov A. S., Novikova T. M. Linear growth of marine microalgae culture. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2018, vol. 3, no. 1, pp. 53–60. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2018.03.1.06>
 8. Ketchum B. H., Redfield A. C. A method for maintaining a continuous supply of marine diatoms by culture. *Biological Bulletin*, 1938, vol. 75, pp. 165–169. <https://doi.org/10.2307/1537681>
 9. Monod J. La technique de culture continue. Theorie et applications. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1950, vol. 79, pp. 390–410.
 10. Novick A., Szilard L. Description of the chemostat. *Science*, 1950, vol. 112, iss. 2920, pp. 715–718. <https://doi.org/10.1126/science.112.2920.715>

CALCULATION OF THE SPECIFIC GROWTH RATE OF MICROALGAE

R. P. Trenkenshu

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: r.trenkenshu@rambler.ru

The work focuses on techniques of quantifying the specific growth rate of microalgae in both batch and continuous culture. It is shown, that to prove that the specific growth rate is a constant value, both the ratio of two chemical biomass characteristics and dimensional structure of cell population must be constant. Critical analysis of the correctness of using the logarithmic formula for estimating the specific growth rate (μ) of microalgae in the exponential phase of growth of batch culture is held: $\mu = (\ln B_2 - \ln B_1) / (t_2 - t_1)$, where B_1 and B_2 are densities (concentrations) of the culture at a moment of time t_1 and t_2 , respectively. This formula is widely used by most microalgae researchers without proving exponential growth character. Availability of such proofs makes the applying of the logarithmic formula meaningless. Examples of quantitative description of the experimental data obtained for two types of marine microalgae in the exponential and linear phases of culture growth are given.

Keywords: microalgae culture, exponential growth phase, specific growth rate



ЗАМЕТКИ

УДК 582.232:57.083.3(261.24)

МИКРОЦИСТИНЫ В ЛИТОРАЛИ КУРШСКОГО ЗАЛИВА В 2017 г. ПО ДАННЫМ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

© 2019 г. **М. М. Смирнова**

Институт океанологии им. П. П. Ширшова РАН, Москва, Россия

E-mail: smirnova-mm@mail.ru

Поступила в редакцию 25.10.2018; после доработки 09.02.2019;
принята к публикации 18.03.2019; опубликована онлайн 31.03.2019.

Куршский залив — крупнейшая лагуна Балтийского моря, полузакрытая, мелководная, преимущественно пресноводная, гипертрофная. Он отнесён к высшей рыбохозяйственной категории, имеет высокое рекреационное значение. Залив отделён от моря песчаной косой, на которой расположен национальный парк «Куршская коса», включённый в список объектов Всемирного наследия ЮНЕСКО.

«Гиперцветения» в Куршском заливе с доминированием потенциально токсичных видов цианобактерий из родов *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Woronichinia*, *Planktothrix*, *Anabaena* с конца 2000-х гг. наблюдаются почти ежегодно [2, 3, 4]. Микроцистины (гепатотоксичные цианотоксины) впервые выявлены в 2006 г. [6]. С 2010 г. в южной части залива микроцистины регистрируют ежегодно [1, 2, 4, 7]; установлено, что суммарное содержание экстрацеллюлярных микроцистинов достигает 290 мкг·л⁻¹ [4]. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, допускается содержание 1 мкг·л⁻¹ микроцистина-LR в питьевой воде [8]; присутствие микроцистинов в количестве 20 мкг·л⁻¹ в рекреационных водах — средняя угроза для здоровья человека [5]. Данные о содержании микроцистинов (опасных для здоровья человека веществ) в южной части Куршского залива немногочисленны [1, 2, 4, 7], что подчёркивает актуальность проведённого нами исследования.

Пробы воды отбирали в мае — ноябре 2017 г. дважды в месяц на шести прибрежных мониторинговых станциях в южной части Куршского залива с поверхностного горизонта (0–50 см). Содержание суммарных микроцистинов (свободных и клеточно-связанных) определяли с помощью иммунохроматографических экспресс-тестов (Microcystin Strip Test, Abraxis Ltd). Чувствительность метода — 0–10 мкг·л⁻¹.

Впервые показано присутствие микроцистинов в летне-осенний период вдоль всего побережья южной части Куршского залива. Отмечена пространственная и временная неоднородность распределения токсинов. Как и в предыдущие годы, выявлены два пика содержания микроцистинов: летний и осенний. В мае микроцистины отсутствовали. Наибольшее за период наблюдений содержание микроцистинов (5–10 мкг·л⁻¹) отмечено в конце июня и в течение сентября вдоль Куршской косы (западный берег). В середине и конце октября микроцистины здесь выявлены только дважды, в количествах 1 и 2,5 мкг·л⁻¹. У южного и восточного побережий максимальное содержание микроцистинов (5 мкг·л⁻¹) зафиксировано в конце сентября. Летом и в октябре — ноябре количество микроцистинов не превышало 2,5 мкг·л⁻¹.

За период наблюдений в 2017 г. микроцистины встречались реже и в меньших количествах, чем в 2011–2016 гг. Так, содержание микроцистинов в количестве 5–10 мкг·л⁻¹ в предыдущие годы в летний период отмечено в 47 % измерений, в октябре — ноябре — в 52 % измерений. В летний период 2017 г. микроцистины в количестве 5–10 мкг·л⁻¹ выявлены в 27 % измерений. В октябре — ноябре эти значения не достигались, в 60 % измерений токсины не обнаружены. Отмечено, что содержание микроцистинов у западного побережья больше, чем у южного и восточного, что может быть связано с особенностями рельефа и формой берегов.

Работа выполнена в рамках госзаданий ИО РАН №0149-2019-0013, №0149-2019-0008 и при поддержке гранта Coalition Clean Baltic «Баренц-Балтийская программа “Природа и человек”».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ежова Е. Е., Ланге Е. К., Русских Я. В., Жаковская З. А., Чернова Е. Н. Вредоносные цветения микроводорослей в Куршском заливе Балтийского моря в 2008–2011 гг. // *Проблемы изучения и охраны природного и культурного наследия национального парка «Куршская коса»* : сб. науч. ст. Калининград : Изд-во БФУ им. И. Канта, 2012. Вып. 8. С. 81–95. [Ezhova E. E., Lange E. K., Russkikh Ya. V., Zhakovskaya Z. A., Chernova E. N. Vredonosnye tsveteniya mikrovodoroslei v Kurshskom zalive Baltiiskogo morya v 2008–2011 gg. In: *Problemy izucheniya i okhrany prirodnogo i kul'turnogo naslediya natsional'nogo parka "Kurshskaya kosa"* : sb. nauch. st. Kaliningrad: Izd-vo BFU im. I. Kanta, 2012, iss. 8, pp. 81–95. (in Russ.)]
2. Ежова Е. Е., Русских Я. В., Мазур-Марзец Х., Чернова Е. Н., Ланге Е. К., Смирнова М. М., Стонт Ж. И. Осенние цветения цианобактерий в Куршском заливе Балтийского моря: особенности, причины и экологические последствия // *Актуальные проблемы планктонологии* : материалы II Междунар. конф., Светлогорск, 14–18 сентября, 2015 г. Калининград : КГТУ, 2015. С. 112–113. [Ezhova E. E., Russkikh Ya. V., Mazur-Marzec H., Chernova E. N., Lange E. K., Smirnova M. M., Stont Zh. I. Osennie tsveteniya tsianobakterii v Kurshskom zalive Baltiiskogo morya: osobennosti, prichiny i ekologicheskie posledstviya. In: *Aktual'nye problemy planktonologii* : materialy II Mezhdunar. konf., Svetlogorsk, 14–18 Sept., 2015. Kaliningrad: KGTU, 2015, pp. 112–113. (in Russ.)]
3. Ланге Е. К. Фитопланктонный комплекс российской части Куршского залива (2001–2007 гг.) // *Известия Калининградского Государственного технического университета*. 2013. № 28. С. 87–94. [Lange E. K. Fitoplanktonnyi kompleks rossiiskoi chasti Kurshskogo zaliva (2001–2007 gg.). *Izvestiya Kaliningradskogo Gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta*, 2013, no. 28, pp. 87–94. (in Russ.)]
4. Ezhova E., Lange E., Russkikh Y., Chernova E., Zhakovskaya Z. Dynamics of toxic HABs in the Curonian Lagoon, Baltic Sea during 2010–2013. In: *ICES Annual Science Conference (ASC)*, Coruña, Spain, 15–19 Sept., 2014. Coruña, 2014, H26 [CD-ROM].
5. Chorus I., Bartram J. (Eds). *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management* / World Health Organization. London: Für WHO durch E & FN Spon ; Chapman & Hall, 1999, 416 p.
6. Paldaviciene A., Mazur-Marzec H., Razinkovas-Baziukas A. Toxic cyanobacteria blooms in the Lithuanian part of the Curonian Lagoon. *Oceanologia*, 2009, vol. 51, no. 2, pp. 203–216.
7. Sulcius S., Pilkaitytė R., Mazur-Marzec H., Kasperovicienė J., Ezhova E., Blaszczyk A., Paskauskas R. Increased risk of exposure to microcystins in the scum of the filamentous cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* accumulated on the western shoreline of the Curonian Lagoon. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, vol. 99, iss. 1–2, pp. 264–270. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.057>
8. *WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Vol. 2: Health Criteria and Other Supporting Information*. 2nd ed., addendum. Geneva: World Health Organization, 1998, 283 p.

**PRESENCE OF MICROCYSTINS
IN THE LITTORAL ZONE OF THE CURONIAN LAGOON
BY THE DATA OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ANALYSIS IN 2017**

M. M. Smirnova

Shirshov Institute of Oceanology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

E-mail: smirnova-mm@mail.ru

The presence of hepatotoxic cyanotoxins of microcystin group has been recorded in the southern part of the Curonian Lagoon annually since 2010. Because of unique natural features and cultural heritage, the Curonian Spit and the Curonian Lagoon are involved into diverse recreational usage. The potential health hazard due to microcystins is, thus, an inherent problem of the area. Rapid immunochromatographic semi-quantitative test (Microcystin Strip Test, Abraxis Ltd) was applied for the detection of microcystins in water samples from littoral zone. Samples were collected twice per month in May – November 2017 at six monitoring sites around the Lagoon. For the first time, the presence of toxic metabolites of cyanobacteria (microcystins) in the whole littoral of the southern part of the Curonian Lagoon during vegetation season was established. As previously noted, microcystins were present in water samples in summer and autumn. During May it were not found. The highest values (5–10 µg per litre) were recorded in the late June and during September at the Curonian Spit. These values were rather low in comparison with those of 2011–2016. From mid-to-late October toxins were recorded twice only, at the Curonian Spit. At the eastern and southern coasts maximal value was 5 µg per litre (once at the end of September). In other samples toxins were not detected or their values did not exceed 2.5 µg per litre.

Keywords: microcystins, cyanotoxins, toxicity, Curonian Lagoon

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

ПАМЯТИ АЛЕКСАНДРА РОМАНОВИЧА БОЛТАЧЕВА (21.07.1952 – 30.01.2019)

И умру я не на постели,
При нотариусе и враче,
А в какой-то дикой щели,
Утонувшей в густом плюше.

Из стихотворения Н. С. Гумилёва «Я и вы»

30 января 2019 г., находясь в научной командировке во Вьетнаме, на 67-м году жизни скоропостижно скончался Александр Романович Болтачев. Это был широко эрудированный учёный-ихтиолог, эколог, патриот и энергичный защитник природы Крыма и Чёрного моря. Не верится, что Александра Романовича больше нет с нами. Он ушёл на взлёте творческой активности и научной деятельности, на пике своей востребованности.



Александр Романович Болтачев родился 21 июля 1952 г. в городе Дзауджикау (Орджоникидзе, Северная Осетия). Семья несколько раз переезжала, прежде чем окончательно обосновалась в Севастополе. Новый город, расположенный по берегам морских бухт с их разнообразной жизнью, привлёк внимание любознательного юноши. Летом он целыми днями пропадал на море, ловил рыбу, внимательно рассматривал всякую живность. Море навсегда захватило его. Окончив среднюю школу № 41 г. Севастополя, Александр Романович поступи-

пил в Херсонское мореходное училище Министерства морского флота, где получил специальность «судоводитель» (1969–1973), а через несколько лет — на заочное отделение Астраханского технического института рыбной промышленности и хозяйства, где получил специальность «ихтиолог-рыбовод» (1976–1982). Оба учебных заведения он окончил с красным дипломом. С 1975 по 1982 г. А. Р. Болтачев трудился на судах «Югрыбпромразведки» в качестве инженера исследователя, старшего инженера-ихтиолога, помощника капитана по научной работе. Годы работы в океане дали молодому романтику неоценимый опыт изучения видового состава и особенностей биологии океанических рыб; он окончательно понял, что его призвание — ихтиология и участие в полноценных научных экспедициях.

В 1982 г. Александр Романович перешёл в ИнБЮМ НАН Украины, и 1985–1987 гг. он провёл в Гвинейской Республике (г. Конакри) как ихтиолог-исследователь и одновременно заведующий лабораторией гидробиологии в Советско-гвинейском океанографическом центре. Работая в ИнБЮМ, он принимал активное участие в морских экспедициях на научно-исследовательских судах. В 1992 г. на основе собранного обширного материала он успешно защитил в Институте океанологии им. П. П. Ширшова кандидатскую диссертацию «Ихтиоценозы верхних слоёв

пелагиали тропической зоны Восточной Атлантики» по специальности «ихтиология». Он подробно описал таксономический состав и биотопическое распределение рыб в открытых водах верхних слоёв пелагиали исследованного района, выделив Восточно-экваториальный, Ангольский и Бенгельский ихтиоцены; для 59 видов рыб уточнил сведения об их ареале, для 25 видов рыб указал принадлежность их ареалов к иному, чем считалось ранее, типу. На основе анализа ихтиоценов и характера миграций рыб он уточнил схему батиметрического деления пелагиали тропической зоны Восточной Атлантики.

С 1999 по 2015 г. Александр Романович был заместителем директора ИнБЮМ НАН Украины по научной работе и одновременно курировал работу малого флота института. С 2004 г. он возглавлял отдел планктона. У Александра Романовича были большие планы новых научных исследований. Он руководил и был соруководителем ряда отечественных и иностранных грантов, выполнял совместно с коллегами большое число хоздоговоров.

А. Р. Болтачев был страстно увлечён научными экспедициями. В одном из интервью он сказал о себе: «Я влюблён в Чёрное море». Когда, в силу экономических причин, научные суда перестали выходить в море, Александр Романович переключился на исследование фауны малых рек, водохранилищ и озёр Крыма, изучал видовой состав, экологию рыб и их распространение в регионе. Он обнаружил и описал вселение в Чёрное море ранее неизвестных здесь видов рыб. В холод и жару, стоя по пояс в воде и по колено в грязи, он собирал новый материал.

В последние годы он расширил границы своих научных интересов на акватории морских заповедников, Азовское море и впадающие в него реки. В результате совместно с коллегами были подготовлены и опубликованы многочисленные статьи и ряд монографий, являющихся энциклопедическими справочниками о морских и пресноводных рыбах Крыма. Одна из книг — «Морские рыбы Крымского полуострова» (2012), проиллюстрированная прекрасными фотографиями, которые выполнила Евгения Павловна Карпова, его жена и соратница по работе, — была переиздана в 2017 г.

Когда появилась возможность начать исследования во Вьетнаме, Александр Романович выбрал самый опасный и потому мало исследованный район устья реки Меконг с мангровыми зарослями. Неутомимый полевик, смелый и целеустремлённый исследователь, он надевал ласты и маску и нырял в неизведанную бездну, забывая об опасности.

Александр Романович широко известен в Азово-Черноморском регионе как блестящий специалист в области ихтиологии, гидробиологии и экологии водных объектов. Он являлся членом экспертной группы Черноморской комиссии (BSC) по биоразнообразию и регулированию рыболовства в Чёрном море, экспертом по исполнению Международной конвенции CITES по торговле редкими видами флоры и фауны и изделиями из них, членом Российского географического общества, лауреатом государственной премии Украины в области науки и техники (2012) за участие в разработке и создании национальных коллекций морских навигационных карт и океанографического атласа Чёрного и Азовского морей для информационного обеспечения безопасности мореплавания, научных исследований и использования природно-ресурсного потенциала в Азово-Черноморском бассейне. А. Р. Болтачев входил в состав редколлегии *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, был членом редакционной коллегии по Красной книге Крыма (2015, 2016) и по Красной книге города Севастополя (2018).



Благодаря его деятельной поддержке активно развивалось сотрудничество с природоохранными организациями Крыма. Он работал в составе комиссий по определению границ рыбоводных и рыбохозяйственных участков, по морехозяйственному комплексу, по аквакультуре при правительстве Севастополя, был членом Общественного совета при губернаторе Севастополя, членом Общественного совета при АЧТУ Росрыболовства. Он занял активную позицию против добычи песка в районе мыса Фиолент, принимал участие в общественных слушаниях по ряду проектов, осуществление которых приводило к загрязнению побережья Севастополя, выступал против расширения русел горных рек Крыма. К Александру Романовичу обращались за экспертными оценками пограничниками, когда задерживали нарушителей за незаконный лов в крымских водах. Его природоохранная деятельность отмечена благодарностями от Правительства Севастополя и Севприроднадзора и грамотой Службы Пограничного управления ФСБ России в г. Балаклаве — за составление экспертных заключений об ущербе водным биологическим ресурсам.

Наряду с научной работой А.Р. Болтачев вёл большую просветительскую и научно-педагогическую деятельность. Он был частым гостем на телевидении (выступал на местных и центральных каналах), читал лекции в Керченском государственном морском технологическом университете, работал в комиссиях по защите дипломных проектов магистрами кафедр экологии в севастопольских университетах. В отделе планктона ежегодно несколько студентов российских вузов проходили практику. Благодаря деятельной поддержке Александра Романовича при ИнБЮМ организована и регулярно проводится молодёжная конференция Pontus Euxinus; он активно участвовал в её работе, находил спонсоров при отсутствии финансовых средств. Под непосредственным руководством А.Р. Болтачева трое сотрудников выполнили и блестяще защитили диссертационные работы.

Александр Романович был отзывчивым человеком, всегда старался прийти на помощь коллегам и друзьям. Его безвременная кончина — горькая утрата для нашего института. Мы больше не увидим его доброжелательной улыбки, не услышим его ярких рассказов о новых экспедициях, об экзотических рыбах, неизвестно каким образом попавших в Чёрное море: барракуде, фуге, рыбе-хирурге. Он был яркой звёздочкой в науке и жизни, душой любой компании, интересным собеседником.

Светлая память об Александре Романовиче Болтачеве — многогранном учёно-естествоиспытателе, научно-общественном деятеле, интеллигентном и дружелюбном человеке — навсегда сохранится в наших сердцах.

Коллеги, друзья

TO THE MEMORY OF ALEXANDER BOLTACHEV (21.07.1952 – 30.01.2019)

January 30, 2019, while on a scientific mission in Vietnam, Alexander Boltachev, the head of plankton department of IMBR RAS, passed away. He was a widely erudite ichthyologist, ecologist, patriot, and defender of the nature of Crimea and the Black Sea. Alexander Boltachev is the author of numerous articles and a number of monographs that are encyclopedic reference books on marine and freshwater fish of the Crimean peninsula. His untimely death is a bitter loss for our institute.

Keywords: Boltachev Alexander, IMBR RAS, ichthyology, Black Sea

Российская академия наук
Зоологический институт
Институт морских биологических исследований
имени А. О. Ковалевского

Морской биологический журнал

Основан в феврале 2016 г.

Научное издание

Издатели журнала:
ФГБУН Зоологический институт РАН
ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН»

Печатается по рекомендации учёного совета
ФГБУН «Институт морских биологических исследований
имени А. О. Ковалевского РАН»
(протокол № 2 от 19.03.2019)

Свидетельство о государственной регистрации:
Сер. ПИ № ФС 77-64821 от 02.02.2016
Сер. Эл № ФС 77-64800 от 02.02.2016
ISSN 2499-9768 print
ISSN 2499-9776 online

Выпускающий редактор:
Самышев Э. З.

Корректор:
Копытова О. Ю.

Разработка оригинал-макета:
Геворгиз Р. Г.

Компьютерная вёрстка:
Баяндин А. С.

Оригинал-макет подготовлен в пакете \LaTeX (TeX Live 2015 / Debian Linux)
с использованием свободных шрифтов FreeSerif и FreeSans

Подп. к печати 19.03.2019	Формат 60 × 84/8	Бум. офсетная № 1	Печать офсетная
Уч.-изд. листов 12,1	Усл.-печ. листов 12	Тираж 150 экз.	Заказ № 06А/22

Отпечатано в ООО «ИТ "Ариал"», ОГРН 1149102043530 от 18.09.2014,
295015, г. Симферополь, ул. Севастопольская, 31-а/2, +7 978 71 72 901, it.arial@yandex.ru



Вниманию читателей!

*Зоологический институт РАН,
Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН*

*издают
научный журнал*

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

- МБЖ — периодическое издание открытого доступа. Подаваемые материалы проходят независимое двойное слепое рецензирование. Журнал публикует обзорные и оригинальные научные статьи, краткие сообщения и заметки, содержащие новые данные теоретических и экспериментальных исследований в области морской биологии, материалы по разнообразию морских организмов, их популяций и сообществ, закономерностям распределения живых организмов в Мировом океане, результаты комплексного изучения морских и океанических экосистем, антропогенного воздействия на морские организмы и экосистемы.
- Целевая аудитория: биологи, экологи, биофизики, гидро- и радиобиологи, океанологи, географы, учёные других смежных специальностей, аспиранты и студенты соответствующих научных и отраслевых профилей.
- Статьи публикуются на русском и английском языках.
- Периодичность — четыре раза в год.
- Подписной индекс в каталоге «Пресса России» — E38872.

Заказать «Морской биологический журнал»

можно в научно-информационном отделе ИМБИ.
Адрес: ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН», пр. Нахимова, 2, Севастополь, 299011, Российская Федерация.
Тел.: +7 8692 54-41-10.
E-mail: mbj@imbr-ras.ru.

*Zoological Institute, RAS,
Kovalevsky Institute of Marine
Biological Research, RAS*

*publish
scientific journal*

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

- MBJ is an open access, peer reviewed (double-blind) journal. The journal publishes original articles as well as reviews and brief reports and notes focused on new data of theoretical and experimental research in the fields of marine biology, diversity of marine organisms and their populations and communities, patterns of distribution of animals and plants in the World Ocean, the results of a comprehensive studies of marine and oceanic ecosystems, anthropogenic impact on marine organisms and on the ecosystems.
- Intended audience: biologists, ecologists, biophysicists, hydrobiologists, radiobiologists, oceanologists, geographers, scientists of other related specialties, graduate students, and students of relevant scientific profiles.
- The articles are published in Russian and English.
- The journal is published four times a year.
- The subscription index in the “Russian Press” catalogue is E38872.

You may order Marine Biological Journal

in the Scientific Information Department of IMBR.
Address: Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, 2 Nakhimov avenue, Sevastopol, 299011, Russian Federation.
Tel.: +7 8692 54-41-10.
E-mail: mbj@imbr-ras.ru.