



ISSN 2499-9768 print
ISSN 2499-9776 online

**МОРСКОЙ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

Том 4 № 4

2019

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

включён в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Российской Федерации.

Журнал реферируется международной библиографической и реферативной базой данных Scopus (Elsevier),

международной информационной системой по водным наукам и рыболовству 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., ФИЦ ИнБЮМ

Заместитель главного редактора

Солдатов А. А., д. б. н., проф., ФИЦ ИнБЮМ

Ответственный секретарь

Корнийчук Ю. М., к. б. н., ФИЦ ИнБЮМ

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., ФИЦ ИнБЮМ

Зуев Г. В., д. б. н., проф., ФИЦ ИнБЮМ

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

Милячакова Н. А., к. б. н., ФИЦ ИнБЮМ

Миронов О. Г., д. б. н., проф., ФИЦ ИнБЮМ

Неврова Е. Л., д. б. н., ФИЦ ИнБЮМ

Празукин А. В., д. б. н., ФИЦ ИнБЮМ

Руднева И. И., д. б. н., проф., ФИЦ ИнБЮМ

Рябушко В. И., д. б. н., ФИЦ ИнБЮМ

Самышев Э. З., д. б. н., проф., ФИЦ ИнБЮМ

Совга Е. Е., д. г. н., проф., ФИЦ МГИ

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

Финенко З. З., д. б. н., проф., ФИЦ ИнБЮМ

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., IBSS

Assistant Editor

Soldatov A. A., D. Sc., Prof., IBSS

Managing Editor

Kornychuk Yu. M., PhD, IBSS

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., IBSS

Finenko Z. Z., D. Sc., Prof., IBSS

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

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

Konovlov S. K., Corr. Member of RAS, D. Sc., Prof.,
MHI RAS, Russia

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

Milchakova N. A., PhD, IBSS

Mironov O. G., D. Sc., Prof., IBSS

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

Nevrova E. L., D. Sc., IBSS

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

Prazukin A. V., D. Sc., IBSS

Rudneva I. I., D. Sc., Prof., IBSS

Ryabushko V. I., D. Sc., IBSS

Samyshev E. Z., D. Sc., Prof., IBSS

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., IBSS

Адрес редакции и издателя

ФИЦ «Институт биологии южных морей
имени А. О. Ковалевского РАН».

Пр. Нахимова, 2, Севастополь, 299011, РФ.

Тел.: +7 8692 54-41-10.

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

Зоологический институт РАН.

Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, 199034, РФ.

Address of the Editorial Office

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas
of Russian Academy of Sciences.

2 Nakhimov ave., Sevastopol, 299011, Russia.

Тел.: +7 8692 54-41-10.

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

Zoological Institute Russian Academy of Sciences.

Universitetskaya emb., 1, St.-Petersburg, 199034, Russia.

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

2019 Том 4 № 4

Основан в феврале 2016 г.

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Выходит 4 раза в год

СОДЕРЖАНИЕ

Научные сообщения

Зуев Г. В.

Современное состояние репродуктивного потенциала черноморского шпрота *Sprattus sprattus phalericus* (Risso, 1826) (Pisces: Clupeidae) в Крымском регионе и условия его формирования 3–14

Копытина Н. И.

Микроскопические грибы бассейна Чёрного моря: направления и перспективы исследований 15–33

Маркина Ж. В., Айздайчер А. Н.

Влияние меди на численность, морфологию клеток и содержание фотосинтетических пигментов микроводоросли *Porphyridium purpureum* 34–40

Минюк Г. С., Данцок Н. В., Челебиева Э. С., Чубчикова И. Н., Дробецкая И. В., Соловченко А. Е.

Влияние различных источников азота в питательной среде на рост зелёной микроводоросли *Chromochloris zofingiensis* в накопительной культуре (in Eng.) 41–52

Скорород Е. Ю., Ефимова Т. В., Моисеева Н. А., Землянская Е. А., Чурилова Т. Я.

Сравнение значений концентрации хлорофилла *a*, восстановленных по данным спектрорадиометра MODIS-Aqua, с результатами измерений в прибрежных водах Чёрного моря в районе Севастополя 53–61

Ханайченко А. Н., Гиригосов В. Е.

Морфологические особенности черноморского калкана (*Scophthalmus maeoticus*) в период эмбрионального развития 62–81

Юрахно В. М., Ха Во Тхи

Первые данные о двустворчатых микроспоридиях кефалевых рыб залива Нячанг (Вьетнам) 82–88

Заметки

Акимов А. И., Шоман Н. Ю., Соломонова Е. С.

Флуоресцентные характеристики диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Lewin, 1964 89–92

Мирошниченко Е. С.

Microcystis wesenbergii (Komárek) Komárek ex Komárek, 2006 (Cyanophyceae) — новый вид для побережья Крыма Чёрного моря 93–96

Попов М. А., Щуров С. В.

Находки молоди двустворчатого моллюска *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) в озере Донузлав и в Артиллерийской бухте (Крым, Чёрное море) 97–99

Тренкеншу Р. П., Новикова Т. М.

Содержание хлорофилла в биомассе морских микроводорослей при световом лимитировании (модель) 100–102

Хроника и информация

Егоров В. Н., Мирзоева Н. Ю., Терещенко Н. Н.

Поздравляем А. В. Трапезникова — первого лауреата медали им. академика Е. Н. Аврорина 103–105

Памяти Бориса Георгиевича Александрова и Галины Валентиновны Иванович 106–107

[Информация о выходе из печати монографии] 108

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

2019 Vol. 4 no. 4

Established in February 2016

SCIENTIFIC JOURNAL

4 issues per year

CONTENTS

Scientific communications

Zuyev G. V.

Modern state of the reproductive potential of Black Sea sprat *Sprattus sprattus phalericus* (Risso, 1826) (Pisces: Clupeidae) in Crimean region and conditions for its formation (in Russ.) 3–14

Kopytina N. I.

Fungi of the Black Sea basin: Directions and perspectives of research (in Russ.) 15–33

Markina Zh. V. and Aizdaicher N. A.

The effect of copper on the abundance, cell morphology and content of photosynthetic pigments in the microalga *Porphyridium purpureum* (in Russ.) 34–40

Minyuk G. S., Dantsyuk N. V., Chelebieva E. S., Chubchikova I. N., Drobetskaya I. V., and Solovchenko A. E.

The effect of diverse nitrogen sources in the nutrient medium on the growth of the green microalgae *Chromochloris zofingiensis* in the batch culture 41–52

Skorokhod E. Yu., Efimova T. V., Moiseeva N. A., Zemlianskaia E. A., and Churilova T. Ya.

Comparison of chlorophyll *a* concentration values retrieved from MODIS-Aqua spectroradiometer with the results of measurements in the coastal waters of the Black Sea near Sevastopol (in Russ.) 53–61

Khanaychenko A. N. and Giragosov V. E.

Morphological features of the Black Sea turbot (*Scophthalmus maeoticus*) during the period of embryonic development (in Russ.) 62–81

Yurakhno V. M. and Ha Vo Thi

First data on Bivalvulida myxosporeans of Nha Trang Bay mullets (Vietnam) (in Russ.) 82–88

Notes

Akimov A. I., Shoman N. Yu., and Solomonova E. S.

Fluorescence characteristics of the diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Lewin, 1964 (in Russ.) 89–92

Miroshnichenko E. S.

Microcystis wesenbergii (Komárek) Komárek ex Komárek, 2006 (Cyanophyceae) – a new species for the Crimean coast of the Black Sea (in Russ.) 93–96

Popov M. A. and Schurov S. V.

Findings of spat of bivalve mollusc *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in Donuzlav Lake and Artillery Bay (Crimea, the Black Sea) (in Russ.) 97–99

Trenkenshu R. P. and Novikova T. M.

Chlorophyll concentration in marine microalgae biomass under the condition of light limitation (model) (in Russ.) 100–102

Chronicle and information

Egorov V. N., Mirzoyeva N. Yu., and Tereshchenko N. N.

Congratulations to A. V. Trapeznikov, the first laureate of the medal named after academician E. N. Avrorin (in Russ.) 103–105

To the memory of Boris Alexandrov and Galina Ivanovich (in Russ.) 106–107

[Information on the publication of the monograph] 108



НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 597.541:591.16(262.5)

**СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ
РЕПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЧЕРНОМОРСКОГО ШПРОТА
SPRATTUS SPRATTUS PHALERICUS (RISSO, 1826) (PISCES: CLUPEIDAE)
В КРЫМСКОМ РЕГИОНЕ И УСЛОВИЯ ЕГО ФОРМИРОВАНИЯ**

© 2019 г. Г. В. Зуев

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: zuev-ger@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.07.2019; после доработки 01.11.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Черноморский шпрот *Sprattus sprattus phalericus* (Risso, 1826) — один из наиболее массовых видов рыб в Азово-Черноморском бассейне. Благодаря своей многочисленности играет исключительно важную роль в экосистеме моря, являясь промежуточным звеном между зоопланктоном и представителями высшего трофического уровня — крупными хищными рыбами, дельфинами и птицами. В то же время шпрот относится к числу важных промысловых объектов всех причерноморских стран, устойчиво занимая в последние десятилетия второе место по объёму вылова (после хамсы). Общий вылов достигает 100 тыс. тонн. Основные добывающие государства — Турция и Украина. Мониторинг и прогноз состояния популяции шпрота в условиях роста интенсивности промысла и изменения климата являются актуальными задачами. Предмет исследования данной статьи — многолетняя (2000–2016) динамика биологических (качественных) параметров, определяющих популяционную плодовитость черноморского шпрота в Крымском регионе, современное состояние репродуктивного потенциала и условия его формирования. В основу работы положены результаты собственных исследований. В числе параметров, определяющих популяционную плодовитость, изучены размерно-возрастная структура нерестового (родительского) стада, абсолютная индивидуальная плодовитость и половая структура нерестового стада (численное соотношение самок и самцов). В 2011–2016 гг. по сравнению с 2000–2004 гг. средняя длина нерестовых самок сократилась в 1,22 раза (с 7,36 до 6,03 см), что сопровождалось снижением абсолютной индивидуальной плодовитости в 2,39 раза (с 13 625 до 5690 икринок). Численное соотношение между самками и самцами уменьшилось в 1,23 раза (с 1,95 до 1,59). Одновременно величина запаса шпрота в северной половине Чёрного моря сократилась более чем в 2,5 раза (с > 500 тыс. т до < 200 тыс. т). В результате популяционная плодовитость шпрота в Крымском регионе уменьшилась более чем в 7 раз ($2,39 \times 1,23 \times 2,5$). Изучены условия промысла шпрота в северной половине Чёрного моря (от устья р. Дунай до Керченского пролива), которые показали 2-кратное снижение (с 251,9 тыс. тонн в 2000–2004 гг. до 129,1 тыс. тонн в 2011–2016 гг.) общего вылова и более чем 2,3-кратное (с 50,4 до 21,4 тыс. т) — среднегодового. На крымском шельфе, напротив, общий вылов в это время увеличился в 1,2 раза (с 76,9 до 92,2 тыс. т), а его среднегодовая величина осталась без изменения (15,4 тыс. тонн). Запас сократился в 2,5 раза, а значит, величина промысловой нагрузки на крымскую популяцию увеличилась в 2,5 раза, что даёт основание рассматривать фактор промысла в качестве главной причины её деградации. Справедливость данной версии подтверждает установленный ранее факт сопряжённости межгодовых колебаний между выловом и размерно-возрастными показателями шпрота в Крымском регионе в 2003–2013 гг.: выловы свыше 15–16 тыс. т сопровождалось уменьшением средней длины шпрота в следующем году. Необходимым условием для предотвращения дальнейшей деградации, а также для восстановления

и поддержания стабильного состояния популяции шпрота в Крымском регионе и её репродуктивного потенциала является регулирование промысла. Негативное воздействие природных (климатического и трофического) факторов на состояние популяции следует признать второстепенным. Локальный перелов косвенно указывает на структурированность промыслового запаса черноморского шпрота, его подразделённость на ряд пространственно-обособленных образований (единиц запаса), то есть на наличие внутривидовой дифференциации.

Ключевые слова: шпрот, многолетняя динамика, плодовитость, популяционная структура, промысел, запас

Черноморский шпрот *Sprattus sprattus phalericus* (Risso, 1826) — один из наиболее массовых видов рыб, населяющих Азово-Черноморский бассейн, и важный промысловый объект для всех причерноморских стран. В 2000–2016 гг. ежегодный вылов варьировал от 27 327 т (2013) до 120 709 т (2011); среднегодовой составил 66 073 т [13]. Основными добывающими странами были Украина и Турция (77,2 %).

До 2007 г. доминирующее положение занимала Украина: её доля в общем вылове в разные годы составляла от 45,9 до 77,0 % (в среднем — 58,8 %). Основной промысловый район — крымский шельф от мыса Тарханкут до мыса Меганом и Феодосийский залив. Объёмы вылова колебались от 18,0 до 48,9 тыс. т, при среднем значении 33,0 тыс. т. Доля турецких уловов в среднем не превышала 10,2 %, варьируя в пределах 1,6–30,4 %. Абсолютные объёмы составляли 1,0–11,9 тыс. т, средний многолетний — 5,68 тыс. т.

Ситуация заметно изменилась в 2008 г., когда турецкий вылов достиг 39,3 тыс. т, что составило 54 % от общего вылова шпрота. Основной промысловый район — зона шельфа на участке Самсун — Синоп. В последующие годы доля турецкого вылова сохранялась довольно высокой, варьируя от 34,9 до 80,6 %, при среднем значении 59,0 %. Объёмы вылова колебались от 9,76 до 87,14 тыс. т, при среднем значении 47,5 тыс. т. Таким образом, в рассматриваемый период по сравнению с предыдущим доля турецкого вылова возросла почти в 6 раз, а величина среднегодового вылова — более чем в 8 раз. Резкий рост турецкого вылова шпрота был напрямую связан с интенсификацией национального промысла в результате увеличения количества добывающих судов и технического перевооружения средств поиска и добычи.

Доля Украины в промысле уменьшилась до 30,5 % (данные 2008–2013 гг.), варьируя в разные годы от 17,0 до 47,1 %. Одновременно имело место снижение абсолютных объёмов вылова с 12,9 до 24 тыс. т, при среднем значении 20,6 тыс. т. В целом доля Украины в этот период сократилась почти вдвое, а величина среднегодового вылова уменьшилась в 1,6 раза. Одновременно с ухудшением количественных показателей промысла произошли существенные изменения в качественном составе популяции шпрота. На примере Крымского региона была установлена последовательно прогрессирующая деградация её состояния, нашедшая отражение в многолетних отрицательных трендах средней длины и среднего возраста особей, что при наличии прямой зависимости индивидуальной плодовитости рыб от их размеров (и возраста) не могло не сопровождаться соответствующими изменениями репродуктивного потенциала шпрота.

Цель настоящей работы — на основе изучения многолетней (2000–2016) динамики качественных (биологических) и количественных (величины запаса) параметров, определяющих популяционную плодовитость, провести оценку современного состояния репродуктивного потенциала черноморского шпрота и условий его формирования в Крымском регионе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужил шпрот, отловленный на западном и южном шельфе Крымского полуострова, между м. Тарханкут и м. Меганом. Сбор производили на промысловых судах с помощью разноглубинных тралов, не нарушающих естественное состояние размерно-возрастной

и половой структуры популяции. Материал собирали в нерестовые, зимние сезоны 2000/01–2016/17 гг. (исключение представляет сезон 2012/13 гг. из-за отсутствия проб). Их продолжительность, а также сроки начала и окончания определяли по состоянию гонад представителей обоих полов (стадии зрелости IV–V, V и VI–IV). Степень зрелости гонад определяли с помощью специально разработанной шкалы [2]. Во всех расчётах использовали стандартную длину (SL) тела рыб (от начала рыла до конца позвоночника); точность — до 0,1 см. При изучении размерной структуры результаты индивидуальных измерений группировали по классам вариационного ряда с интервалом длины 0,5 см. Индивидуальный возраст определяли по отолитам. Для оценки возрастной структуры использовали размерно-возрастной ключ (табл. 1). Среднюю длину и средний популяционный возраст определяли как среднее взвешенное значение размерных (возрастных) групп. Общее количество исследованных особей — 87 215.

Сведения о вылове шпрота в Крымском регионе приведены по данным Восточно-Крымского государственного управления рыбоохраны (ныне Крымский отдел государственного контроля, надзора и охраны водных биологических ресурсов Азово-Черноморского территориального управления Федерального агентства по рыболовству) г. Севастополя.

Таблица 1. Размерно-возрастной ключ черноморского шпрота

Table 1. Length-age structure key of Black Sea sprat

Размерный класс, см	Возраст, %		
	годовики	двухгодовики	трёхгодовики
4,0–4,4	100		
4,5–4,9	100		
5,0–5,4	100	–	
5,5–5,9	100	–	
6,0–6,4	100	–	
6,5–6,9	94	6	
7,0–7,4	72	28	
7,5–7,9	25	75	–
8,0–8,4	–	100	–
8,5–8,9	–	75	25
9,0–9,4		28	72
9,5–9,9		6	94
10,0–10,4		–	100
10,5–10,9		–	100

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Под репродуктивным потенциалом в настоящей работе понимается популяционная плодовитость шпрота, то есть количество икры, которое может отложить популяция за один нерестовый сезон. Это количество определяется такими параметрами, как размерно-возрастная структура нерестовой части популяции, абсолютная индивидуальная плодовитость, половая структура нерестовой популяции (соотношение самок и самцов) и общая численность нерестовой популяции.

Размерная структура. В исследованный период (2000–2016) репродуктивная часть популяции (особи с гонадами IV–V, V, VI–IV стадий зрелости) была представлена рыбами длиной 4,0–11,2 см. Её основу составляли особи длиной от 6,0 до 8,0 см (69,1 %). Доли представителей более мелких и более крупных размерных классов — 18,6 и 12,3 % соответственно. Средняя длина — 6,88 см.

Для описания размерной структуры использованы такие показатели, как средняя и предельная длина тела, модальный размерный класс, численное соотношение мелких (< 7,5 см) и крупных (> 7,5 см) особей. Разделение шпрота на мелких и крупных особей принято не случайно.

Оно довольно точно отражает принадлежность представителей этих размерных групп к разным возрастным классам: категория мелких особей включает 80–95 % (в среднем — 86 %) годовиков; категория крупных состоит из двухгодовиков и очень немногочисленных трёхгодовиков.

При изучении многолетней динамики размерной структуры использовали усреднённые за три года показатели. Соответствующие вариационные кривые распределения шпрота по длине в 2000–2016 гг. представлены на рис. 1. Как видно, на протяжении исследованного периода размерная структура не оставалась постоянной: происходило последовательное перераспределение численного соотношения между мелкими (< 7,5 см) и крупными (> 7,5 см) особями в пользу преобладания доли представителей первой группы, сопровождавшегося уменьшением средней и предельной длины, а также модальных размеров шпрота. Так, относительная численность крупных особей в 2013–2016 гг. по отношению к 2000–2002 гг. сократилась в 32 раза (с 64,0 до 2,0 %) (табл. 2). Средняя длина уменьшилась с 7,68 до 5,93 см, предельная — с 11,2 до 9,5 см, модальный класс — с 7,5–8,0 до 5,5–6,0 см. Одновременно доля мелких особей увеличилась почти в 3 раза (с 36,0 до 98,0 %), то есть произошло заметное измельчение шпрота.

Возрастная структура. В качестве показателей возрастной структуры использовали число возрастных классов (поколений), относительную численность разных возрастных классов и средний возраст. В исследованный период возрастной состав популяции был представлен тремя возрастными (годовыми) классами — годовиками, двух- и трёхгодовиками. Наиболее многочисленный возрастной класс — годовики. В многолетнем плане их доля составляла 71,9 %, изменяясь от 32,3 до 98,6 %. Второй по численности возрастной класс — двухгодовики: их доля в составе популяции превышала ¼ (26,7 %), варьируя от 1,4 до 64,3 %. И лишь 1,4 % общей численности составляли трёхгодовики. Средний возраст — 1,30 года.

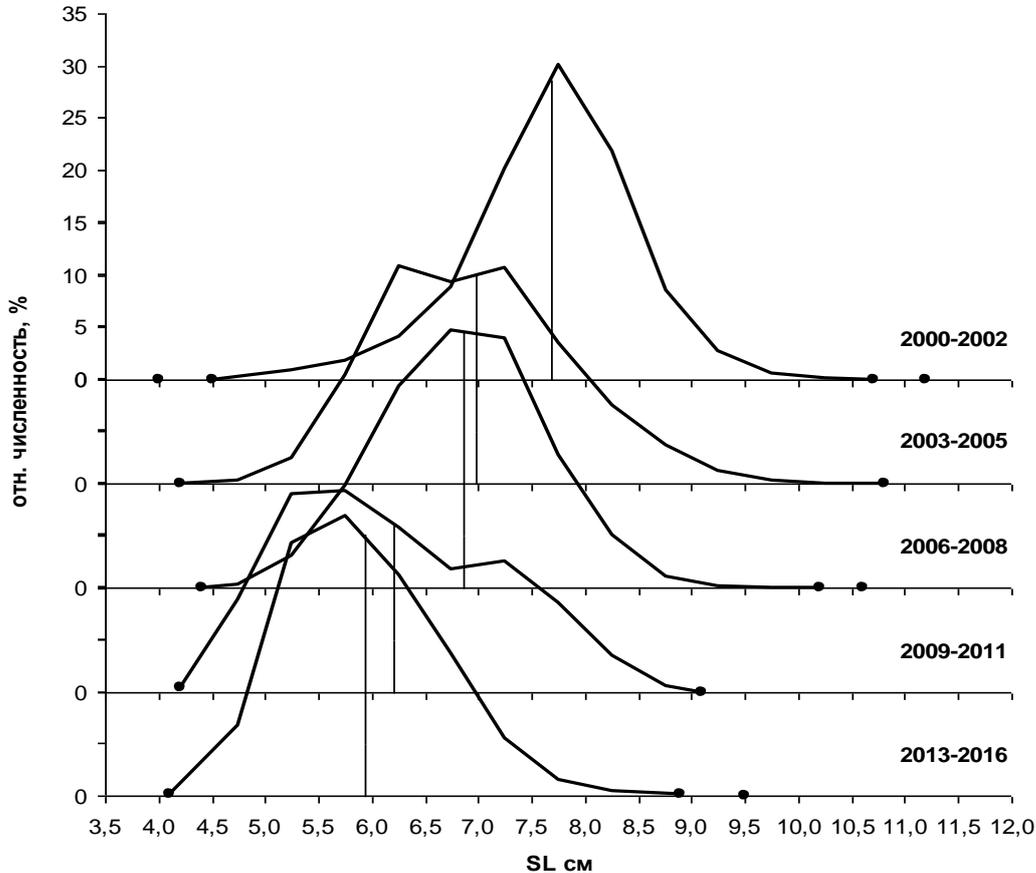


Рис. 1. Многолетняя динамика размерной структуры шпрота (объяснения см. в тексте)

Fig. 1. Long-term dynamics of sprat length structure (see the text for explanations)

Таблица 2. Показатели размерной структуры шпрота в Крымском регионе в 2000–2016 гг.**Table 2.** Length structure indicators of sprat in Crimean region in 2000–2016

Годы	Средняя длина, см	Предельная длина, см	Модальный класс, см	Размерная группа, %		Кол-во экз.
				< 7,5 см	> 7,5 см	
2000–2002	7,68	11,2	7,5–8,0	36,0	64,0	11 176
2003–2005	6,97	10,8	6,5–7,0	73,8	26,2	42 468
2006–2008	6,86	10,6	6,5–7,0	80,8	19,2	17 557
2009–2011	6,21	9,1	5,5–6,0	87,6	12,4	11 700
2013–2016	5,93	9,5	5,5–6,0	98,0	2,0	4 314

При изучении многолетней динамики возрастной структуры использовали усреднённые за три года значения относительной численности представителей разных возрастных классов и среднего возраста (табл. 3). Как видно, в период 2000–2016 гг. возрастная структура претерпела весьма существенные изменения, которые характеризовались в общей сложности 46-кратным сокращением относительной численности трёхгодовиков и почти 9-кратным — двухгодовиков. Так, в 2000–2002 гг. доля первых составляла 4,6 %, тогда как в 2013–2016 гг. — только 0,1 % (более того, в 2015 и 2016 гг. они отсутствовали полностью). Доля двухгодовиков за это время сократилась более чем в 8,5 раза (с 56,6 до 6,6 %). В результате абсолютное доминирование в популяции получили годовики: их доля увеличилась в 2,4 раза (с 38,8 до 93,3 %). При этом средний возраст шпрота сократился более чем в 1,5 раза (с 1,66 до 1,07 года), то есть произошло весьма существенное омоложение популяции.

Таблица 3. Показатели возрастной структуры шпрота в Крымском регионе в 2000–2016 гг.**Table 3.** Age structure indicators of sprat in Crimean region in 2000–2016

Годы	Возрастные классы, %			Средний возраст, годы	Кол-во экз.
	годовики	двухгодовики	трёхгодовики		
2000–2002	38,8	56,6	4,6	1,66	11 176
	32,3–48,5	47,9–64,3	3,4–6,7	1,55–1,71	
2003–2005	68,1	30,2	1,7	1,34	42 468
	62,5–74,8	21,8–36,9	0,6–3,4	1,29–1,38	
2006–2008	75,3	24,2	0,5	1,25	17 557
	70,3–78,6	21,0–29,1	0,4–0,6	1,22–1,30	
2009–2011	83,8	16,0	0,2	1,16	11 700
	76,3–98,0	1,9–23,3	0,1–0,4	1,02–1,24	
2013–2016	93,3	6,6	0,1	1,07	4 314
	87,4–98,6	1,4–12,3	0,0–0,3	1,01–1,13	

Примечание: числитель — средняя доля; знаменатель — минимальная и максимальная доля

Note: numerator – average share; denominator – minimum and maximum share

В качестве репродуктивного показателя, отражающего эффективность размножения популяции, изучена абсолютная индивидуальная плодовитость (далее — АИП) — общее количество икринок, выметываемое самкой в течение нерестового периода. Для её оценки использовали ранее установленные нами зависимости порционной плодовитости (далее — ПП) от стандартной длины тела самок и среднее значение общего количества индивидуальных икротетаний [2]. Зависимость ПП от стандартной длины тела самок находили отдельно для более благоприятных и менее благоприятных условий размножения. В первом случае $ПП = 0,1793 \cdot SL^{3,92}$, во втором $ПП = 0,0101 \cdot SL^{5,16}$. Общее количество индивидуальных икротетаний было принято постоянным, равным 36,4. В наших расчётах для оценки АИП использовали средние значения ПП, полученные

для менее благоприятных и более благоприятных условий размножения (табл. 4). В многолетнем плане величина АИП имеет, как и следовало ожидать, отрицательный тренд. Её значение в 2013–2016 гг. более чем в три раза ниже, чем в 2000–2002 гг.

Таблица 4. Средняя длина (SL), порционная (ПП) и абсолютная индивидуальная плодовитость (АИП), соотношение между самками и самцами шпрота в Крымском регионе в 2000–2016 гг.

Table 4. Average length (SL), portion fecundity (ПП), absolute individual fecundity (АИП), and ratio between sprat females and males in Crimean region in 2000–2016

Годы	SL, см	ПП, экз.	АИП, экз.	♀ / ♂
2000–2002	7,68	452	16 452	2,09
2003–2005	6,97	294	10 701	1,71
2006–2008	6,86	274	9 973	1,70
2009–2011	6,21	177	6 442	2,01
2013–2016	5,93	145	5 277	1,40

Половая структура. Наряду с АИП изучены половая структура нерестовой части популяции и её многолетняя динамика — численное соотношение между половозрелыми самками и самцами (стадии зрелости гонад IV–V, V и VI–IV). Усреднённые за три года значения показателя приведены в табл. 4. Как видно, в многолетнем плане прослеживается изменение величины этого соотношения в направлении уменьшения доли самок. Если в 2000–2002 гг. соотношение самок и самцов составляло 2,09 : 1, то в 2013–2016 гг. значение снизилось до 1,40 : 1, то есть за это время доля самок в составе нерестового (родительского) стада сократилась в 1,5 раза. В соответствии с концепцией В. А. Геодакяна [1] об эволюционном значении дифференциации полов, наблюдаемый сдвиг соотношения численности между самками и самцами в пользу последних следует рассматривать как экологический механизм адаптационного преобразования популяции, направленный на сохранение её устойчивости в неблагоприятных условиях. Согласно этой концепции, «*во всех экстремальных условиях должны усиливаться патриархальные тенденции, и наоборот, в оптимальных условиях — матриархальные*». Другими словами, в неблагоприятные периоды для регуляции численности популяции и поддержания оптимального соотношения между количественным и качественным аспектами процесса воспроизводства требуется больше самцов, обладающих большей фенотипической изменчивостью по сравнению с самками. Обращает на себя внимание широкий разброс значений соотношения полов между самками и самцами в разные отрезки времени, нарушающий строго последовательный характер его снижения. Это связано с наличием в составе трёхгодичных кластеров представителей разных поколений, которые отличаются по численности, скорости роста и, соответственно, размерам особей.

На основе полученных результатов и имеющихся в литературе сведений о состоянии запаса шпрота в северной половине Чёрного моря (от устья р. Дунай до Керченского пролива) в 2000–2013 гг. были выполнены расчёты его популяционной плодовитости на крымском шельфе. По [11], запас шпрота в этот отрезок времени не оставался постоянным. Выделены три периода его состояния. Первый (2000–2004) характеризовался высоким уровнем запаса (свыше 500 тыс. т), второй (2005–2010) — средним (250–500 тыс. т), третий (2011–2013) — низким (менее 200 тыс. т). В последующие три года (2014–2016), в соответствии с условием «*сообразности изменения вылова шпрота изменениям запасов и их доступности*» [11], величина запаса в регионе оставалась на прежнем, низком уровне. Из этого следует, что в продолжение всего исследованного периода запас шпрота демонстрировал отрицательный тренд, и в результате его абсолютная величина сократилась примерно в 2,5 раза. В табл. 5 представлены соответствующие значения средней длины, ПП и АИП, а также численное соотношение нерестовых самок и самцов и величина запаса для каждого из трёх периодов. Видно, что в многолетнем плане величина каждого из параметров заметно уменьшилась.

Так, в третьем периоде (2011–2016) по сравнению с первым (2000–2004) средняя длина самок сократилась в 1,22 раза. Соответствующие изменения в отношении показателей абсолютной индивидуальной плодовитости, доли самок и величины запаса составляли 2,39; 1,23; 2,5 раза. Из этого следует, что величина популяционной плодовитости шпрота в исследуемый период (2000–2016) (рис. 2) сократилась более чем в 7 раз ($2,39 \times 1,23 \times 2,5 = 7,35$).

Таблица 5. Многолетняя (2000–2016) динамика популяционных параметров шпрота в Крымском регионе, определяющих величину репродуктивного потенциала

Table 5. Long-term (2000–2016) dynamics of sprat population parameters in Crimean region, determining sprat reproductive potential value

Период	SL, см	ПП, экз.	АИП, экз.	♀ / ♂	Запас, тыс. т
2000–2004	7,36	374	13 625	1,95	> 500
2005–2010	6,89	280	10 188	1,74	250–500
2011–2016	6,03	156	5 690	1,59	< 200

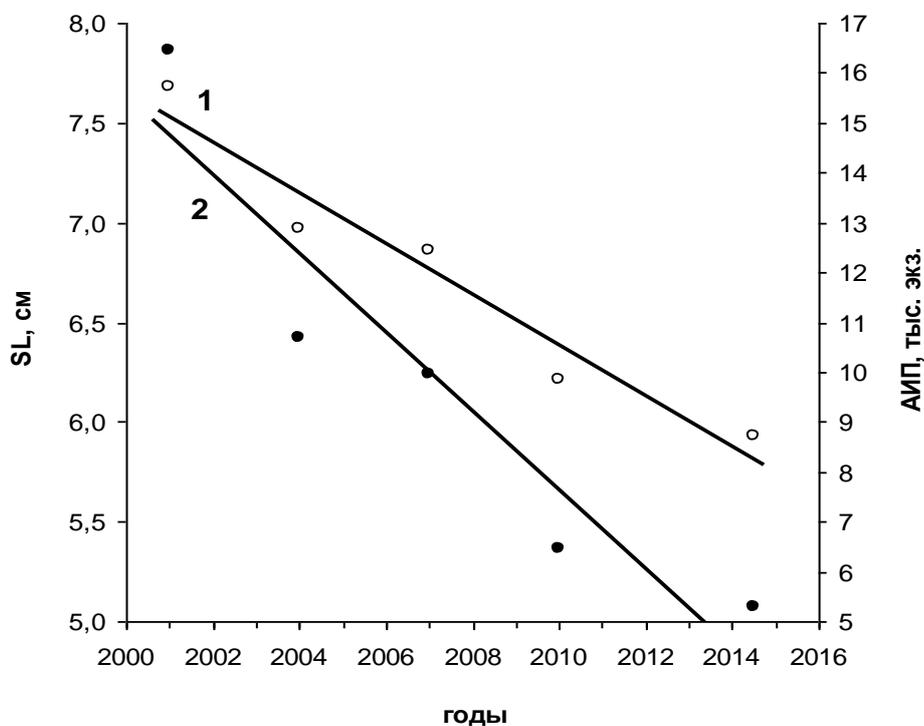


Рис. 2. Многолетняя динамика средней длины (SL) (1) и средней абсолютной индивидуальной плодовитости (АИП) (2) шпрота в Крымском регионе

Fig. 2. Long-term dynamics of average length (SL) (1) and average absolute individual fecundity (АИП) (2) of sprat in Crimean region

Относительно причин произошедших в последние полтора-два десятилетия изменений размерно-возрастных характеристик крымского шпрота в сторону уменьшения их значений существуют разные точки зрения. Ряд авторов [3, 4, 8, 12] связывает этот процесс напрямую с нарушением условий питания вида, которые сложились в конце 1990-х гг. в северной половине Чёрного моря в результате глобального потепления, повлёкшего общее повышение температуры воды в регионе, что создало неблагоприятные условия жизни для комплекса холодолюбивых видов в целом и для шпрота, бореального по своему происхождению, в частности. По другой версии, причиной измельчания шпрота в Крымском регионе послужило перераспределение промысловой

нагрузки на популяцию между внешним глубоководным и прибрежным мелководным шельфом в пользу последнего, где преобладает мелкий шпрот, после изменения в 1998 г. украинского таможенного законодательства, согласно которому выловленные за пределами территориальных вод Украины (12-мильной прибрежной зоны) живые ресурсы стали приравниваться к импортируемым продуктам [10]. По результатам наших исследований, главным фактором, определившим угнетённое состояние популяции шпрота в Крымском регионе в последние два десятилетия, послужила слишком высокая степень эксплуатации, то есть перелов. Этот вывод получен на основании изучения многолетней (2003–2013) динамики размерно-возрастного состава и условий промысла шпрота из двух близких по климатическим и экологическим условиям регионов Чёрного моря — Крымского и Западного (воды Болгарии и Румынии). Оба региона находятся под воздействием Северо-Атлантического колебания и Атлантического мультидекадного колебания, определяющих долгие периодические изменения температуры воздуха и воды в северо-западной части Чёрного моря и у западного побережья Крыма [9]. Это не исключает локальных и, как правило, кратковременных отклонений или погодных аномалий. Между тем определяющее воздействие последних на формирование постоянных региональных различий возрастной структуры кажется весьма сомнительным, особенно с учётом того, что в 2000–2016 гг. климатические аномалии в этих регионах не зарегистрированы. Кроме того, установлено наличие тесной отрицательной корреляционной связи между объёмом вылова и средней длиной шпрота, смещённой на год вперёд, в Крымском регионе [коэффициент корреляции $-0,81$ ($p < 0,01$)], а также отсутствие корреляции между соответствующими показателями в Западном регионе [5].

Рассмотрим условия промысла шпрота на шельфе северной половины Чёрного моря от Керченского пролива до устья р. Дунай и их возможную связь с изменением размерно-возрастной структуры его популяции на крымском шельфе. Промысел шпрота в этом обширном регионе осуществляют исключительно Украина и Российская Федерация. В 2000–2013 гг. соотношение вылова между ними составляло почти 3,2 : 1 в пользу Украины (табл. 6). По [11], суммарные среднегодовые выловы шпрота в водах Крыма и Кавказа распределялись следующим образом: в 2000–2004 гг. — 39 тыс. т, в 2005–2010 гг. — 23, в 2011–2013 гг. — 19. Согласно нашим данным (см. «Материал и методы»), суммарные ежегодные выловы шпрота Украины и России в эти периоды распределялись так: 50,4; 32,6; 21,5 тыс. т. Как видно (рис. 3), представленные объёмы вылова вполне сопоставимы между собой, а темпы их снижения пропорциональны темпам сокращения запаса, что не даёт основания рассматривать чрезмерный вылов в качестве фактора, который мог оказать негативное воздействие на биологическую структуру популяции шпрота. Это противоречит полученному нами ранее выводу о том, что причиной угнетённого состояния шпрота у Крымского побережья в нулевые годы послужила слишком высокая интенсивность промысла [5].

Какой же из этих выводов является справедливым и каковы возможные причины разночтений? Попробуем ответить. Никакого противоречия в полученных результатах и в заключениях, сделанных на их основе, нет. Как ни парадоксально это выглядит, оба они справедливы. Положительный вывод (негативное воздействие промысла) получен после изучения многолетней динамики размерно-возрастной структуры и вылова шпрота исключительно в прибрежной (шельфовой) зоне Крымского полуострова на пространстве от м. Казантип до м. Меганом. Отрицательный вывод (отсутствие негативного воздействия промысла), представленный выше, основан на анализе данных о суммарном вылове шпрота на шельфе северной половины Чёрного моря от устья р. Дунай до Кавказского побережья, включая обширную мелководную северо-западную часть и крымский шельф.

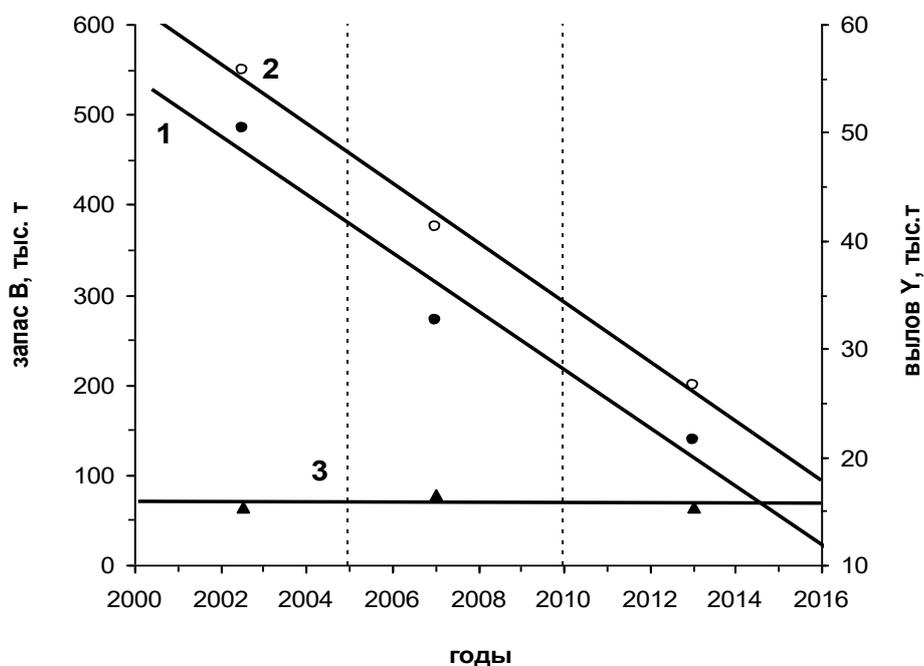
Рассмотрим показатели промысла шпрота на крымском шельфе в 2000–2016 гг. В общей сложности в его пределах в этот период было добыто 268 313 тонн, что составило около половины (46,6 %) суммарного вылова Украины и России (табл. 6). При этом в многолетнем плане доля вылова крымского шпрота последовательно возрастала — от 30,6 % в 2000–2004 гг. до 50,7 %

Таблица 6. Многолетняя динамика (2000–2016) запаса и вылова шпрота в северной части Чёрного моря и в Крымском регионе**Table 6.** Long-term (2000–2016) dynamics of sprat stock and catch in the northern part of the Black Sea and in Crimean region

Годы	Запас, тыс. т	Вылов, общий/среднегодовой, т			
		Украина	Россия	Украина + РФ	Крым
2000–2004	> 500	<u>189 269</u>	<u>62 616</u>	<u>251 885</u>	<u>76 983</u>
		37 853,8	12 523,2	50 377,0	15 396,6
2005–2010	250–500	<u>145 395</u>	<u>49 948</u>	<u>195 343</u>	<u>99 092</u>
		24 232,5	8 324,7	32 557,3	16 515,3
2011–2016	< 250	<u>52 996*</u>	<u>9 878*</u>	<u>129 127</u>	<u>92 238</u>
		17 665,3	3 292,7	21 521,2	15 373,0

Примечание: числитель — общий вылов; знаменатель — среднегодовой вылов; * — 2011–2013

Note: numerator – total catch; denominator – average annual catch; * – 2011–2013

**Рис. 3.** Многолетняя динамика запаса шпрота (1), общего вылова (2) и вылова в Крымском регионе (3)**Fig. 3.** Long-term dynamics of sprat stock (1), total catch (2), and catch in Crimean region (3)

в 2005–2010 гг. и до 71,4 % в 2011–2016 гг. Абсолютные объёмы среднегодового вылова на протяжении всего исследованного периода сохранялись постоянными, варьируя от 15 373 т (2011–2016) до 16 515 т (2005–2010). Таким образом, на фоне сокращения общего запаса шпрота в регионе промысловая нагрузка на крымском участке шельфа увеличилась в 2,5 раза, что и послужило, по нашему мнению, причиной негативного изменения размерной и возрастной структуры популяции. Прямым доказательством этого служит сопряжённость межгодовых колебаний вылова и размерно-возрастных показателей шпрота в Крымском регионе в 2003–2013 гг.: выловы свыше 15–16 тыс. т сопровождались уменьшением средней длины и сокращением среднего возраста, смещёнными относительно года вылова на один год вперёд [5]. С учётом вышеизложенного можно заключить, что необходимым условием для предотвращения дальнейшей деградации, а также для восстановления и поддержания стабильного состояния популяции шпрота в Крымском регионе является регулирование

промысла. В соответствии с выявленной сопряжённостью вылова и размерно-возрастных показателей величина его не должна превышать 15–16 тыс. т, за исключением лет с высоким пополнением промысловой биомассы.

Негативное влияние климатического (температурного) и трофического факторов на состояние крымской популяции следует признать, по нашему мнению, второстепенным. Косвенным подтверждением этого может служить хорошо известное положение, согласно которому популяции (виды) рыб с ранним сроком наступления половой зрелости и с непродолжительной жизнью особей (по [7], первый тип нерестовой популяции) при глубоких и необратимых изменениях условий существования довольно быстро восстанавливают свою численность [6]. Между тем в случае крымского шпрота (короткоциклового вида) в условиях продолжающегося с конца 1990-х гг. потепления климата в черноморском регионе [9] этого не наблюдается. В свою очередь, последовательно прогрессирующая деградация шпрота на крымском шельфе должна свидетельствовать о структурированности промыслового запаса вида, о его подразделённости на ряд пространственно обособленных, самовозобновляемых образований (единиц запаса), то есть о наличии внутривидовой дифференциации.

Заключение. Изучена многолетняя (2000–2016) динамика биологических (качественных) параметров, определяющих популяционную плодовитость (репродуктивный потенциал) черноморского шпрота в Крымском регионе: размерная, возрастная и половая структура нерестовой части популяции, абсолютная индивидуальная плодовитость. В многолетнем плане установлено последовательное ухудшение каждого из исследованных показателей. В 2011–2016 гг. по сравнению с 2002–2004 гг. средняя длина нерестовых особей сократилась в 1,22 раза (с 7,36 до 6,03 см), что сопровождалось снижением абсолютной индивидуальной плодовитости в 2,39 раза (с 13 625 до 5690 икринок). Численное соотношение между самками и самцами уменьшилось в 1,23 раза (с 1,95 до 1,59). Одновременно величина запаса шпрота в северной половине Чёрного моря сократилась более чем в 2,5 раза (с > 500 до < 200 тыс. т). В итоге величина его популяционной плодовитости в 2011–2016 гг. по сравнению с 2000–2004 гг. уменьшилась более чем в 7 раз ($2,39 \times 1,23 \times 2,5$).

Результаты изучения промысла шпрота в северной половине Чёрного моря (от устья р. Дунай до Керченского пролива) показали 2-кратное (с 251,9 тыс. т в 2000–2004 гг. до 129,1 тыс. т в 2011–2016 гг.) снижение общего и более чем 2,3-кратное (с 50,4 до 21,4 тыс. т) — среднегодового вылова. В это же время на крымском шельфе, напротив, общий вылов увеличился в 1,2 раза (с 76,9 до 92,2 тыс. т), а его среднегодовая величина осталась без изменения (15,39 тыс. т в 2000–2004 гг. и 13,37 тыс. т в 2011–2016 гг.). Из этого следует, что при сокращении запаса в 2,5 раза величина промысловой нагрузки на крымскую популяцию увеличилась в 2,5 раза, что даёт основание рассматривать фактор промысла в качестве главной причины её деградации. Справедливость этой версии подтверждает факт сопряжённости межгодовых колебаний между выловом и размерно-возрастными показателями шпрота в Крымском регионе в 2003–2013 гг.: выловы свыше 15–16 тыс. т сопровождалась уменьшением средней длины и сокращением среднего возраста, смещёнными относительно года вылова на один год вперёд. Необходимым условием для предотвращения дальнейшей деградации, а также для восстановления и поддержания стабильного состояния популяции шпрота на крымском шельфе и её репродуктивного потенциала является регулирование промысла. Негативное воздействие природных (климатического и трофического) факторов на состояние популяции следует признать второстепенным.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ 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. Геодакян В. А. Эволюционная логика дифференциации полов // *Математические методы в биологии*. Киев : Наукова думка, 1977. С. 84–106. [Geodakyan V. A. Evolyutsionnaya logika differentsiatsii polov. In: *Matematicheskie metody v biologii*. Kiev : Naukova dumka, 1977, pp. 84–106. (in Russ.)]
2. Гирагосов В. Е., Зуев Г. В., Репетин А. Н. Изменчивость репродуктивного потенциала черноморского шпрота (*Sprattus sprattus phalericus*) в связи с температурными условиями среды // *Морской экологический журнал*. 2006. Т. 5, № 4. С. 5–22. [Giragosov V. E., Zuev G. V., Repetin A. N. Variability of reproductive potential of the Black Sea sprat (*Sprattus sprattus phalericus*) in connection with temperature environmental conditions. *Morskoy ekologicheskij zhurnal*, 2006, vol. 5, no. 4, pp. 5–22. (in Russ.)]
3. Глущенко Т. И. Питание и оценка рациона черноморского шпрота в 2009–2010 годах // *Труды ЮгНИРО*. 2011. Вып. 49. С. 34–39. [Glushchenko T. I. Nutrition and assessment of Black Sea sprat in 2009–2010. *Trudy YugNIRO*, 2011, iss. 49, pp. 34–39. (in Russ.)]
4. Глущенко Т. И., Сороколит Л. К., Негода С. А. Условия нагула черноморского шпрота в основных районах летнего промысла в современный период // *Рыбное хозяйство Украины*. 2005. № 3–4 (38–39). С. 6–8. [Glushhenko T. I., Sorokolit L. K., Negoda S. A. Usloviya nagula chernomorskogo shprota v osnovnykh raionakh letnego promysla v sovremennyi period. *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 2005, no. 3–4 (38–39), pp. 6–8. (in Russ.)]
5. Зуев Г. В., Бондарев В. А., Самотой Ю. В. Локальный перелов черноморского шпрота (*Sprattus sprattus*: Clupeidae: Pisces) и внутривидовая дифференциация // *Морской биологический журнал*. 2018. Т. 3, № 1. С. 35–45. [Zuyev G. V., Bondarev V. A., Samotoi I. V. Local overfishing of the Black Sea sprat (*Sprattus sprattus*: Clupeidae, Pisces) and intraspecies differentiation. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2018, vol. 3, no. 1, pp. 35–45. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2018.03.1.04>
6. Кошелев Б. В. *Экология размножения рыб*. Москва : Наука, 1984. 307 с. [Koshelev B. V. *Ekologiya razmnnozheniya ryb*. Moscow : Nauka, 1984, 307 p. (in Russ.)]
7. Монастырский Г. Н. О типах нерестовых популяций у рыб // *Очерки по общим вопросам ихтиологии*. Москва : Наука, 1953. С. 295–305. [Monastyrskii G. N. O tipakh nerestovykh populyatsii u ryb. In: *Ocherki po obshchim voprosam ikhtiologii*. Moscow : Nauka, 1953, pp. 295–305. (in Russ.)]
8. Никольский В. Н., Шульман Г. Е., Юнева Т. В., Щепкина А. М., Ивлева Е. В., Бат Л., Кидейш А. О современном состоянии обеспеченности пищей черноморского шпрота // *Доповіді НАН України*. 2007. № 5. С. 194–198. [Nicol'skii V. N., Shul'man G. E., Yuneva T. V., Shchepkina A. M., Ivleva E. V., Bat L., Kideys A. O sovremennom sostoyanii obespechennosti pishchei chernomorskogo shprota. *Dopovidi NAN Ukrainy*, 2007, no. 5, pp. 194–198. (in Russ.)]
9. Репетин Л. Н. Пространственная и временная изменчивость температурного режима прибрежной зоны Чёрного моря // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное исследование ресурсов шельфа*. 2012. Вып. 26, т. 1. С. 99–116. [Repetin L. N. Prostranstvennaya i vremennaya izmenchivost' temperaturnogo rezhima pribrezhnoy zony Chernogo morya. *Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoi i shel'fovoi zon i kompleksnoe issledovanie resursov shel'fa*, 2012, iss. 26, vol. 1, pp. 99–116. (in Russ.)]
10. Шляхов В. А., Шляхова О. В. Динамика структуры траловых уловов шпрота на украинском шельфе Черного моря и воздействие на неё природных факторов и рыболовства // *Труды ЮгНИРО*. 2011. Т. 49. С. 12–33. [Shlyakhov V. A., Shlyakhova O. V. Dinamika struktury tralovykh ulovov shprota na ukrainskom shel'fe Chernogo morya i vozdeistvie na nee prirodnykh faktorov i rybolovstva. *Trudy YugNIRO*, 2011, vol. 49, pp. 12–33. (in Russ.)]
11. Шляхов В. А., Шляхова О. В., Надолинский В. П., Перевалов О. А. Промысловые биологические показатели российского рыболовства для важнейших распределённых запасов водных биоресурсов Черного моря в 2015–2016 годах и в ретроспективном периоде // *Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона : материалы IX Междунар. науч.-практ. конф., Керчь, 6 октября 2017 г. Керчь : ЮгНИРО, 2017. С. 24–37. [Shlyakhov V. A., Shlyakhova O. V., Nadolinskii V. P., Perevalov O. A. Fishery and biological*

- indices of Russian fisheries for the principal shared stocks of marine biological resources in the Black Sea in 2015–2016 and retrospectively. In: *Sovremennye rybokhozyaistvennye i ekologicheskie problemy Azovo-Chernomorskogo regiona* : materialy IX Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., Kerch', Oct. 6, 2017. Kerch' : YugNIRO, 2017, pp. 24–37. (in Russ.)]
12. Шульман Г. Е., Никольский В. Н., Юнева Т. В. Воздействие глобальных климатических и региональных факторов на мелких пелагических рыб Черного моря // *Морской экологический журнал*. 2007. Т. 6, № 4. С. 18–30. [Shul'man G. E., Nikol'skii V. N., Yuneva T. V. Influence of global climatic and regional anthropogenic factors on small pelagic fishes of the Black Sea. *Morskoj ekologicheskij zhurnal*, 2007, vol. 6, no 4, pp. 18–30. (in Russ.)]
13. *Stock Assessments in the Black Sea (STECF-17-14)* / M. Cardinale, J.-N. Druon, A. Mannini (Eds). Luxemburg, 2017, 498 p. (Sci., Techn. and Econom. Comm. for Fish. STECF).

**MODERN STATE OF THE REPRODUCTIVE POTENTIAL OF BLACK SEA SPRAT
SPRATTUS SPRATTUS PHALERICUS (RISSO, 1826) (PISCES: CLUPEIDAE)
IN CRIMEAN REGION AND CONDITIONS FOR ITS FORMATION**

G. V. Zuyev

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: zuev-ger@yandex.ru

Black Sea sprat *Sprattus sprattus phalericus* (Risso, 1826) is one of the abundant species of fish in the Sea of Azov – Black Sea basin. Due to its large number sprat plays an extremely important role in the ecosystem of the sea, being an intermediate link between zooplankton and representatives of the highest trophic level – large predatory fish, dolphins, and birds. At the same time sprat is one of the important commercial fish in all the Black Sea countries, steadily being on the second place of catch volume in recent decades (after anchovy). The total catch reaches 100 thousand tons. Turkey and Ukraine are the main producing countries. Monitoring and forecast of biological state of sprat population with rising fishing intensity and climate changes are urgent tasks. The research subject of this article is the long-term (2000–2016) dynamics of biological (qualitative) parameters determining the population fecundity of Black Sea sprat in Crimean region, the current state of reproductive potential, and the conditions for its formation. The article is based on the results of own research. Parameters determining the population fecundity – the length-age structure of the spawning part population, the absolute individual fecundity, and the sex structure population (ratio between females and males) – were studied. In the long-term plan (in 2011–2016 compared with 2000–2004) the average length of spawning females decreased by 1.22 times (from 7.36 to 6.03 cm). It was accompanied by a decrease in the absolute individual fecundity by 2.39 times (from 13 625 to 5690 eggs). The numerical ratio between females and males decreased by 1.23 times (from 1.95 to 1.59). Simultaneously the sprat stock in the northern part of the Black Sea was reduced by more than 2.5 times (from > 500 thousand tons to < 200 thousand tons). As a result, the population fecundity of sprat in Crimean region decreased by more than 7 times ($2.39 \times 1.23 \times 2.5$). The conditions of sprat fishing in the northern part of the Black Sea (from the mouth of the Danube River to the Kerch Strait) were studied. They showed 2-fold decrease (from 251.9 thousand tons in 2000–2004 to 129.1 thousand tons in 2011–2016) in the total catch and more than 2.3-fold decrease (from 50.4 to 21.4 thousand tons) in average annual catch in this region. On the contrary, in the Crimean shelf the total catch at that time increased by 1.2 times (from 76.9 to 92.2 thousand tons), and its average annual value remained constant (15.4 thousand tons). While reducing the stock by 2.5 times, this means that the fishing pressure on the Crimean population increased 2.5 times. This fact suggests considering the factor of fishing as the main cause of its degradation. Validity of this version is confirmed by the fact of conjugacy (inverse connection) of interannual fluctuations between the catch and the length-age parameters of sprat in Crimean region in 2003–2013 previously found: catches over 15–16 thousand tons were accompanied by a next year decrease in the fish average length. Regulation of fishing is a necessary condition for preventing further degradation, for restoring and maintaining sustainable state of sprat population in Crimean region and its reproductive potential. The negative impact of natural (climatic and trophic) factors on the state of the population should be recognized as a secondary one. Local overfishing indicates indirectly the structuring of the commercial stock of Black Sea sprat, its division into a number of geographical aggregations (stock units), i. e. the presence of intraspecific differentiation.

Keywords: sprat, long-term dynamics, fecundity, population structure, fishing, stock

УДК 582.28(262.5)

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ БАССЕЙНА ЧЁРНОГО МОРЯ: НАПРАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

© 2019 г. Н. И. Копытина

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: kopytina_n@mail.ru

Поступила в редакцию 09.04.2019; после доработки 22.08.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Проанализирован 71 литературный источник, посвящённый изучению микроскопических грибов (микромикетов) Чёрного моря, за период с 1867 по 2018 г. В 1860-е и 1930-е гг. зафиксированы эпидемии морской травы *Zostera marina*, вызванные грибоподобными организмами рода *Labyrinthula*. В конце XIX — начале XX века также выявлено несколько случаев локального микоза морской травы. В 1960–2000-е гг. зарегистрированы эпизоотии беспозвоночных животных, вызванные грибами: *Hyphochytrium peniliae* поражал ветвистоусого рачка *Penilia avirostris* и вызывал его массовую гибель; гриб *Leptolegnia pontica* паразитировал на яйцах усонного рачка *Balanus improvisus* и существенно сократил плодovitость популяции; вселение *Ostracoblabe implexa* привело к уничтожению популяций устрицы *Ostrea edulis*. В настоящее время отмечены единичные случаи поражения грибом *O. edulis* культивируемой устрицы *Crassostrea gigas*, спат которой привозят из других стран. На створках *C. gigas* и *Mytilus galloprovincialis* выделены грибы-эпифиты. В зрелых ооцитах *M. galloprovincialis* найдена микроспоридия *Steinhausia mytilovum*. На рыбах и в их внутренних органах обнаружены гифальные грибы и внутриклеточные паразиты — микроспоридии. На покровах бутылконосых дельфинов выявлены грибы. Проведены работы по изучению микобиоты пелагиали, бентали, целлюлозосодержащих субстратов, пены, перифитона, микро- и макроводорослей, морских трав. В настоящее время в бассейне Чёрного моря известно 435 видов грибов из 212 родов, 84 семейств, 50 порядков, 19 классов, 3 царств. В морской среде зафиксировано 372 вида, в пресной — 196, в гиперсолёных водоёмах — 31. В водной толще обнаружено 230 видов микромикетов (в сероводородной зоне — 21); в донных отложениях — 202 (в сероводородной зоне — 31); на древесине — 70; в перифитоне на стёклах и искусственной каменной супралиторали (причалы, траверсы) — 30; в морской пене — 46; на/в моллюсках — 50; на коже дельфинов — 18; на макроводорослях — 116; на микроводорослях — 2; на морских травах — 38; на/в рыбах — 69; на/в ракообразных — 14. Количество видов, обнаруженных в прибрежных водах разных районов, составило: Грузии — 8 видов; г. Геленджика (Россия) — 56; полуострова Крым — 276; северо-западной части Чёрного моря — 177; Румынии — 112; Болгарии — 44; Турции — 9; р. Дунай — 238; о-ва Змеиный — 30. В настоящем обзоре рассмотрены работы по оценке способности грибов утилизировать целлюлозу, нефть, нефтепродукты, фенол, серу и вызывать коррозию металлов; проанализированы первые результаты исследований антимикробной активности факультативно и облигатно морских грибов Чёрного моря, а также способности микромикетов к люминесценции. Определены перспективные направления морских микологических исследований.

Ключевые слова: Чёрное море, морские грибы, эпизоотия, моллюски, рыбы, ракообразные, сероводородная зона, вода, донные отложения, древесина

Грибы — филогенетически разнородная группа гетеротрофных организмов, которые обладают некоторыми признаками растений и животных. С эколого-трофической точки зрения к грибам относят гетеротрофные эукариотные организмы с исключительно осмотротфным типом питания. Организмы, ранее относившиеся к царству Мусота (грибы в традиционном понимании), входят в состав

трёх царств: Fungi (собственно грибы); грибоподобные организмы, включённые в царство Chromista, или хромисты (куда входят и многие водоросли); Protozoa (простейшие животные), к которым многие исследователи относят организмы с неясным систематическим положением — Microsporidia, все представители которой являются облигатными внутриклеточными паразитами эукариотических организмов [46, 59].

Грибы способствуют биологическому очищению среды. Некоторые виды патогенны и вызывают микозы и микотоксикозы растений и животных [2, 4, 9, 12, 13, 14, 28, 32, 38, 39, 41, 42, 43, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 56, 57].

Из морской среды выделено около 1500 видов грибов. Их разделяют на две группы — облигатные и факультативные. Облигатные — постоянные обитатели морских водоёмов. Факультативные — это эвритопные виды, которые заносятся в море с суши и, как показывает практика, доминируют как в видовом составе, так и по численности и частоте встречаемости. На VII Международном симпозиуме по морской и пресноводной микологии в Гонконге предложено в качестве главного критерия при определении морских грибов использовать их способность прорасти и формировать мицелий в естественных морских условиях [63].

Цель работы — обобщить литературные и собственные данные, посвящённые исследованию водных грибов в бассейне Чёрного моря; оценить биоразнообразие грибов на гидробионтах и различных субстратах, в биотопах и регионах; изложить результаты исследований жизнедеятельности грибов (антибактериальная активность, способность к деструкции некоторых материалов и к биолюминесценции); выделить направления перспективных исследований.

Паразиты и эпибионты растений. В 1860-е гг. на одесском побережье произошла массовая гибель морской травы *Zostera marina* Linnaeus, 1753. Возбудителями эпидемии оказались организмы из новой для науки группы — лабиринтуловых: *Labyrinthula macrocystis* Cienk., 1867 и *L. vitellina* Cienk., 1867 [по: 4]. Известны и другие случаи паразитирования грибоподобных организмов из рода *Labyrinthula* на морской траве в Чёрном море. В 1930-е гг. зафиксировали гибель зостеры от гриба *L. macrocystis*; эпидемию отметили в бухтах Керченская и Новороссийская, в Керченском проливе, на побережье городов Севастополя и Одессы. В тот же период подобная эпидемия охватила все моря планеты, причём для многих стран она носила характер экономического бедствия. Заболевание получило название wasting disease («хроническое истощение водорослей») [41].

В 1998 г. в Каркинитском заливе отмечена массовая гибель *Z. marina*, вызванная *Labyrinthula zosterae* D. Porter & Muehlst., 1991 [50].

От сильного шторма 11 ноября 2007 г. в Керченском проливе пострадало 11 судов, 5 из них затонуло. Спустя несколько месяцев после разлива мазута (в результате кораблекрушений) российские альгологи в Таманском заливе отметили признаки wasting disease у некоторых особей *Z. marina*. Возможно, повышенное содержание нефтепродуктов увеличило чувствительность морской травы к инфекции. С другой стороны, способствовать развитию этого заболевания могло и постоянное антропогенное воздействие на акваторию Таманского залива [45].

В бухтах Казачья и Камышовая (г. Севастополь, Крым) на поверхности листьев морских трав выявлено 38 видов микромицетов (на *Z. marina* — 35, на *Z. noltii* Homermann, 1832 — 9, на *Ruppia* sp. — 6); на водорослях-макрофитах — 116 видов грибов [4].

В 1903 г. на цианобактерии *Calothrix* sp. описан хитридиомицет *Coenomyces consuens* K. N. Deckenb., 1901 (= *Deckenbachia consuens* (K. N. Deckenb.) Jacz., 1931) [по: 37].

Ракообразные. В 1899 г. на морских беспозвоночных обнаружен новый для науки вид дрожжеподобного гриба *Metschnikowia artemiae* T. Kamiński, 1899 из нового для науки рода [37]. В 1970-е гг. в солёных прудах Румынии в непосредственной близости от берега Чёрного моря выделили дрожжевые грибы *M. bicuspidata* (Metschn.) T. Kamiński, 1900 и *M. artemiae*, паразитирующие на ветвистоусом рачке *Daphnia magna* Straus, 1820 и жаброногом рачке *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) Leach, 1819 [64].

В 1963–1969 гг. в северо-западной части Чёрного моря (далее — СЗЧМ) исследователи отмечали летальную грибковую эпизоотию ветвистоусого рачка *Penilia avirostris* Dana, 1852 [4], которая развивалась очень быстро и достигала максимума при температуре воды +20...+22 °С; за 2–3 недели численность популяции рачка снижалась до 2,3 % от первоначальной. Заболевание *P. avirostris* также регистрировали в районе прибрежных вод городов Батуми, Новороссийска, Севастополя. Возбудитель заболевания, *Hypochytrium peniliae* N. J. Artemczuk et Zelez., 1969, — вид, оказавшийся новым для науки [4].

В 1965–1967 гг. в бух. Севастопольская на яйцах усонного рачка *Balanus improvisus* Darwin, 1854 паразитировал сапролегневый гриб *Leptolegnia pontica* N. J. Artemczuk, 1968 [49]. Заражение началось в июне, достигало максимума в августе, заканчивалось в сентябре — ноябре. Исследователи высказали предположение, что инвазия, снижающая плодовитость популяции баянусов, может стать зоогеографическим фактором, препятствующим расширению ареала этого вида [49].

В мускулатуре, сердечной мышце и яичниках ракообразных *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823; *Orchestia bottae* Milne-Edwards, 1840; *Dikerogammarus villosus* Sowinsky, 1894; *Pontogammarus crassus* Sovinsky, 1904 и *Palaemon elegans* Rathke, 1837, обитающих в дельте р. Днепр, водохранилищах Днепровского каскада ГЭС, лиманах Днепровский и Днепро-Бугский, а также в прибрежье Кинбурнской косы, обнаружили микроспоридии *Gurleya orchestiae* M. O. Ovcharenko et Kurandina, 1987; *G. pontica* Ovcharenko, 1984; *Nosema dikerogammari* Ovcharenko et Kurandina, 1987; *N. pontogammari* M. O. Ovcharenko et Kurandina, 1987; *Thelohania muelleri* (Pfeiffer) Stempel, 1902; *T. contejeani* Henneguy, 1892 [9, 42, 43, 44].

Моллюски. В 1975–1977 гг. в Ягорлыцком заливе неизвестное ранее в Чёрном море заболевание вызвало массовую смертность устрицы *Ostrea edulis* Linne, 1758. Болезнь распространилась на все крупнейшие устричники северо-западной части Чёрного моря, Кавказа и Крымского полуострова (Ягорлыцкий, Джарылгачский и Каркинитский заливы, бухты г. Севастополя, прибрежную зону Карадагского заповедника, оз. Донузлав). Установлено, что моллюски были поражены раковинной болезнью, которую ранее отмечали только у берегов Нидерландов и Франции. Возбудителем эпизоотии оказался гриб-вселенец *Ostracoblabe implexa* Vornet et Flahault, 1891 [13]. Гриб развивается в наростах на створках устриц, но в мягкие ткани моллюска не проникает; болезнь протекает в хронической форме. Смертность устриц, особенно молодежи, значительно возрастает при понижении концентрации растворённого в воде кислорода и солёности, а также при увеличении температуры воды до значений выше +22 °С. Заболеванию подвержены устрицы всех возрастов [13]. В начале 2000-х гг. также регистрировали случаи заболевания устриц в оз. Донузлав и бухтах г. Севастополя [39, 47, 48].

Акклиматизация гигантской (тихоокеанской, японской) устрицы *Crassostrea gigas* Thunberg, 1793 началась в 1980-е гг. В Чёрном море выявлены единичные случаи раковинной болезни у *C. gigas*. Известно, что гриб *O. implexa* поражает все виды устриц. Помимо моллюсков, гриб живёт в кораллах и в скалах и имеет широкий ареал [47].

В бухте Казачья (г. Севастополь) из внутренних органов моллюсков *C. gigas*, раковины которых были повреждены сверлящей губкой *Pione vastifica* Hapsock, 1849, высевались только дрожжевые (76 %) и мицелиальные (24 %) грибы; масса тела больных устриц значительно снижалась [38]. На раковинах здоровых устриц выделено 3 вида грибов: *Pseudallescheria boydii* (Shear) McGinnis, A. A. Padhye et Ajello, 1982; *Cirrenalia macrocephala* (Kohlm) Meyers, R. T. Moore, 1960; *Rhizopus arrhizus* A. Fisch., 1892. На устрицах, поражённых губкой, число видов грибов было больше в 3 раза: *Chaetomium globosum* Kunze, 1817; *C. cochliodes* Palliser, 1910; *Pseudallescheria boydii*; *Remispora quadriremis* (Hohnk) Kohlm., 1960; *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., 1912; *Piricauda pelagica* T. Johnson, 1958; *C. macrocephala*; *Cunninghamella elegans* Lendn., 1907; *Mortierella* sp. [32].

В конце 1980-х гг. обнаружено грибковое поражение раковин черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819, возбудитель которого не был идентифицирован [по: 12].

В 2000-е гг. в акватории Одесского морского торгового порта на створках мидий идентифицировано 22 вида грибов [8].

В 1980-е гг. в зрелых ооцитах *M. galloprovincialis* выявили микроспоридию *Steinhausia mytilovum* (I. A. Field) R. Sprague, Ormières et Manier, 1972 [12, 56]. Паразита впервые обнаруживают у мидий, достигших половой зрелости. Экстенсивность инвазии максимальна у особей длиной 60–70 мм. Массовое созревание спор *S. mytilovum* начинается после прогрева воды выше +14 °С. Вдоль побережья от Одессы до Карадага паразит был выявлен у 0,8–13,1 % мидий; в некоторых районах экстенсивность инвазии достигала 76 % [12, 56].

Эпизодические исследования грибов на створках двустворчатых моллюсков *M. galloprovincialis*, *C. gigas* и *O. edulis* позволили обнаружить 49 видов грибов из отделов Ascomycota (45 видов), Zygomycota (2), Oomycota (1), Microsporidia (1) [8, 12, 13, 32, 47, 55].

Рыбы. В 1982 г. в дельте р. Дунай и оз. Сасык при исследовании микобиоты воды, кожи, жабр и пищевода леща *Abramis brama* Linnaeus, 1758; карася *Cyprinus carassius* Linnaeus, 1758 и судака *Sander lucioperca* Linnaeus, 1758 на коже и внутренних органах рыб выделено 60 видов микромицетов. Установлено, что видовой состав грибов на коже рыб зависит от состава микобиоты воды, а различия в качественном составе и степени обсеменённости грибами кожи и внутренних органов рыб между отдельными видами не существенны [11].

В дельтах рек северо-западной части моря и в прибрежных водах полуострова Крым изучена заражённость микроспоридиями бычков: чёрного *Gobius niger* Linnaeus, 1758; кнута *Mesogobius batrachocephalus* Pallas, 1814; каспийского *Neogobius caspius* Eichwald, 1831; рыжика *Ponticola eurycephalus* Kessler, 1874; песочника *N. fluviatilis* Pallas, 1814; кругляка *N. melanostomus* Pallas, 1814; кругляка каспийского *N. melanostomus affinis* Since, 1990; головача *N. kessleri* Günther, 1861; губана *N. platyrostris* Pallas, 1814; ратана *N. ratan* Nordmann, 1840; мраморного *Pomatoschistus marmoratus* Risso, 1810; травяника *Zosterisessor ophiocephalus* Pallas, 1814; а также атерины *Atherina boyeri* Risso, 1810; глазчатого губана *Symphodus ocellatus* Linnaeus, 1758; барабули *Mullus barbatus ponticus* Essipov, 1927. В рыбах обнаружены микроспоридии *Glugea anomala* (Moniez) Gurley, 1893; *G. destruens* Thélohan, 1891; *G. gigantea* Thélohan, 1895; *G. melanostomi* Ovcharenko, 1985; *G. shulmani* Gasimagomedov et I. V. Issi, 1970; *Glugea* spp.; *Loma acerinae* (Jírovec) Lom et Pekkar, 1999; *Loma* sp.; *Pleistophora tuberifera* Gasimagomedov et I. V. Issi, 1970 [43, 57, 69]. Интенсивность заражения микроспоридиями у рыб возрастает с увеличением длины тела и достигает максимума в экземплярах старших возрастных групп и у нерестующих самцов (бычки). Инвазированные взрослые рыбы характеризуются меньшим соотношением длины тела и массы. Очевидно, наличие паразитов обуславливает хронический характер заболевания, не приводящий к гибели половозрелых рыб [43].

На/в рыбах бассейна Чёрного моря выделено 69 видов грибов.

Дельфины и места их обитания. Развитие сети дельфинариев, востребованность дельфинотерапии и рост популярности услуги «плавание с дельфинами» определили необходимость ветеринарного контроля животных и мест их обитания. В океанариуме, расположенном в бух. Казачья, в воде вольеров с дельфинами выделено 17 видов грибов, в донных отложениях — 21, на деревянных частях вольеров — 5 [54, 55]. На коже черноморских афалин *Tursiops truncatus ponticus* Barabash, 1940 обнаружены 18 видов грибов: *Candida dubliniensis* D. J. Sullivan, Western., K. A. Haynes, Dés. E. Benn. et D. C. Coleman, 1995; *Diutina rugosa* (H. W. Anderson) Khunnamw., Jindam., Limtong et Lachance, 2015; *Torula herbarum* (Pers.) Link, 1809; *Aspergillus carneus* Blochwitz, 1933; *A. clavatonanicus* Bat., H. Maia et Alecrim, 1955; *A. flavus* Link, 1809; *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G. A. de Vries, 1952; *C. herbarum* (Pers.) Link, 1816; *Neurospora sitophila* Shear et B. O. Dodge, 1927; *Cirrenalia macrocephala* (Kohlm.) Meyers et R. T. Moore, 1960; *Drechslera andersenii* A. Lam, 1986; *Emericellopsis kiliense* (Grütz) Summerbell, 2011; *Moheitospora* sp.; *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, 1901;

Phialemonium atrogriseum (Panas.) Dania García, Perdomo, Gené, Cano et Guarro, 2013; *P. expansum* Link, 1809; *Pichia fermentans* Lodder, 1932; *Talaromyces duclauxii* (Delacr.) Samson, N. Yilmaz, Frisvad et Seifert, 2011 [55].

В 2012–2013 гг. в бух. Казачья изучены микроскопические водоросли и грибы в сообществах обрастания стеклянных пластин [1]. В сообществах перифитона идентифицировано 46 родов микроводорослей (16 родов — из отдела Cyanobacteria, 17 — Bacillariophyta, 5 — Dinophyta, 8 родов — из других отделов) и 23 вида грибов (20 видов — из отдела Ascomycota, 1 вид — Blastocladiomycota, 2 вида — Zygomycota). В вольерах с дельфинами обнаружено 40 родов водорослей и 18 видов микромицетов, а на открытом участке бухты — 36 родов водорослей и 17 видов грибов. В вольерах количество видов грибов по сезонам изменялось от 5 до 13, в открытой части бухты — от 3 до 9. Наиболее часто встречались конидии грибов *Alternaria alternata*, *Stachybotrys chartarum* (Ehrenb.) S. Hughes, 1958, *Absidia* sp. (по 35,2 %), *Fungi* sp. [1].

Микобиота отдельных районов Чёрного моря.

Открытая часть моря. В 1946–1955 гг. проведены первые исследования бактерий и дрожжевых грибов в пелагиали прибрежных и открытых районов Чёрного моря, в том числе в сероводородной зоне, на глубинах более 2000 м [35, 36].

Методом посева дрожжи обнаружены в кислородной (0–2081 КОЕ·л⁻¹) и сероводородной (0–2000 КОЕ·л⁻¹) зонах. Выделены дрожжевые грибы из родов *Candida*, *Cystofilobasidium*, *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* [35, 36]. Методом прямой микроскопии выявлено, что в горизонтах воды, содержащих кислород, численность грибов изменялась от 0 до 2150 кл.·л⁻¹, а в сероводородной зоне — от 0 до 550 кл.·л⁻¹. Методом счёта выросших на средах колоний дрожжи обнаружены в 40 % проб, а методом прямой микроскопии — в 56 % [35].

Авторы установили следующее:

- дрожжевые грибы распространены в прибрежных и открытых районах моря во всей толще воды, но преобладают в прибрежной зоне;
- солёность морской воды не лимитирует развитие дрожжей;
- дрожжи не обладают сульфатвосстанавливающей способностью;
- дрожжевые организмы являются обитателями морских водоёмов;
- дрожжи участвуют в пищевых цепях гидробионтов.

Также доказана денитрифицирующая способность дрожжей (восстановление нитратов до нитритов) и высказано предположение, что распределение дрожжей в море связано с концентрацией легко усвояемого органического вещества [35, 36].

Летом 1965 г., в научной экспедиции на судне Pillsbury, для микологических исследований взяты 174 пробы воды с 21 станции от поверхности до 2000 м [68]. Каждую пробу воды объёмом 250–500 мл процеживали через целлюлозные фильтры, которые затем помещали на среду с агаром для проращивания. Выделили грибы из родов *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Torulopsis*, *Sporobolomyces*, *Taphrina*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Stemphylium*, *Trichoderma*, *Phoma*, *Bipolaris*, *Epicocclm*, *Hyalodendron*, *Geotrichum*, *Syncephalastrum* и *Circinella*. В кислородной зоне моря обнаружено 45 видов грибов. Доминировали дрожжи *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et Kreger-van Rij, 1984; *Candida diddensiae* (Phaff, Mrak & O. B. Williams) Fell et S. A. Mey, 1967; *Rhodotorula rubra* (Schimon) F. C. Harrison 1928; *Rhodotorula glutinis* (Fresen.) F. C. Harrison, 1928; а также аскомицеты *Cladosporium* spp. и *Aureobasidium pullulans* (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud, 1918. Часто встречались *Alternaria tenuissima* (Kunze) Wiltshire, 1933 и *A. alternata*. Встречаемость, количество видов и численность грибов заметно сокращались с увеличением глубины. До глубины 100 м примерно 60 % проб содержали грибы; ниже встречаемость уменьшалась до 25 %. Средняя численность грибов составляла 5–10 КОЕ·л⁻¹, максимальная — 150.

Пробы с численностью более 20 КОЕ·л⁻¹ выделяли на глубине до 100 м. В среднем в образце воды было 1–2 вида грибов [68].

В 1940–1960-е гг. из воды сероводородной зоны Чёрного моря выделен 21 вид грибов. Сделано заключение о сравнительно низкой численности грибов в морских водах, а также об уменьшении видового разнообразия и численности микромицетов с увеличением глубины и удалённости от берега [36, 68].

Данные, которые характеризуют закономерности количественного распределения микробных форм в морской воде, полученные методом счёта колоний на сложных органических средах, выражают в какой-то мере число клеток тех гетеротрофных организмов, которые способны развиваться на искусственных субстратах в лабораторной обстановке [36]. Метод прямого микроскопирования в исследовании грибов также имеет недостатки: можно идентифицировать ряд видов грибов, споры которых характеризуются выраженными морфологическими особенностями, однако при этом не будут учтены виды из родов *Aspergillus*, *Penicillium* и некоторых других, имеющие мелкие споры в форме прозрачных шариков (а по клеткам мицелия морфологическую идентификацию микромицетов не проводят). Именно поэтому учитывают только часть видов и клетки мицелия. На основе этих данных можно рассчитать численность и биомассу пропагул (общее название спор и вегетативных клеток мицелия) грибов.

В рейсе № 89 НИС «Профессор Водяницкий» (октябрь 2016 г.) исследована 81 проба нативной воды на 32 станциях, расположенных на границе шельфа и материкового склона черноморского сектора полуострова Крым [25]. Пробы взяты в слоях воды, соответствующих термоклину (глубина 12–25 м) и началу сероводородной зоны (105–166 м), а также в сероводородной зоне (339–1000 м). Объём воды 1,5–2,0 л сгущали в воронке обратной фильтрации, используя нуклеопоровые фильтры с диаметром пор 1 мкм. Фильтрат фиксировали раствором Люголя, затем просматривали в камере Нажотта. Грибы обнаружены в 80 % проб. Выявлены споры представителей родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Leptosphaeria*, *Pleospora*, *Stemphylium*; споры Fungi sp.; клетки мицелия; хламидоспоры. По частоте встречаемости доминировали хламидоспоры (49,0 %), клетки мицелия (36,5 %) и споры грибов рода *Alternaria* (31,3 %). Численность пропагул грибов во всех слоях воды изменялась от нуля до нескольких тысяч в литре. С увеличением глубины средняя численность возрастала в 1,6–1,9 раза. Так, в слое термоклина она составила (567 ± 175) (0–2555) пропагул·л⁻¹, а в сероводородной зоне — (1064 ± 337) (0–7333) пропагул·л⁻¹. В исследуемых слоях воды доля биомассы мицелия колебалась от 0 до 100 %. Максимальное среднее значение выявлено для сероводородной зоны [(33,9 ± 5,7) %], поэтому можно предположить, что часть мицелия находилась в активном состоянии. Исследование микобиоты было проведено разными авторами и методами с разницей в 52 года, однако результаты подтверждают, что грибы присутствуют во всех горизонтах воды [25].

В 1999–2000 гг. в черноморских сероводородных илах с глубин 1800 и 2250 м обнаружены две формы грибов из класса Krassilnikoviae Kriss et Mitz. [53]. Позднее по постоянным препаратам их идентифицировали как *Aspergillus* spp. [18].

В июле 2005 г. с борта НИС «Профессор Водяницкий» с помощью геологической трубки взяты образцы грунта на восьми станциях (глубины 809–2104 м). В слое ила 0–5 см методом прямого микроскопирования обнаружено 15 видов грибов; методом посева выделены 13 видов (2 вида не идентифицировали) и стерильный мицелий [16].

В феврале 2007 г. в районе палеодельты р. Днепр с борта НИС Meteor отобраны пробы донных отложений на глубине 730 м с помощью подводного телеработа QUEST-4000. В слое грунта 0–1,5 см выделены 7 видов грибов, а в слое 1,5–5,0 см — 4. Согласно радиоизотопной датировке донных отложений этого района, скорость осадконакопления составляет 1–2 мм·год⁻¹ [65], а значит, возраст верхнего 1,5-сантиметрового слоя донных отложений соответствует 7,5–15 годам, а 5-сантиметрового слоя — 25–50 годам [74].

Исследования донных отложений сероводородной батиали в 2005 и 2007 гг. выявили 31 вид грибов (22 выделены в лабораторных условиях, остальные обнаружены в виде спор методом прямого просмотра под микроскопом). Грибы выращивали в аэробных условиях, поэтому можно только констатировать, что микромицеты сохраняют жизнеспособность при длительном пребывании в илах сероводородной зоны Чёрного моря и прорастают, попадая в кислородные условия. Микроскопирование нативных проб выявило колебание численности пропагул в донных отложениях от 0 (глубина 2090 м) до 3755 (глубина 1875 м) пропагул · г⁻¹ сух. грунта [16, 17, 31, 74].

В 2010 г. в образцах грунта, полученных во время рейса судна *Maria S. Merian* (Германия), в районе пролива Босфор был найден септированный мицелий грибов в зоне перехода от кислородных к бескислородным условиям (глубины 117, 150, 252, 263 м) и в сероводородной зоне (2250 м). На всех станциях мицелий формировал плотные скопления (агрегации) округлой формы. В некоторых агрегациях обнаружены фрагменты бентосной фауны и флоры [сильно трансформированные раковины двустворчатых моллюсков и пустые створки диатомовых водорослей (*Coscinodiscus*)]. Различия в морфологии гиф свидетельствуют о видовом разнообразии грибов в экстремальных условиях бентали [71].

Черноморский сектор шельфа полуострова Крым. В 1960-е гг. впервые исследована микробиота бухт Казачья и Камышовая и мыса Фиолент (г. Севастополь). Выделено 119 видов грибов из отделов Oomycota, Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota: в донных отложениях — 89 видов микромицетов, в воде — 64, на макроводорослях — 67, на морских травах (*Z. marina* L., *Z. noltii* Hornemann, *Ruppia* sp.) — 21. Во всех биотопах отмечено преобладание эвритопных факультативно водных грибов из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Dendryphiella*, *Stemphylium*, *Fusarium*. Впервые в Чёрном море найдено 5 видов облигатно морских грибов. Описаны новые для науки виды: *Leptoglenia pontica* N. J. Artemczuk, 1968; *Hyphochytrium peniliae* N. J. Artemczuk et Zelez., 1969; *Chaetomium heteropilum* N. J. Artemczuk, 1980; *Papularia algicola* N. J. Artemczuk, 1980 (= *Arthrimum algicola* (N. J. Artemczuk) E. B. G. Jones, Sakay., Suetrong, Somrith. & K. L. Pang, 2010); *Diplodia thalassia* N. J. Artemczuk, 1980. Дополнен диагноз вида *Emericellopsis maritima* Beliakova, 1970 [40].

В дальнейшем в бух. Казачья грибы выделяли из разных экотопов: морской пены, воды, донных отложений, перифитона стёкол обрастания, эпифитона талломов водорослей-макрофитов и морских трав, эпизоона кожных покровов дельфинов *T. truncatus* и створок устриц *C. gigas*, *O. edulis* и *O. lamellosa* Brocchi, 1814 [1, 32, 38, 48, 54, 55].

В 2018 г. выполнена инвентаризация видового состава микроскопических грибов с учётом последних номенклатурных изменений в прибрежной зоне заказника «Бухта Казачья» (г. Севастополь) [28]. Отмечено 138 видов микромицетов, в том числе Fungi — 135 таксонов, Chromista — 3. Грибы обнаружены в воде (36 видов), морской пене (33), донных отложениях (73), обрастаниях на стёклах (13), на водорослях (20), морских травах (21), коже бутылконосых дельфинов (18), створках устриц (12), древесине (29). Выявлено 107 эвритопных видов и 31 облигатно морской. Определены виды грибов, имеющие наибольшую функциональную значимость в экосистемах: оппортунистические, фито- и зоопатогенные, толерантные к нескольким видам загрязнений (биодеструкторы). По биогеографическому распространению в водах бухты преобладают бореально-тропические (42,7 %) и космополитные (37,7 %) виды грибов.

В акватории нефтегавани (г. Севастополь) из сообществ перифитона и воды выделено 10 видов дрожжей; 8 из них указаны для Чёрного моря впервые [14].

На фрагментах древесины с побережья г. Севастополя отмечено 44 вида грибов. Облигатно морские микромицеты *Corollospora intermedia* E. B. G. Jones, 1970; *Juncigena adarca* Kohlm., Volk.-Kohlm. et O. E. Erikss., 1997 (= *Cirrenalia adarca* Kohlm., Volk.-Kohlm. et O. E. Erikss., 1997); *Torpedospora radiata* Meyers, 1957; *Nia globospora* [as '*Nia globispora*'] Basilio et Baptista-Ferreira, 1997 указаны впервые для Чёрного моря [23, 26].

Список видов микроскопических грибов прибрежных и открытых районов моря в секторе полуострова включает 276 видов. Минимальное число таксонов [18 (6,5 %)] выявлено на коже дельфинов, максимальное [157 (57,1 %)] — в донных отложениях [30].

В водоёмах и водотоках поlynной степи, крымской степи, Горного и Южного Крыма в пробах воды, донных отложений, листового опада, отпада древесных растений и плодов, погружённых в воду, выявлено 42 вида грибов из отдела Oomycota. В искусственных водоёмах Никитского ботанического сада зарегистрировано 15 видов [58].

Северо-западная часть Чёрного моря — обширный сравнительно мелководный район, который находится к западу от линии, соединяющей мыс Тарханкут (полуостров Крым) с мысом Калиакра (Болгария). Общая площадь акватории — 63 900 км², средняя глубина — 30 м.

В 1970-е гг. исследование грибов в пене, воде, донных отложениях и на целлюлозосодержащих субстратах в Одесском заливе и лиманах СЗЧМ [6, 7] выявило 41 вид облигатно морских грибов, из них 17 новых для Чёрного моря, а 14 — для морей бывшего СССР. Кроме того, были опубликованы работы, посвящённые методам исследований в морской микологии, а также систематике, морфологии и экологии морских грибов [5, 6].

В 1995–2018 гг. с древесных субстратов выделено 17 облигатно морских видов грибов, новых для Чёрного моря, которые, возможно, являются видами-вселенцами [3, 10, 15, 21, 23, 26, 29].

В 2012 г. получены данные о микробиоте пелагиали одесского морского региона, расположенного между устьями Сухого и Малого Аджалыкского лиманов. Станции отбора проб находились на расстоянии 0,3–15,0 км от берега, глубина составляла от 10 до 24 м. Идентифицирован 51 вид микромицетов. По числу видов в роде, частоте встречаемости и численности доминировали представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*. Установлено, что число видов грибов постепенно уменьшалось (с 32 до 15) по мере удаления от берега. В поверхностном слое воды наибольшая средняя численность грибов выявлена на станциях, расположенных на расстоянии 6–8,5 км от берега (46 750 КОЕ·л⁻¹); в придонном горизонте — на станциях, расположенных ближе к берегу (33 600 КОЕ·л⁻¹) [52].

В 2007–2008 гг. на пляжах г. Одессы в районе заплеска и супралиторали (до 16,3 м от уровня воды) исследовали микобиоту песка, морской и поровой воды. Идентифицировали 25 видов микромицетов: в воде — 22 (в морской — 15, в поровой — 15, общих — 10), в песке — 20 (у кромки моря — 7, в шурфах (ямах) — 14, общих — 6). Общими для воды и песка были 16 видов. В видовом составе преобладали представители родов *Alternaria* (3), *Aspergillus* (3) и *Penicillium* (3) [34].

В Одесском заливе исследовали искусственную каменистую супралитораль (гидротехнические сооружения — причалы, траверсы, волноломы порта и городских пляжей). В соскобах с бетонных плит и с фрагментов деревянных проставок, между плитами, обнаружено 27 видов микромицетов. Методом культивирования на бетоне выделено 12 видов, на древесине — 18. На древесине преобладали облигатно морские виды микромицетов (10 из 18). Видовая структура микобиоты в образцах бетона и древесины значительно отличалась, в то время как плотность пропагул на обоих субстратах была одинаковой [72].

Исследования морской пены, выполненные на побережье г. Одессы и лиманов СЗЧМ, выявили 30 видов грибов. Обнаружены споры облигатно морских видов из родов *Ceriosporopsis*, *Corollospora*, *Halosphaeria*, *Halosphaeriopsis*, *Leptosphaeria* и наземных видов, преимущественно из рода *Alternaria* [6, 51].

Лиманы СЗЧМ расположены в южной и средней полосе Причерноморской низменности, между реками Дунай и Днепр. В 2001–2005 гг. микобиоту исследовали в открытых лиманах — Григорьевском (Малом Аджалыкском) и Сухом; в закрытых — Хаджибейском и Куяльницком; в лиманах с регулируемой связью с морем — Тилигульском и Дофиновском (Большом Аджалыкском). Наибольшее число видов выявлено в крупных глубоководных (5–12 м) лиманах: в Григорьевском — 56, Тилигульском — 45, Хаджибейском — 45, Сухом — 39 видов [20, 21, 51].

В СЗЧМ (побережье Одесского залива, лиманы) обнаружено 177 видов грибов: в водной толще — 73, в донных отложениях — 60, на целлюлозосодержащих субстратах (древесине) — 65, в обрастаниях «чёрный пояс» — 27, в пене — 30 видов.

Солёные лиманы. Большое бальнеологическое значение имеют рапа и пелоиды (лечебные грязи) гиперсолёных водоёмов. В бассейне Чёрного моря такие озёра есть на полуострове Крым (Сасык-Сиваш, Айгульское, Акташское, Красное и др.). В СЗЧМ это Куяльницкий лиман, в Болгарии — Поморийское озеро, в Румынии — лиман Текиргела. Их солёность изменяется от 77,8 до 340 ‰. Эпизодические исследования микобиоты проведены в трёх водоёмах в разное время. В Куяльницком лимане обнаружено 44 вида грибов (в воде — 5, в пелоидах — 42, на древесине — 14) [21, 24, 51]. В донных отложениях Поморийского озера выделено 36 видов [73]. Общими для двух водоёмов были 5 видов. В пелоидах лимана Текиргела обнаружены виды из семейств Traustochytriaceae и Chytridiactae [по: 4].

В воде различных районов **реки Днепр** и её притоков (Киевском водохранилище, водозаборе Днепровской водопроводной станции, г. Вышгород, пос. Бортнички) доминировали виды из родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Candida* (число видов в работе не указано). Численность дрожжеподобных грибов изменялась от единиц до сотен тысяч в литре воды, мицелиальных грибов — до 10 000 КОЕ·л⁻¹. Около пос. Бортнички, в районе сброса сточных вод, грибов зафиксировано больше, чем в районе г. Вышгорода и водозабора Днепровской водопроводной станции [70].

Река Дунай, украинское побережье. Микобиота воды основного русла р. Дунай (у городов Рени, Измаила и Вилкова), её рукавов и каналов насчитывает 79 видов, 42 из которых представлены наземными формами. Наибольшее видовое разнообразие грибов обнаружено в каналах и около населённых пунктов, что свидетельствует о загрязнении воды в этих районах [40]. В дельте р. Дунай (г. Вилково) из проб воды и грунта выделено 80 видов зооспоровых грибов: сапролегнид — 44, хитридиевых — 28, гифохитрид и плазмодиофорид — по 4 вида [37]. На рыбах обнаружено 60 видов микромицетов [11]. В воде авандельты р. Дунай идентифицировано 46 видов грибов [33], в донных отложениях придунайского района — 32 вида [21]. Общее число видов грибов в р. Дунай на территории Украины оставляет 238.

Остров Змеиный. В акватории о-ва Змеиный известно 30 видов грибов: в воде — 6, донных отложениях — 7, целлюлозосодержащих субстратах — 28, обрастаниях прибрежных скал — 5 видов [22].

На румынском побережье [по: 4] в районе г. Констанцы в донных отложениях обнаружены грибы из родов *Fusarium*, *Helicoma*, *Oospora*, *Humicola*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Phoma*, семейств Traustochytriaceae, Chytridiactae, Oomycetes. В дельте **р. Дунай** и на морском побережье Румынии в 1970–1990-е гг. в водной толще, в донных отложениях и на целлюлозосодержащих субстратах обнаружено 112 видов грибов [60, 61, 62].

На Кавказском побережье в **бух. Голубая** (г. Геленджик) исследована микобиота морской воды, донных отложений и талломов водорослей *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh, 1820 и *Bangia* sp. Выделено 74 вида из 37 родов, в том числе новых для моря — 26 факультативно морских видов грибов и облигатно морской вид *Varicosporina ramulosa* Meyers et Kohlm., 1965 (= телеоморфа *Corollospora angusta* Nakagiri et Tokura, 1988) [10].

В определителе морских грибов, опубликованном в США в 1969 г., для прибрежных вод Чёрного моря указаны 17 видов грибов: в СССР — 6, Болгарии — 5, без уточнения района — 6 [66].

По результатам инвентаризации и ревизии видового списка микроскопических грибов, которые указаны в работах, посвящённых изучению микобиоты Понто-Каспийского бассейна, можно заключить: в Чёрном море отмечено 435 видов из 212 родов, 84 семейств, 50 порядков, 19 классов, 3 царств (микроскопические грибы, не идентифицированные до вида, не вошли в чек-лист). В морской среде обнаружено 372 вида, в пресной — 196, в гиперсолёных водоёмах — 31 [27]. В пелагиали выявлено 230 видов (из них в сероводородной зоне — 21);

в донных отложениях — 202 (в сероводородной зоне — 31); на древесине — 70; в перифитоне — 30; в морской пене — 46; на/в моллюсках — 50; на коже дельфинов — 18; на макроводорослях — 116; на микроводорослях — 2; на морских травах — 38; на/в рыбах — 69; на/в ракообразных — 14. По районам исследования результаты следующие: прибрежные воды Грузии — 8 видов; г. Геленджика — 56; Крыма — 276; СЗЧМ — 177; Румынии — 112; Болгарии — 44; Турции — 9; р. Дунай — 238; о-ва Змеиный — 30 [6, 7, 10, 11, 22, 30, 37, 40, 60, 61, 62, 73, 75].

На самом деле видов грибов, обнаруженных в море, намного больше. Так, не во всех работах приведён список видов, выявленных во время исследований. Велико число таксонов, указанных как стерильный мицелий или группа видов *Fungi spp.* Возможно, часть работ не учтена автором.

Оценена **антимикробная активность** [4] 76 культур факультативно морских грибов, относящихся к 19 родам: *Penicillium* (16 видов, 28 штаммов), *Aspergillus* (11 видов, 21 штамм), *Fusarium*, *Verticillium*, *Spicaria*, *Trichoderma*, *Alternaria* (каждый — по 2 вида, по 2 штамма), *Cephalosporium* (3 вида по 1 штамму), *Papularia* и *Cladosporium* (по 1 виду и по 2 штамма), *Gliocladium*, *Trichosporium*, *Mycor*, *Rhizopys*, *Helminthosporium*, *Dendryphiella*, *Aureobasidium*, *Stachybotrys* и *Phoma* (каждый — по 1 виду и по 1 штамму). В качестве тест-культур были использованы штаммы бактерий: золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus* 209-P), сенная палочка (*Bacillus mycoides*), *Mycobacterium* В-5, кишечная палочка (*Escherichia coli*) — и дрожжевой гриб *Candida albicans* (С. Р. Robin) Berkhout, 1923. Антимикробные свойства выявили у 23,7 % изученных культур. По отношению к грибу *C. albicans* были активны 12 % культур; к грамположительной бактерии *S. aureus* — 9,2 %; к грамотрицательным бактериям — 7,9 %; рост бактерии *Mycobacterium* В-5 подавляли 5,2 %. Не обнаружено чёткой приуроченности отдельных видов грибов к определённым тест-культурам. Виды *Penicillium canescens* Sopp, 1912, *P. cyclopium* Westling, 1911, *P. dierckxii* Biourge, 1923 и *P. aurantiogriseum* Dierckx, 1901 характеризовались более широким спектром антимикробного действия, подавляя рост двух или трёх тест-организмов, чем *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tirab., 1908, *As. fumigatus* Fresen., 1863, *Trichothecium roseum* (Pers.) Link 1809 и *Trichoderma koningii* Oudem., 1902, подавлявшие рост только одной тест-культуры [4].

В 2010–2013 гг. исследована антибактериальная активность наиболее распространённых в Чёрном море видов облигатно морских грибов: *Corollospora maritima* Werderm., 1922; *C. trifurcata* (Höhnk) Kohlm., 1962; *Ceriosporopsis halima* Linder, 1944; *Halosphaeriopsis mediosetigera* (Cribb et J. W. Cribb) T. W. Johnson, 1958; *Nia vibrissa* R. T. Moore & Meyers, 1959. В качестве тест-культур в опытах использованы штаммы микроорганизмов, перечисленных выше. Выявлено, что антимикробная активность грибов начинает проявляться на 15-е сутки, а после 20 суток существенной разницы в силе антибактериального воздействия не наблюдается. Установлено, что виды *C. halima*, *C. maritima*, *C. trifurcata* подавляют рост грамположительных микроорганизмов (*S. aureus*, *B. mycoides*), а *H. mediosetigera* и *N. vibrissa* — грамположительных и грамотрицательных. Ни один из видов почти не влияет на дрожжевой гриб *C. albicans* [19].

Деградация целлюлозы. Исследована способность к разложению целлюлозы у представителей массовых видов терригенных грибов, выделенных из морской среды. Испытано 116 культур грибов, относящихся к 28 родам: *Penicillium* (16 видов, 26 штаммов); *Aspergillus* (12 видов, 23 штамма); *Fusarium* (4 вида, 1 разновидность, 6 штаммов); *Verticillium* (3 вида, 5 штаммов); *Spicaria* (2 вида, 2 штамма); *Trichoderma* (2 вида, 2 штамма); *Alternaria* (3 вида, 6 штаммов); *Cephalosporium* (3 вида, 3 штамма); *Papularia* (2 вида, 5 штаммов); *Cladosporium* (1 вид, 2 штамма); *Gliocladium* (2 вида, 3 штамма); *Trichosporium* (1 вид, 1 штамм); *Mycor* (2 вида, 3 штамма); *Helminthosporium* (1 вид, 3 штамма); *Stachybotrys* (1 вид, 6 штаммов); *Phoma* (2 вида, 5 штаммов); *Chaetomium* (3 вида, 3 штамма); *Sepedonium* (1 штамм); *Botrytis*, *Trichothecium*, *Fusidium*, *Absidia*, *Aureobasidium*, *Syncephalastrum*, *Rhizopys*, *Dendryphiella*, *Diplodia*, *Tritirachium* (каждый — по 1 виду и 1 штамму).

На бумаге, используемой в качестве единственного источника углерода, активно росла 51 культура (44 %). Не росли или росли плохо меланинсодержащие грибы *Aureobasidium pullulans* (de Bary et Löwenthal) G. Arnaud, 1918 и 2 штамма *Helminthosporium* [4].

Целлюлозолитическую активность облигатно морских грибов, которые в основном приурочены к дрейфующей или погружённой в воду древесине, в Чёрном море не исследовали, однако субстратная специфичность предполагает, что эти виды являются активными деструкторами целлюлозы и играют важную роль в разрушении растительных остатков в морской среде.

Разложение нефти и нефтепродуктов. На способность разлагать сырую нефть и нефтепродукты проверено 20 штаммов микромицетов из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Mycor*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Verticillium*. Испытуемые грибы выращивали на жидкой среде Чапека, в которой источником углерода служили флотский мазут, соляровое масло и 5 видов нефти: анастасьевская, арчадинская, малгобекская, ромашковская, Уруса. Все испытанные нефти и нефтепродукты оказались приемлемыми источниками углерода для различных видов грибов. На углеводородах нефти росли 90 % культур. Виды родов *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Verticillium* росли на всех испытанных нефтях и нефтепродуктах. Представители родов *Aspergillus* и *Mycor* не росли на анастасьевской нефти. Грибы рода *Stachybotrys* не росли на нефти и нефтепродуктах [4].

В 2005–2006 гг. в акватории нефтегавани (г. Севастополь) из воды, соскобов и смывов с дружмидий определено 10 видов дрожжей; 8 их таксонов были обнаружены в море впервые. На твёрдых субстратах получено 90 % культур дрожжей. Максимальная встречаемость отмечена для представителей рода *Candida* — 81 %. Выделенные грибы активно росли на пептоне (100 %), крахмале и жире (97 %). На сырой нефти росло 99 % культур грибов, на флотском мазуте — 97 %, на дизельном топливе и феноле — 95 %. Участие дрожжей в процессах самоочищения морской среды даёт основание рекомендовать вести учёт дрожжей при проведении экологического мониторинга [14].

Биотрансформация фенола и серы. Изучена способность массового вида облигатно морского гриба *Corollospora maritima* разлагать фенол и серу [2]. Определено, что максимальной концентрацией фенола в культуральной среде, при которой идёт его деградация в присутствии 0,5%-ной лактозы (косубстрат), является 0,1%-ный раствор. В отсутствие косубстрата мицелий не развивался. При исходных концентрациях фенола 0,1; 0,05; 0,04; 0,03; 0,02; 0,01 % через 3 дня культивирования трансформируется 3–11 % этого соединения. Интенсивную трансформацию 0,1%-ного фенола наблюдали на 6-е сутки — 34 %; значение достигло 55 % на 21-е сутки. При концентрации фенола 0,01 % степень его превращения через 21 сутки составляла 30 и 43 % при наличии косубстрата и без него соответственно. В среде с концентрацией фенола 0,1 % вегетативный мицелий формировал «дрожжеподобные» клетки. На древесине эти клетки развивались в нормальный вегетативный мицелий, генерирующий аскоспоры *C. maritima*. Также *C. maritima* в культуральной среде с концентрацией серы 1 % окислял серу до сульфатов: на 7, 14 и 21-е сутки отмечен 23%-ный, 32%-ный и 70%-ный прирост сульфатов соответственно. В среде с концентрацией 0,03–0,3%-ной серы прирост сульфатов в течение 7 дней составил 2 %, а через 21 день — 30 %.

Коррозия металла. Исследованы двухлетние плёнки обрастаний на поверхности 26 металлических рам (медь и различные типы стали), сформировавшиеся на глубине 7,5–80 м. Выделено 120 колоний из 21 рода. Не установлена корреляция видового состава с глубиной погружения и типом металла, из которого сделаны рамы. На конструкциях по частоте встречаемости доминировали представители родов *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium* — 60,9–84,6 % от общего числа проб [4].

Люминесценция. Впервые исследованы характеристики свечения чистых культур и комплексов потенциально патогенных (оппортунистических) и сапротрофных грибов [67]. Выявлено свечение культуральной жидкости комплекса облигатно морских грибов в составе *Corollospora maritima*, *Corollospora* sp. и *Cumulospora* sp., а также мицелия комплекса оппортунистических грибов, выращенного на среде Чапека, в составе *Alternaria alternata*, *Cyphellophora* sp. и *Hormographiella* sp.

Способность мицелия к свечению обнаружена у культур *Acremonium* sp. и *As. fumigatus*. Вид *Penicillium commune* Thom, 1910 не проявил способности к свечению. Механическая стимуляция грибов морской водой вызывала слабую энергию светоизлучения (Е), которая в среднем составляла от $1,12 \cdot 10^8$ до $1,87 \cdot 10^8$ квант·см⁻². Эффект свечения при химической стимуляции организмов этиловым спиртом был минимальным — от 0 до $1,04 \cdot 10^8$ квант·см⁻². Максимальные отзвы культуры обеспечивала химическая стимуляция пресной водой: средняя энергия светоизлучения была в 1,7–2,9 раза больше механической и в 2,2–7,2 раза больше, чем при воздействии спиртом. Продолжительность свечения всех культур оставалась относительно постоянной (4,35–4,59 сек.) независимо от вида воздействия [67].

Обзор исследований микобиоты Чёрного моря показывает, что эти организмы изучены недостаточно; по многим направлениям проведены лишь единичные эксперименты.

Исследования грибов в Чёрном море и других морских водоёмах могут быть **перспективными** в таких направлениях, как:

- изучение новых районов моря (не охвачена большая часть прибрежных вод России, Грузии, Болгарии, Турции, нет данных по микобиоте прибрежных вод Румынии в XXI веке);
- определение видовой принадлежности неидентифицированных изолятов и уточнение их систематического положения с применением методов генетического анализа;
- анализ сезонной динамики развития микромицетов и особенностей их пространственного распространения;
- установление степени обсеменённости грибами различных слоёв воды пелагиали и донных отложений, оценка среды по микологическим критериям;
- получение новых аргументированных доказательств сохранения жизнеспособности микобиоты в сероводородной зоне моря;
- мониторинг видов-вселенцев;
- микологический контроль морской воды в дельфинариях, марихозяйствах и местах рекреации;
- микологический контроль спата моллюсков и молоди других организмов, завозимых из разных регионов Мирового океана для культивирования и акклиматизации;
- поиск грибов-ассоциантов и паразитов животных разных систематических групп;
- исследование грибов на водорослях-макрофитах, высших растениях и мёртвой древесине;
- изучение микобиоты различных субстратов, выловленных в открытой части моря;
- выявление адаптации грибов к абиотическим факторам среды (глубина, солёность, температура, течения, концентрация кислорода, биогенные элементы, растворённое органическое вещество, донные отложения различных типов и др.);
- изучение реакции грибов на различные виды загрязнений;
- поиск видов грибов, способных утилизировать нефтепродукты, искусственные материалы, промышленные и бытовые сточные воды, а также твёрдые отходы хозяйственной деятельности человека, в том числе различные виды пластмасс;
- испытание тканей, металлов, красок, оптических приборов, изделий из древесины и других материалов на грибостойкость в море;
- исследование микобиоты рек, впадающих в море;
- установление видового состава и роли грибов в формировании лечебных грязей гиперсолёных водоёмов;
- выявление пищевой ценности грибов для гидробионтов;
- проведение биохимических исследований по обнаружению биологически активных веществ, продуцируемых грибами, для применения в фармакологии в качестве антибактериальных, антифунгальных, косметических и наркотических препаратов;
- исследование способности к свечению грибов различных групп опасности для разработки экспресс-метода обнаружения мест скопления потенциально патогенных грибов.

В настоящее время специалистов в области морской микологии в России недостаточно, а в других причерноморских странах они отсутствуют.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ 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. Андреева Н. А., Копытина Н. И. Альгофлора и микобиота морского перифитона в местах содержания дельфинов афалин (*Tursiops truncatus* Montagu, 1821) // *Экосистемы*. 2015. Вып. 1. С. 21–29. [Andreeva N. A., Kopytina N. I. Marine periphytonic algae-vegetation and fungi in capture places of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus* Montagu, 1821). *Ekosistemy*, 2015, iss. 1, pp. 21–29. (in Russ.)]
2. Андриенко А. А., Севастьянов О. В., Романовская И. И., Давиденко Т. И. Биотрансформация фенола и серы высшим облигатно морским грибом *Corollospora maritima* Werdermann // *Доклады Академии наук Украины*. 1993. № 4. С. 135–138. [Andrienko A. A., Sevast'yanov O. V., Romanovskaya I. I., Davidenko T. I. Biotransformation of phenol and sulphur by higher obligate marine fungus *Corollospora maritima* Werdermann. *Doklady Akademii nauk Ukrainy*, 1993, no. 4, pp. 135–138. (in Russ.)]
3. Андриенко А. А., Копытина Н. И. Нові для Чорного моря види морських аскоміцетів // *Український ботанічний журнал*. 1995. Т. 52, № 6. С. 824–828. [Andrienko A. A., Kopytina N. I. New species of marine ascomycetes for the Black Sea. *Ukrainskyi botanichnyi zhurnal*, 1995, vol. 52, no. 6, pp. 824–828. (in Ukr.)]
4. Артемчук Н. Я. *Микофлора морей СССР*. Москва : Наука, 1981. 190 с. [Artemchuk N. Ya. *Mikoflora morei SSSR*. Moscow : Nauka, 1981, 190 p. (in Russ.)]
5. Багрий-Шахматова Л. М. *О методах сбора и изучения облигатно морских высших грибов (обзор)*. Одесса, 1987. 42 с. Деп. в ВИНТИ, № 5490-B87. [Bagrii-Shakhmatova L. M. *O metodakh sbora i izucheniya obligatno morskikh vysshikh gribov (obzor)*. Odessa, 1987, 42 p. Dep. v VINITI, no. 5490-B87. (in Russ.)]
6. Багрий-Шахматова Л. М. *Высшие морские грибы Чёрного моря*. Москва, 1988. 90 с. Деп. в ВИНТИ, № 3928-B88. [Bagrii-Shakhmatova L. M. *Vysshie morskije griby Chernogo morya*. Moscow, 1988, 90 p. Dep. v VINITI, no. 3928-B88. (in Russ.)]
7. Багрий-Шахматова Л. М. Нові для Чорного моря види облигатно морських вищих грибів // *Український ботанічний журнал*. 1991. Т. 48, № 4. С. 59–65. [Bagrii-Shakhmatova L. M. Species of obligate higher marine fungi – new for the Black Sea. *Ukrainskyi botanichnyi zhurnal*, 1991, vol. 48, no. 4, pp. 59–65. (in Ukr.)]
8. Базовые биологические исследования Одесского морского порта (август – декабрь 2001 г.). Итоговый отчёт / Зайцев Ю. П., Александров Б. Г. и др. (ред.) // *Серия монографий Одесского демонстрационного центра программы ГлоБалласт*. Одесса, 2004. № 7. 171 с. [Bazovye biologicheskie issledovaniya Odesskogo morskogo porta (Aug. – Dec. 2001). Itogovyi otchet / Zaitsev Yu. P., Aleksandrov B. G., et al. (Eds). *Seriya monografi Odesskogo demonstratsionnogo tsentra programmy GloBallast*. Odessa, 2004, no. 7, 171 p. (in Russ.)]
9. Бошко Е. Г. Паразиты и комменсалы речных раков водоемов России и Украины // *Известия Пензенского государственного университета им. В. Г. Белинского. Естественные науки*. 2010. № 17 (21). С. 39–44. [Boshko E. G. The parasites and commensals of crayfishes of Russian and Ukrainian water bodies. *Izvestiya Penzenskogo gosudarstvennogo universiteta im. V. G. Belinskogo. Estestvennye nauki*, 2010, no. 17 (21), pp. 39–44. (in Russ.)]
10. Бубнова Е. Н. Грибы прибрежной зоны Чёрного моря в районе Голубой бухты (восточное побережье, окрестности г. Геленджика) // *Микология и фитопатология*. 2014. Т. 48, вып. 1. С. 20–30. [Bubnova E. N. Fungi of the Blue Bay (Black Sea, Eastern coast near the town of Gelendzhik). *Mikologiya i fitopatologiya*, 2014, vol. 48, iss. 1, pp. 20–30. (in Russ.)]
11. Воронин Л. В. Микофлора рыб дельты реки Дунай // *Микология и фитопатология*. 1984. Т. 18, вып. 3. С. 265–270. [Voronin L. V. Mycoflora of fish in the delta of the Danube. *Mikologiya*

- i fitopatologiya*, 1984, vol. 18, iss. 3, pp. 265–270. (in Russ.)]
12. Гаевская А. В. *Паразиты, болезни и вредители мидий (Mytilus, Mytilidae). III. Грибы (Fungi), Лишайники (Mycophycophyta), Растения (Plantae)*. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2007. 97 с. [Gaevskaya A. V. *Parasite, diseases and pests of mussels (Mytilus, Mytilidae). III. Fungi, Mycophycophyta, Plantae*. Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2007, 97 p. (in Russ.)]
 13. Губанов В. В. *Влияние раковинной болезни на состояние естественных поселений устриц Ostrea edulis и их культивирование в Чёрном море* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.18. Севастополь, 1990. 21 с. [Gubanov V. V. *Vliyanie rakovinnoi bolezni na sostoyanie estestvennykh poselenii us-trits Ostrea edulis i ikh kul'tivirovanie v Chernom more* : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.00.18. Sevastopol, 1990, 21 p. (in Russ.)]
 14. Дорошенко Ю. В. *Микрофлора систем гидробиологической очистки морских вод* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.17. Севастополь, 2009. 20 с. [Doroshenko Yu. V. *Mikroflora of the systems of the hydrobiological cleaning of marine waters* : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.00.17. Sevastopol, 2009, 20 p. (in Russ.)]
 15. Дудка И. А., Копытина Н. И. Новые для Чёрного моря виды морских гифомицетов из рода *Cumulospora* // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа*. 2007. Вып. 15. С. 575–580. [Dudka I. A., Kopytina N. I. A new species marine hyphomycetes of the genus *Cumulospora* in the Black Sea. *Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoi i shel'fovoi zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa*, 2007, iss. 15, pp. 575–580. (in Russ.)]
 16. Зайцев Ю. П., Поликарпов Г. Г., Егоров В. Н., Александров Б. Г., Гаркуша О. П., Копытина Н. И., Курилов А. В., Нестерова Д. А., Нидзвецкая Л. М., Никонова С. Е., Поликарпов И. Г., Поповичев В. Н., Руснак Е. М., Стокозов Н. А., Теплинская Н. Г., Теренько Л. М. Средоточие останков оксибионтов и банк живых спор высших грибов и диатомовых в донных отложениях сероводородной батииали Чёрного моря // *Доповіді Національної академії наук України*. 2007. № 7. С. 159–164. [Zaitsev Yu. P., Polikarpov G. G., Egorov V. N., Aleksandrov B. G., Garkusha O. P., Kopytina N. I., Kurilov A. V., Nesterova D. A., Nidzvetskaya L. M., Nikonova S. E., Polikarpov I. G., Popovichev V. N., Rusnak E. M., Stokozov N. A., Teplinskaya N. G., Teren'ko L. M. Accumulation of the remnants of oxybiotic organisms and a bank of living spores of higher fungi and diatoms in bottom sediments of the hydrogen sulfide bathyal zone of the Black Sea. *Dopovidi Natsionalnoi akademii nauk Ukrainy*, 2007, no. 7, pp. 159–164. (in Russ.)]
 17. Зайцев Ю. П., Поликарпов Г. Г., Егоров В. Н., Гулин С. Б., Копытина Н. И., Курилов А. В., Нестерова Д. А., Нидзвецкая Л. М., Поликарпов И. Г., Стокозов Н. А., Теплинская Н. Г., Теренько Л. М. Биологическое разнообразие оксибионтов (в виде жизнеспособных спор) и анаэробов в донных осадках сероводородной батииали Чёрного моря // *Доповіді Національної академії наук України*. 2008. № 5. С. 168–173. [Zaitsev Yu. P., Polikarpov G. G., Egorov V. N., Gulin S. B., Kopytina N. I., Kurilov A. V., Nesterova D. A., Nidzvetskaya L. M., Polikarpov I. G., Stokozov N. A., Teplinskaya N. G., Teren'ko L. M. Biological diversity of oxybiotics (in the form of viable spores) and anaerobes in bottom sediments of the hydrogen sulfide bathyal zone of the Black Sea. *Dopovidi Natsionalnoi akademii nauk Ukrainy*, 2008, no. 5, pp. 168–173. (in Russ.)]
 18. Зайцев Ю. П., Копытина Н. И. Высшие грибы из донных отложений сероводородной батииали Чёрного моря // *Современная микология в России* : тез. докл. 2-го Съезда микологов России, Москва, 16–18 апреля 2008 г. Москва : Национальная академия микологии, 2008. Т. 2. С. 386–387. [Zaitsev Yu. P., Kopytina N. I. Vysshie griby iz donnykh otlozhenii serovodородnoi batiali Chernogo morya. In: *Sovremennaya mikologiya v Rossii* : tez. dokl. 2-go S'ezda mikologov Rossii, Moscow, 16–18 Apr., 2008. Moscow : Natsional'naya akademiya mikologii, 2008, vol. 2, pp. 386–387. (in Russ.)]
 19. Калюжная О. С. Вивчення антимікробних властивостей деяких видів сапрофітних облигатних морських грибів // *Аннали Мечниковського інституту*. 2015. № 2. С. 151–155. [Kalyuzhnaya O. S. Study of the antimicrobial properties of certain saprophytic obligate marine fungi. *Annals of Mechnikov Institute*, 2015, no. 2, pp. 151–155. (in Ukr.)]
 20. Копытина Н. И. Высшие морские грибы // *Экосистема Григорьевского (Малого Аджалькского) лимана* / ред.: А. Г. Виноградов. Одесса : Астропринт, 2008. С. 14–16 ; 50–64 ; 239–241. [Kopytina N. I. Vysshie morskije griby. In: *Ekosistema Grigor'evskogo (Malogo Adzhalyk'skogo) limana* / ред.: А. Г. Виноградов. Одесса : Астропринт, 2008. С. 14–16 ; 50–64 ; 239–241. (in Russ.)]

- limana* / A. G. Vinogradov (Ed.). Odessa : Astroprint, 2008, pp. 14–16 ; 50–64 ; 239–241. (in Russ.)
21. Копытина Н. И. *Высшие морские грибы пелагических и донных биотопов северо-западного региона Чёрного моря* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.17. Севастополь, 2009. 23 с. [Kopytina N. I. *Higher marine fungi of pelagic and benthic biotopes of the northwestern area of the Black Sea* : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.00.17. Sevastopol, 2009, 23 p. (in Russ.)]
 22. Копытина Н. И. Высшие морские грибы прибрежных вод о. Змеиный (северо-западная часть Чёрного моря) // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа*. 2009. Вып. 20. С. 327–333. [Kopytina N. I. *Vysshie morskije griby pribrezhnykh vod o. Zmeinyi (severo-zapadnaya chast' Chernogo morya)*. *Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoi i shel'fovoi zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa*, 2009, iss. 20, pp. 327–333. (in Russ.)]
 23. Копытина Н. И. Морские микромицеты целлюлозосодержащих субстратов юго-западного побережья Крымского полуострова (Чёрное море) // *Современная микология в России* : тез. докл. 3-го Съезда микологов России, Москва, 10–12 октября 2010 г. Москва : Национальная академия микологии, 2012. Т. 3. С. 113–114. [Kopytina N. I. *Morskije mikromitsety tsellyulozosoderzhashchikh substratov yugo-zapadnogo poberezh'ya Krymskogo poluostrova (Chernoe more)*. In: *Sovremennaya mikologiya v Rossii* : tez. dokl. 3-go S'ezda mikologov Rossii, Moscow, 10–12 Oct., 2010. Moscow : Natsional'naya akademiya mikologii, 2012, vol. 3, pp. 113–114. (in Russ.)]
 24. Копытина Н. И. Микроскопические грибы пелоидов гиперсолёного Куяльницкого лимана (северо-западное побережье Чёрного 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. 2. С. 90–93. [Kopytina N. I. *Microscopic fungi of the hypersaline Kuyalnik estuary peloids (the Black Sea north-western coast)*. In: *Morskije biologicheskie issledovaniya: dostizheniya i perspektivy* : in 3 vol. : 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. 2, pp. 90–93. (in Russ.)]
 25. Копытина Н. И. Микобиота пелагиали черноморского сектора полуострова Крым (октябрь 2016 г.) // *Современная микология в России* : тез. докл. 4-го Съезда микологов России, Москва, 12–14 апреля 2017 г. Москва : Национальная академия микологии, 2017. Т. 6. С. 303–305. [Kopytina N. I. *Mikobiota pelagiali chernomorskogo sektora poluostrova Krym (Oct. 2016)*. In: *Sovremennaya mikologiya v Rossii* : tez. dokl. 4-go S'ezda mikologov Rossii, Moscow, 12–14 Apr., 2017. Moscow : Natsional'naya akademiya mikologii, 2017, vol. 6, pp. 303–305. (in Russ.)]
 26. Копытина Н. И. *Corollospora intermedia* и *Nia globospora* [as '*Nia globispora*'] – новые для Чёрного моря виды морских грибов // *Морской биологический журнал*. 2018. Т. 3, № 1. С. 46–52. [Kopytina N. I. *Corollospora intermedia* and *Nia globospora* [as '*Nia globispora*'], marine fungi new for the Black Sea. *Morskoj biologicheskij zhurnal*, 2018, vol. 3, no. 1, pp. 46–52. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2018.03.1.05>
 27. Копытина Н. И. Водные микроскопические грибы Понто-Каспийского бассейна (чек-лист, синонимика) / ред. Л. И. Рябушко. Воронеж : ООО «Ковчег», 2018. 292 с. [Kopytina N. I. *Microfungi of the Ponto-Caspian basin (check-list and synonymy)* / L. I. Ryabushko (Ed.). Voronezh : ООО «Kovcheg», 2018, 292 p. (in Russ.)]. <http://doi.org/10.21072/978-5-6042082-0-5>
 28. Копытина Н. И. Водная микобиота заказника «Бухта Казачья» (Крым, Чёрное море) // *Биота и среда заповедных территорий*. 2018. № 4. С. 49–68. [Kopytina N. I. *Aquatic mycobiota of the nature reserve (zakaznik) "Kazachya Bay" (Black Sea, Crimea)*. *Biota i sreda zapovednykh territorii*, 2018, no. 4, pp. 49–68. (in Russ.)]
 29. Копытина Н. И., Бубнова Е. Н. Новые для Чёрного моря грибы из порядка Pleosporales // *Микология и фитопатология*. 2011. Т. 45, вып. 4. С. 316–322. [Kopytina N. I., Bubnova E. N. *Pleosporalean fungi new for the Black Sea*. *Mikologiya i fitopatologiya*, 2011, vol. 45, iss. 4, pp. 316–322. (in Russ.)]
 30. Копытина Н. И., Дудка И. А. Таксономическое разнообразие микобиоты прибрежных вод Крыма (Чёрное море) // *Морской биологический журнал*. 2016. Т. 1, № 2. С. 27–38. [Kopytina N. I., Dudka I. A. *The taxonomic diversity*

- of mycobiota in the coastal waters of Crimea (the Black Sea). *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2016, vol. 1, no. 2, pp. 27–38. (in Russ.). <https://doi.org/10.21072/mbj.2016.01.2.03>
31. Копытина Н. И., Зайцев Ю. П. Микологические исследования в сероводородной зоне Черного моря (обзор) // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа*. 2011. Вып. 25. С. 286–298. [Kopytina N. I., Zaitsev Yu. P. Mycological researches in the hydrogen-sulphidous zone of the Black Sea (review). *Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoi i shel'fovoi zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa*, 2011, iss. 25, pp. 286–298. (in Russ.)]
 32. Копытина Н. И., Лебедевская М. В. Микромицеты – эпibiонты гигантской устрицы *Crassostrea gigas*, культивируемой в Чёрном море // *Морской экологический журнал*. 2014. Т. 13, № 2. С. 41–44. [Kopytina N. I., Lebedovskaya M. V. Epibiotic micromycetes in a giant oyster *Crassostrea gigas*, cultivated in the Black Sea. *Morskoy ekologicheskij zhurnal*, 2014, vol. 13, no. 2, pp. 41–44. (in Russ.)]
 33. Копытина Н. И., Тарасюк И. В. Водные грибы пелагиали авандельты реки Дунай // *Микробиология и биотехнология*. 2010. № 1. С. 37–43. [Kopytina N. I., Tarasyuk I. V. Higher marine fungi of the water column of the Danube River avandelta. *Mikrobiologhiia i biotekhnologhiia*, 2010, no. 1, pp. 37–43. (in Russ.)]
 34. Копытина Н. И., Тарасюк И. В. Микобиота песчаной супралиторали пляжей Одесского залива // *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія: біологія*. 2010. Спец. вип. № 3 (44). С. 119–122. [Kopytina N. I., Tarasyuk I. V. Mikobiota of sand supralitoral beaches of Odesa Gulf. *Naukovi zapysky Ternopil'skoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu. Serii: biologhiia*, 2010, spets. vyp., no. 3 (44), pp. 119–122. (in Russ.)]
 35. Крисс А. Е., Новожилова М. И. Являются ли дрожжевые организмы обитателями морей и океанов? // *Микробиология*. 1954. Т. 23, вып. 6. С. 667–683. [Kriss A. E., Novozhilova M. I. Yavlyayutsya li drozhzhevye organizmy obitatel'nyami morei i okeanov? *Mikrobiologiya*, 1954, vol. 23, iss. 6, pp. 667–683. (in Russ.)]
 36. Крисс А. Е., Рукина Е. А., Бирюзова В. И. Микрозоональность в распределении гетеротрофных микроорганизмов в Чёрном море // *Микробиология*. 1951. Т. 20, № 3. С. 256–260. [Kriss A. E., Rukina E. A., Biryuzova V. I. Mikrozonaln'nost' v raspredelenii geterotrofnykh mikroorganizmov v Chernom more. *Mikrobiologiya*, 1951, vol. 20, no. 3, pp. 256–260. (in Russ.)]
 37. Кузнецов Е. А. *Грибы водных экосистем*: дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.18, 03.00.24. Москва, 2003. 63 с. [Kuznetsov E. A. *Griby vodnykh ekosistem*. [dissertation]. Moscow, 2003, 63 p. (in Russ.)]
 38. Лебедевская М. В. Поражение створок дальневосточной устрицы *Crassostrea gigas*, культивируемой в Чёрном море, сверлящей губкой *Pione vastifica* // *Экология моря*. 2009. Вып. 77. С. 67–70. [Lebedovskaya M. V. Shell affection of pacific oyster *Crassostrea gigas* cultivated in the Black Sea by the boring sponge *Pione vastifica*. *Ekologiya morya*, 2009, iss. 77, pp. 67–70. (in Russ.)]
 39. Лебедевская М. В., Белофастова И. П. Паразиты и заболевания устриц *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) и *Ostrea edulis* (Linne, 1758) в Чёрном море // *Паразитология в XXI веке – проблемы, методы, решения*: материалы IV Всерос. съезда паразитологического общества при Российской академии наук, Санкт-Петербург, 20–25 октября 2008 г. Санкт-Петербург, 2008. Т. 2. С. 122–126. [Lebedovskaya M. V., Belofastova I. P. Parasites and diseases of oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) and *Ostrea edulis* (Linne, 1758) in Black Sea. In: *Parazitologiya v XXI veke – problemy, metody, resheniya*: materialy IV Vseros. s'ezda parazitologicheskogo obshchestva pri Rossiiskoi akademii nauk, Sankt-Petersburg, 20–25 Oct., 2008. Sankt-Petersburg, 2008, vol. 2, pp. 122–126. (in Russ.)]
 40. Мілько О. О. Гриби, виділені з води радянської дільниці р. Дунаю // *Мікробіологічний журнал*. 1965. Т. 27, № 3. С. 38–44. [Mil'ko O. O. Hryby, vydileni z vody radianskoi dilnytsi r. Dunaiu. *Mikrobiologichnyi zhurnal*, 1965, vol. 27, no. 3, pp. 38–44. (in Ukr.)]
 41. Морозова-Водяницкая Н. В. Эпидемическое заболевание морской травы – zostеры в Чёрном море // *Природа*. 1936. № 1. С. 94–98. [Morozova-Vodyanitskaya N. V. Epidemicheskoe zabolevanie morskoi travy – zostery v Chernom more. *Priroda*, 1936, no. 1, pp. 94–98. (in Russ.)]
 42. Овчаренко Н. А. *Gurleya pontica* sp. n. (Microsporidia, Thelohaniidae) – новый вид микроспоридий из креветок *Palaemon elegans* (Crustacea, Decapoda) // *Паразитология*. 1984. Т. 18, № 5. С. 405–408. [Ovcharenko N. A. A new species of microsporidians, *Gurleya pontica* sp. n.

- (Microsporidia, Thelohaniidae), from *Palaemon elegans* (Crustacea, Decapoda). *Parazitologiya*, 1984, vol. 18, iss. 5, pp. 405–408. (in Russ.)]
43. Овчаренко Н. А. К фауне и экологии микроспоридий рыб сем. Gobiidae низовья Днепра, Днепро-Бугского и Березанского лиманов // *Гидробиологический журнал*. 1985. Т. 21, № 4. С. 103–108. [Ovcharenko N. A. On fauna and ecology of fish microsporidia (Gobiidae family) in the Dnieper lower reach, Dnieper-Bug and Berezan brackish lagoons. *Gidrobiologicheskii zhurnal*, 1985, vol. 21, no. 4, pp. 103–108. (in Russ.)]
44. Овчаренко Н. А., Курандина Д. П. Новые виды микроспоридий из амфипод Днепровского бассейна // *Паразитология*. 1987. Т. 21, вып. 6. С. 710–715. [Ovcharenko N. A., Kurandina D. P. New species of microsporidia from amphipods of the Dnieper basin. *Parazitologiya*, 1987, vol. 21, iss. 6, pp. 710–715. (in Russ.)]
45. *Отчет о предварительных результатах экспедиции Института океанологии им. П. П. Ширшова РАН и Всемирного фонда дикой природы (WWF) в район Керченского пролива для изучения экологических последствий разлива мазута после аварии танкера «Волгонефть-139» 11 ноября 2007 г.* / под ред. В. А. Спиридонова. Москва, 2008. 67 с. [Otchet predvaritel'nykh rezul'tatov ekspeditsii Instituta okeanologii im. P. P. Shirshova RAN i Vsemirnogo fonda dikoi prirody (WWF) v raione Kerchenskogo proliva dlya izucheniya ekologicheskikh posledstviy razliva mazuta posle avarii tankera "Volgoneft'-139" 11 noyabrya 2007 g. / V. A. Spiridonov (Ed.). Moscow, 2008, 67 p. (in Russ.)]
46. Переведенцева Л. Г. Микология: грибы и грибоподобные организмы : учеб. пособие / 2-е изд., испр. и доп. Санкт-Петербург : «Лань», 2012. 272 с. [Perevedentseva L. G. *Mikologiya: griby i gribopodobnye organizmy* : ucheb. posobie / 2-e izd., ispr. i dop. St. Petersburg : "Lan", 2012, 272 p. (in Russ.)]
47. Пиркова А. В. Пораженность черноморских устриц раковинной болезнью. Профилактика и селекция на устойчивость к заболеванию // *Рыбное хозяйство Украины*. 2002. № 3–4. С. 45–47. [Pirkova A. V. Porazhennost' chernomorskikh ustritts rakovinnoi bolezn'yu. Profilaktika i selektsiya na ustoichivost' k zabolevaniyu. *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 2002, no. 3–4, pp. 45–47. (in Russ.)]
48. Пиркова А. В., Дёменко Д. П. Случаи раковинной болезни у гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Bivalvia), культивируемой в Черном море // *Биология моря*. 2008. Т. 34, № 5. С. 359–364. [Pirkova A. V., Demenko D. P. Cases of shell disease in the giant oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia) cultivated in the Black Sea. *Biologiya morya*, 2008, vol. 34, no. 5, pp. 359–364. (in Russ.)]
49. Ржепишевский И. К., Артемчук Н. Я. Грибковое поражение двух видов черноморских баянусов // *Биология моря*. 1970. Вып. 18. С. 167–172. [Rzhepishevskii I. K., Artemchuk N. Ya. Gribkovoe porazhenie dvukh vidov chernomorskikh balyanusov. *Biologiya morya*, 1970, iss. 18, pp. 167–172. (in Russ.)]
50. Садогурский С. Е. Отмирание зарослей *Zostera marina* L. у Сары-Булатских островов (Каркинитский залив, Черное море) // *Заповідна справа в Україні*. 1999. Т. 5, вип. 2. С. 17–23. [Sadogursky S. Ye. Necrosis of *Zostera marina* L. near Sary-Bulatsky Islands (Karkinitzky Bay, Black Sea). *Zapovidna sprava v Ukraini*, 1999, vol. 5, iss. 2, pp. 17–23. (in Russ.)]
51. *Северо-западная часть Чёрного моря : биология и экология* / под ред. Ю. П. Зайцева, Б. Г. Александрова, Г. Г. Миничевой. Киев : Наукова думка, 2006. 701 с. [Severo-zapadnaya chast' Chernogo morya : biologiya i ekologiya / Yu. P. Zaitsev, B. G. Alexandrov, G. G. Minicheva (Eds). Kiev : Naukova dumka, 2006, 701 p. (in Russ.)]
52. Сербінова І. В., Копитіна Н. І. Мікологічні дослідження пелагіалі Одеського морського регіону (вересень 2012 р.) // «Понт Евксинський – 2013» : тез. докл. 8-й Междунар. науч.-практ. конф. молодых учёных по проблемам водных экосистем, посвящ. 50-летию образования ИнБЮМ НАН Украины, Севастополь, 01–04 октября 2013 г. Севастополь, 2013. С. 126–127. [Serbinova I. V., Kopytina N. I. Mikologichni doslidzhennia pelahiali Odeskoho morskoho rehionu (veresen 2012 r.). In: "Pont Evksinskii – 2013" : tez. dokl. 8-i Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. molodykh uchenykh po problemam vodnykh ekosistem, posvyashch. 50-letiyu obrazovaniya InBYuM NAN Ukrainy, Sevastopol, 01–04 Oct., 2013. Sevastopol, 2013, pp. 126–127. (in Ukr.)]
53. Сергеева Н. Г., Заика В. Е. Донные стадии *Krassilnikoviae* в сероводородной зоне Черного моря // *Экология моря*. 1999. Вып. 48. С. 83–86. [Sergeeva N. G., Zaika V. E. Benthic stages of *Krassilnikoviae* from the deep anoxic part of the Black Sea. *Ekologiya morya*, 1999, iss. 48, pp. 83–86. (in Russ.)]

54. Смирнова Л. Л. Комплексы гетеротрофных микроорганизмов прибрежного мелководья бухты Казачья (Чёрное море) // *Морской экологический журнал*. 2010. Т. 9, № 2. С. 81–88. [Smirnova L. L. Associations of the heterotrophic microorganisms in the coastal biotopes of Kazachia Bay (Black Sea). *Morskoy ekologicheskii zhurnal*, 2010, vol. 9, no. 2, pp. 81–88. (in Russ.)]
55. Смирнова Л. Л., Копытина Н. И., Телига А. В. Микробиота кожи афалин (*Tursiops truncatus*), морской воды и донных отложений в прибрежных вольерах (Чёрное море, Севастополь) // *Морские млекопитающие Голарктики* : сб. науч. тр. VII Междунар. науч. конф., Суздаль, Россия, 24–28 сентября 2012 г. Суздаль, 2012. Т. 2. С. 239–244. [Smirnova L. L., Kopytina N. I., Teliga A. V. Microbiota from the bottlenose dolphins' (*Tursiops truncatus*) skin, seawater, and bottom sediments in the coastal marine enclosure (Black Sea, Sevastopol). In: *Marine mammals of the Holarctic* : coll. of scientific papers of the 7th Intern. conf., Suzdal, Russia, 24–28 Sept., 2012. Suzdal, 2012, vol. 2, pp. 239–244. (in Russ.)]
56. Холодковская Е. В., Кудинский О. Ю. Поражение гонад черноморской мидии микроспоридией *Steinhausia mytilovum* // *Биология и культивирование моллюсков*. Москва : ВНИРО, 1987. С. 108–115. [Kholodkovskaya E. V., Kudinskii O. Yu. Porazhenie gonad chernomorskoj midii mikrosporidiei *Steinhausia mytilovum*. In: *Biologiya i kultivirovanie mollyuskov*. Moscow : VNIRO, 1987, pp. 108–115. (in Russ.)]
57. Юрахно В. М. Микроспоридии и микроспоридии рыб Каркинитского залива (Крым, Чёрное море) // *Фауна и экология паразитов* / [сост. Е. Н. Протасова]. Москва : Тов-во науч. изд. КМК, 2016. С. 215–217. (Труды Гельминтологической лаборатории ; т. 49). [Yurakhno V. M. Mikrosporidii i mikrosporidii ryb Karkinitskogo zaliva (Krym, Chernoe more). In: *Fauna i ekologiya parazitov* / [E. N. Protasova (Contr.)]. Moscow : Tov-vo nauch. izd. KMK, 2016, pp. 215–217. (Trudy Gel'mintologicheskoi laboratorii ; vol. 49). (in Russ.)]
58. Яценко Т. А. Оомицеты водоемов и водотоков Крыма // *Гидробиологический журнал*. 1992. Т. 28, № 6. С. 32–38. [Yatsenko T. A. Oomycetes of the water bodies and water courses in the Crimea. *Gidrobiologicheskii zhurnal*, 1992, vol. 28, no. 6, pp. 32–38. (in Russ.)]
59. Ainsworth J., Bisby H. *Dictionary of the Fungi* / 10th ed. ; P. F. Kirk, P. F. Cannon, D. W. Minter, J. A. Stalpers (Eds). Wallingford : CABI Internatinal, 2008, 784 p. <https://doi.org/10.1079/9780851998268.0000>
60. Aleem A. A. Marine Fungi from Rumania. *Rapports Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Méditerranée*, 1975, vol. 23, no. 2, pp. 73–74.
61. Âpas M. Observations sur le developpement du mycoplankton cotier de la Mer Noire lie au phenomene d'eutrophisation. *Cercetări marine – Recherches marines*, 1990, no. 23, pp. 73–89.
62. Âpas M., Hulea A. Mycromyceta. *Analele Universitatii "Ovidius" Constanta – Seria Biologie – Ecologie*, 1998, vol. 2, pp. 7–9.
63. Buchalo A. S. *Fungal life in the Dead Sea* / E. Nevo, A. Oren, S. P. Wasser (Eds). Ruggell : A. R. G. Ganther Verlag K. G., 2003, 361 p.
64. Codreanu R., Codreanu-Balcescu D. On two *Metschnikowia* yeast species producing hemocoelic infections in *Daphnia magna* and *Artemia salina* (Crustacea, Phyllopora) from Romania. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1981, vol. 37, iss. 1, pp. 22–27. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(81\)90049-5](https://doi.org/10.1016/0022-2011(81)90049-5)
65. Gulin S. B., Polikarpov G. G., Egorov V. N., Martin J.-M., Korotkov A. A., Stokozov N. A. Radioactive contamination of the north-western Black Sea sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2002, vol. 54, iss. 3, pp. 541–549. <https://doi.org/10.1006/ecss.2000.0663>
66. Kohlmeyer J., Kohlmeyer E. *Marine Mycology. The Higher Fungi*. New York : Academic Press, 1979, 690 p.
67. Mashukova O., Tokarev Yu., Kopytina N. Luminescence of the Black Sea microscopic fungi cultures. In: *EMEC'S'11 – Sea Coasts XXVI: Managing risks to coastal regions and communities in a changing world* : Proceedings of the International Conference, 22–27 Aug., 2016, St. Petersburg, Russia. St. Petersburg, 2016, pp. 216–224. http://doi.org/10.21610/conferencearticle_58b431676d384
68. Meyers S. P., Ahearn D. G., Roth F. J. Mycological investigations of the Black Sea. *Bulletin of Marine Science*, 1967, vol. 17, no. 3, pp. 576–596.
69. Ovcharenko M., Wróblewski P., Kvach Y., Drobiniaik O. Study of *Loma acerinae* (Microsporidia) detected from three Ponto-Caspian gobies (Gobiidae) in Ukraine. *Parasitology Research*, 2017, vol. 116, iss. 5, pp. 1453–1462. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5422-1>

70. Rudenko A. V., Savluk O. S., Saprykina M. N., Yastremskaya A. V., Goncharuk V. V. Microscopic fungi in water of the Dnieper River. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 2011, vol. 33, no. 5, pp. 323–327. <https://doi.org/10.3103/S1063455X11050080>
71. Sergeeva N. G., Kopytina N. I. The first marine filamentous fungi discovered in the bottom sediments of the oxic/anoxic interface and in the bathyal zone of the Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2014, vol. 14, no. 1–2, pp. 497–505. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_2_21
72. Serbinova I. V., Kopytina N. I. Mycobiota of the Odessa Gulf's hydroengineering constructions (Black Sea). In: *Black Sea outlook : Abstract of the 3rd Bi-annual BS Scientific Conference and UP-GRADE BS-SCENE Project Joint Conference*, Odessa, Ukraine, 1–4 Nov., 2011. Odessa, 2011, pp. 220–221.
73. Smolyanyuk E. V., Bilanenko E. N. Communities of halotolerant micromycetes from the areas of natural salinity. *Microbiology*, 2011, vol. 80, no. 6, pp. 877–883.
74. Zaitsev Y. P., Polikarpov G. G. Recently discovered new biospheric pelocentour function in the Black Sea reductive bathyal zone. *Journal of the Black Sea / Mediterranean Environment*, 2008, vol. 14, no. 3, pp. 151–165.
75. Zaitsev Y., Kopytina N., Garkusha O., Serbinova I. Preliminary observations of the Samsun Bay splash zone biodiversity. *Journal of the Black Sea / Mediterranean Environment*, 2010, vol. 16, no. 3, pp. 245–252.

FUNGI OF THE BLACK SEA BASIN: DIRECTIONS AND PERSPECTIVES OF RESEARCH

N. I. Kopytina

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: kopytina_n@mail.ru

Totally 71 literature source focused on the study of the Black Sea fungi (micromycetes) for the period from 1867 to 2018 was analyzed. In the 1860s and 1930s *Zostera marina* sea grass epidemics were recorded caused by fungi-like organisms of the genus *Labyrinthula*. In the late 19th and early 20th centuries, several cases of seagrass local mycosis were also identified. In the 1960s–2000s invertebrate epizootics caused by fungi were recorded: *Hyphochytrium peniliae* species parasitized on the Cladocera *Penilia avirostris* and caused its mass death; fungus *Leptolegnia pontica* infected eggs of Cirripedia *Balanus improvisus* and significantly reduced the population fecundity; the invasion of the fungus *Ostracoblabe implexa* led to the destruction of the *Ostrea edulis* oyster populations. Currently, single cases of the lesions on the cultivated oyster *Crassostrea gigas* (its spat is brought from other countries) by *O. edulis* are noted. Fungi-epibionts were isolated from the shells of *C. gigas* and *Mytilus galloprovincialis*. Microsporidia *Steinhauisia mytilovum* was identified in mature oocytes of *M. galloprovincialis*. On the surface of fish and in their internal organs, filamentous fungi and intracellular parasites (microsporidia) were found. Fungi were revealed on the surface of bottlenose dolphins. The study of pelagial, benthal, cellulose-containing substrates', foams', periphyton, micro- and macroalgae, seagrasses mycobiota was carried out. Currently, 435 species of fungi were found in the Black Sea basin. They belong to 212 genera, 84 families, 50 orders, 19 classes, and 3 kingdoms. Totally 372 species were recorded in the marine environment, 196 were found in the freshwaters, and 31 species was recorded in the hypersaline waters. In the water column, 230 species of fungi were identified (in the hydrogen sulfide zone – 21); in the bottom sediments – 202 (in the hydrogen sulfide zone – 31); 70 species were recorded on wood; 30 – in periphyton on glasses and artificial stony supralittoral (berths, traverses); 46 – in marine foam; 50 – on/in molluscs; 18 – on the skin of dolphins; 116 – on macroalgae; 2 – on microalgae; 38 – on seagrasses; 69 – on/in fish; 14 – on/in crustaceans. The number of species found in the coastal waters of different regions is: Georgia – 8; Gelendzhik (Russia) – 56; Crimean Peninsula – 276; the north-western part of the Black Sea – 177; Romania – 112; Bulgaria – 44; Turkey – 9; Danube River – 238; Snake Island – 30. This review reflects individual studies on the fungi ability to utilize cellulose, petroleum and its products, phenol, and sulfur and to cause corrosion of metals. The first results in the study of antimicrobial activity of facultative and obligatory marine fungi of the Black Sea, as well as the ability of fungi to luminescence, are considered. This article lists directions of research in marine mycology that are perspective for the further study.

Keywords: Black Sea, marine fungi, epizooty, molluscs, fishes, crustaceans, hydrogen sulfide zone, water, bottom sediments, wood

УДК 582.273:546.56

ВЛИЯНИЕ МЕДИ НА ЧИСЛЕННОСТЬ, МОРФОЛОГИЮ КЛЕТОК И СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ МИКРОВОДОРОСЛИ *PORPHYRIDIUM PURPUREUM*

© 2019 г. Ж. В. Маркина^{1,2}, А. Н. Айздайчер¹

¹Национальный научный центр морской биологии имени А. В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток, Российская Федерация

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Российская Федерация
E-mail: zhannav@mail.ru

Поступила в редакцию 17.04.2019; после доработки 29.07.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Изучили возможности адаптации красной водоросли *Porphyridium purpureum* к интоксикации медью. В качестве показателей использовали динамику численности клеток, морфологию клеток, содержание хлорофилла *a* и каротиноидов. Эксперимент проводили в два этапа. На первом исследовали действие меди в концентрациях 50 и 100 мкг·л⁻¹; на втором оценивали адаптивные способности водоросли к росту в загрязнённой Cu²⁺ среде. Установлено, что на первом этапе присутствие меди в среде в концентрации 50 мкг·л⁻¹ существенно не сказывалось на исследуемых показателях. Внесение 100 мкг·л⁻¹ вызывало угнетение роста и снижение содержания фотосинтетических пигментов. Показано, что на втором этапе после пересева из среды, содержащей 50 мкг·л⁻¹, в среду с такой же концентрацией количество клеток и содержание фотосинтетических пигментов достоверно не отличались от контрольных. Часть клеток деформировалась, хлоропласты были тёмными. При пересеве из среды, содержащей 50 мкг·л⁻¹, в среду со 100 мкг·л⁻¹ зафиксировано отставание в росте в два раза; в суспензии обнаружено большое количество клеток с тёмным зернистым хлоропластом. Перенос клеток из среды со 100 мкг·л⁻¹ в среду с такой же концентрацией вызывал подавление роста и уменьшение содержания фотосинтетических пигментов. В суспензии обнаружены клетки с диаметром, превышающим контрольный; отмечено большое количество слизи. Установлено, что полноценной адаптации *P. purpureum* к содержанию меди в среде не происходило.

Ключевые слова: *Porphyridium purpureum*, адаптация, медь, численность клеток, фотосинтетические пигменты

Загрязнение медью вод Мирового океана на протяжении десятилетий носит глобальный характер. По разным оценкам, в водоёмы поступает от 35·10³ до 90·10³ тонн меди в год [21]. Особенно страдают акватории, прилегающие к морским портам и крупным населённым пунктам. Источниками загрязнения являются коммунально-бытовые, промышленные и сельскохозяйственные сточные воды [22]. Ещё одна причина поступления меди в портовые воды — её использование в качестве добавки к краскам с антиобрастающим эффектом [16].

Особый интерес к меди в экотоксикологическом плане обусловлен тем, что она относится к эссенциальным микроэлементам, участвующим в физиологических процессах клеток растений. Вместе с тем высокие концентрации этого металла вызывают снижение скорости роста популяции микроводорослей и оказывают повреждающее действие на фотосинтетический аппарат [22, 27]. К настоящему времени накоплен огромный фактический материал, касающийся оценки действия

меди на морские одноклеточные водоросли. В подавляющем большинстве работ изучены представители диатомовых водорослей, что обусловлено их экологической важностью в морских экосистемах [3, 5, 16]. Достаточно много исследований выполнено на зелёных микроводорослях, что связано с удобством их культивирования и с их доминированием в нарушенных экосистемах морских вод [2, 8, 15, 17, 21].

Одноклеточные красные водоросли (Rhodophyta) не выполняют выраженных экологических функций, в отличие от представителей диатомовых, однако их исследование важно в фундаментальном плане для понимания механизмов действия веществ и адаптивных возможностей растительных организмов. В прикладных исследованиях эти микроводоросли прежде всего представляют интерес как источники полисахаридов [7] и эссенциальных жирных кислот [4]. Также их предлагают использовать в качестве биосенсоров [25, 26]. В связи с этим необходимо всестороннее изучение адаптивных возможностей данных организмов и их отклика на состояние окружающей среды.

В экотоксикологических экспериментах с микроводорослями наиболее часто оценивают динамику численности популяции [3] и содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и суммы каротиноидов), а также морфологические изменения клеток. Эта информация помогает выявить закономерности действия токсических веществ.

В связи с вышеизложенным целью работы было изучить возможности адаптации микроводоросли *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) к интоксикации медью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом служила альгологически чистая культура *Porphyridium purpureum* (Bory) K. M. Drew & R. Ross, 1965 (Rhodophyta), изолированная из Амурского залива Японского моря. Культуру водоросли выращивали в конических колбах Эрленмейера объёмом 250 мл на среде *f* [10] при температуре +19...+20 °С и при освещении люминесцентными лампами интенсивностью 3500 лк с периодом 14 ч свет : 10 ч темнота. Питательную среду готовили на стерилизованной морской воде.

Медь добавляли в виде $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Концентрации указаны в пересчёте на ионы меди. ПДК меди для морских вод — 5 мкг·л⁻¹; её содержание в водах морских акваторий достигает 50 мкг·л⁻¹ [1].

Эксперимент проводили в два этапа. На первом исследовали действие меди в концентрациях 50 и 100 мкг·л⁻¹ на *P. purpureum*. На втором этапе, с целью изучения влияния меди на *P. purpureum* и с учётом способностей культуры адаптироваться к равноценному или более высокому содержанию металла, водоросли, экспонируемые при разных концентрациях меди, переносили в растворы с её содержанием 50 и 100 мкг·л⁻¹. Для этого клетки осаждали центрифугированием при 5000 об·мин⁻¹ в течение 10 минут; сливали супернатант; пересеивали клетки в среду, содержащую медь. Стартовая концентрация на обоих этапах — $8 \cdot 10^4$ кл·мл⁻¹.

Образцы для подсчёта клеток и для определения содержания хлорофилла *a* и суммы каротиноидов отбирали после тщательного перемешивания в день постановки опыта, а также через одни, четверо и семь суток эксперимента. Фотографии сделали на седьмые сутки первого и второго этапов эксперимента.

Образцы для подсчёта клеток и для получения фотографического материала фиксировали раствором Утермея. Подсчёт клеток произвели в камере Горяева под микроскопом Zeiss Axio Imager.

Несмотря на то, что представители Rhodophyta содержат особые пигменты фикобилины, в настоящей работе рассмотрено действие меди только на содержание хлорофилла *a* и каротиноидов (пигментов, которыми обладают все растительные организмы).

Содержание хлорофилла *a* и суммы каротиноидов анализировали в образцах, собранных на мембранный фильтр. Пигменты экстрагировали 90%-ным ацетоном, затем в течение 15 минут центрифугировали для удаления взвеси при 7000 об·мин⁻¹. Супернатант сливали и спектрофотометрировали на следующих длинах волн: 480, 630, 647, 664 и 750 нм (Shimadzu, Japan). Расчёт концентраций пигментов проводили по стандартным формулам [12].

Все эксперименты, описанные в работе, проведены в трёх повторностях. На графиках представлены средние значения и стандартные отклонения. Статистическая обработка данных проведена в программе Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первый этап. Действие меди в концентрациях 50 и 100 мкг·л⁻¹ на *Porphyridium purpureum*.

Численность клеток при внесении 50 мкг·л⁻¹ Cu²⁺ на протяжении эксперимента отставала от контрольной, однако разница была недостоверной (рис. 1А). Внешний вид клеток не отличался от контроля (рис. 2А, Б). Содержание хлорофилла *a* и каротиноидов на седьмые сутки опыта несколько превышало таковое в контроле (см. рис. 1Б, В).

Внесение 100 мкг·л⁻¹ приводило к выраженному угнетению роста популяции (см. рис. 1А) и к снижению содержания фотосинтетических пигментов (см. рис. 1Б, В). Часть клеток в популяции укрупнялась (см. рис. 2В).

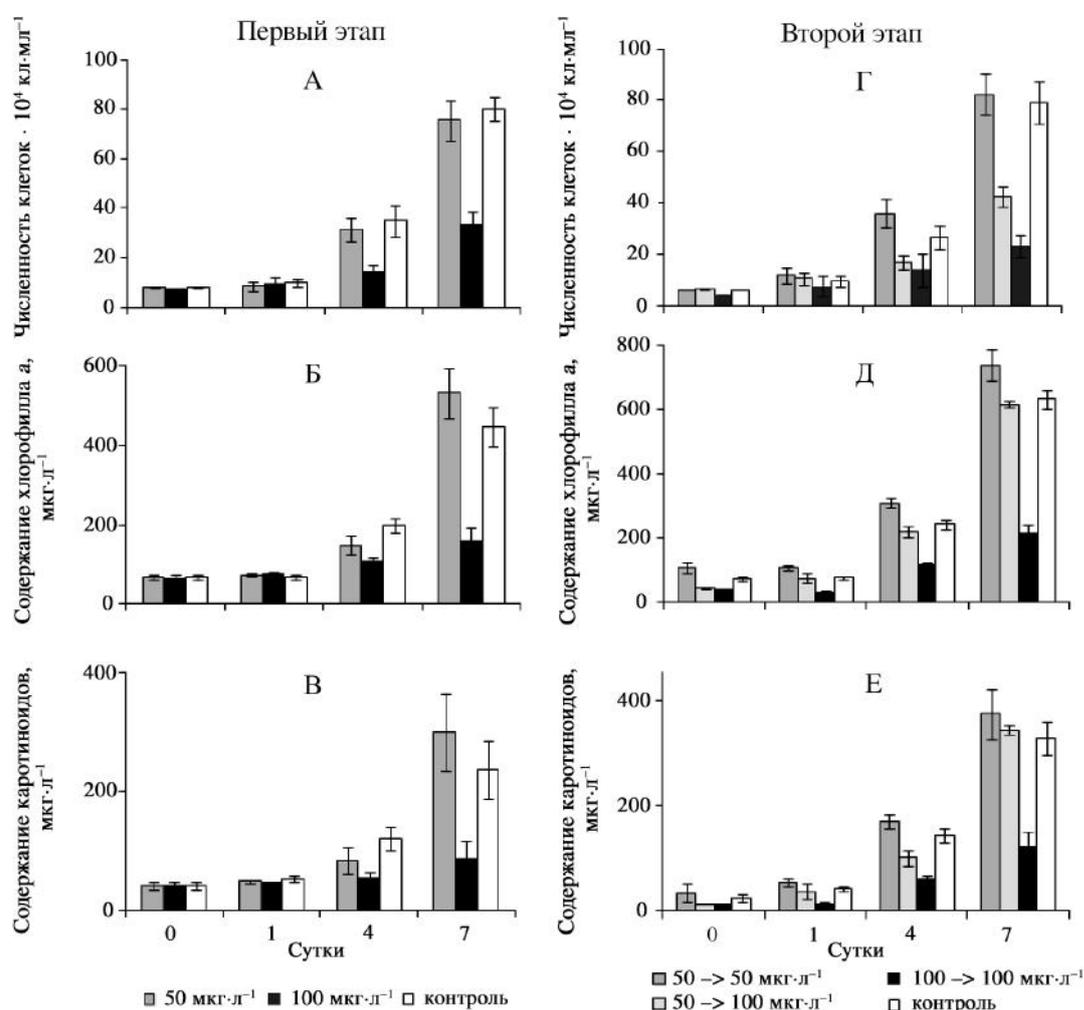


Рис. 1. Рост и содержание фотосинтетических пигментов микроводоросли *Porphyridium purpureum* при внесении меди в среду: А — численность клеток на первом этапе опыта; Б — содержание хлорофилла *a* на первом этапе опыта; В — содержание каротиноидов на первом этапе опыта; Г — численность клеток на втором этапе опыта; Д — содержание хлорофилла *a* на втором этапе опыта; Е — содержание каротиноидов на втором этапе опыта

Fig. 1. Microalga *Porphyridium purpureum* growth and photosynthetic pigment content in copper polluted media: А – cells number at the first stage of the experiment; Б – chlorophyll *a* content at the first stage of the experiment; В – carotenoid content at the first stage of the experiment; Г – cells number at the second stage of the experiment; Д – chlorophyll *a* content at the second stage of the experiment; Е – carotenoid content at the second stage of the experiment

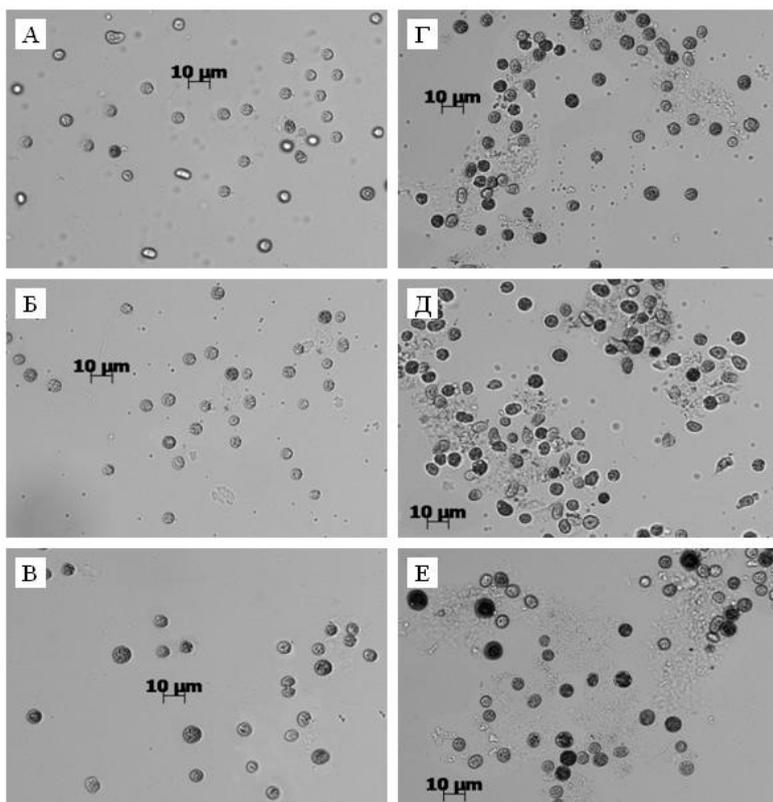


Рис. 2. Клетки в контроле и при внесении меди в среду:

А — контроль;
 Б — концентрация меди $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$;
 В — концентрация меди $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$;
 Г — после пересева из 50 в $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ меди;
 Д — после пересева из 50 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ меди;
 Е — после пересева из 100 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ меди

Fig. 2. Cells in control and with copper addition to the medium:

А – control;
 Б – $50 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration;
 В – $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration;
 Г – after transferring from 50 to $50 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration;
 Д – after transferring from 50 to $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration;
 Е – after transferring from 100 to $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration

Второй этап. Действие меди в концентрациях 50 и $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ на *Porphyridium purpureum* после пересева.

Показано, что количество клеток микроводоросли после пересева из среды с концентрацией $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ в среду с $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ на четвёртые сутки опыта превышало таковое в контроле, а на седьмые — сравнялось с ним (см. рис. 1Г). Содержание хлорофилла *a* было выше контрольного на всём протяжении опыта, а содержание каротиноидов достоверно не отличалось от контрольного (см. рис. 1Д, Е). На этом этапе клетки, изученные под световым микроскопом, были более тёмными, чем в контроле. Часть клеток деформировалась; отмечено наличие слизи (см. рис. 2Г).

При пересеве водоросли из 50 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ зафиксировано отставание роста от контрольного в два раза (см. рис. 1Г). В культуре присутствовало большое количество деформированных клеток с зернистым хлоропластом (см. рис. 2Д). Содержание фотосинтетических пигментов не отличалось от такового в контроле (см. рис. 1Д, Е).

Перенос водоросли из 100 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ вызывал подавление роста и уменьшение содержания фотосинтетических пигментов, аналогичное процессу на первом этапе (см. рис. 1Г, Д, Е). В суспензии появились клетки с диаметром, визуально превышающим контрольный. Многие клетки деформировались. В суспензии присутствовало большое количество слизи (см. рис. 2Е).

Рост, морфология и физиологическое состояние *P. purpureum* изменялись при всех исследованных уровнях содержания Cu^{2+} . Фотосинтетический аппарат растений особенно чувствителен к меди, что связано с её участием в процессах фотосинтеза и дыхания [24]. Этот металл способствует выделению активных форм кислорода, которые вызывают повреждение мембран хлоропластов, делая их ещё более уязвимыми [23]. Между тем в токсической среде микроводоросли накапливают фотосинтетические пигменты, что является одним из механизмов адаптации к воздействию меди, так как при этом уменьшается содержание металла на биомассу клетки [21].

Помимо своей главной роли (осуществления процесса фотосинтеза) хлоропласты выполняют и другую — участвуют в синтезе аминокислот, жирных кислот, фитогормонов [14]. Следовательно, если фотосинтетический аппарат подвергается негативному воздействию, то рост популяции

водорослей неизбежно меняется. В нашем опыте это было особенно выражено при концентрации $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ и при пересеве водоросли в среду с аналогичным содержанием металла.

При сублетальных концентрациях меди энергия, полученная в результате световых реакций, уходит в основном на поддержание гомеостаза в клетке, а не процессов деления, что становится одной из причин задержки роста всей популяции [20, 23]. Об этом может свидетельствовать укрупнение клеток *P. purpureum* при $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ на первом и, особенно, втором этапе опыта, когда они накопили достаточно веществ для начала процесса деления, но он не осуществляется из-за токсического действия меди. Кроме того, увеличение размера клеток направлено на снижение влияния токсического фактора, так как удельная поверхность клетки уменьшается [17]. Существуют также сведения о том, что медь оказывает воздействие на генетический аппарат клеток [13, 19], и это, наряду с нарушением формы, может быть одной из причин увеличения их размера. У красной макроводоросли *Gracilaria domingensis* отмечено изменение формы и размера клеток при медной интоксикации. Кроме того, у неё происходило накопление багрянкового крахмала [9]. В связи с этим можно предположить, что увеличение размеров клеток и плотности их содержимого обусловлено также накоплением указанного вещества, наличие которого характерно для всех представителей отдела Rhodophyta.

Аккумуляция тяжёлых металлов микроводорослями хорошо изучена [11, 17, 18]; ингибирование роста при пересеве в среду, содержащую медь, может быть связано и с этим процессом. Кроме того, показано, что постепенное увеличение концентрации Cu приводило к росту содержания хлорофилла *a* у *Dunaliella salina* и *D. tertiolecta*, а также к усилению выделения полисахаридов у *Cylindrotheca fusiformis* с одновременным снижением численности клеток [21].

На втором этапе у *P. purpureum* при всех уровнях содержания меди отмечено появление большого количества слизи. Её выделение — один из универсальных механизмов детоксикации тяжёлых металлов у водорослей [6]. Причиной указанного явления может служить и истечение клеточного содержимого в результате разрушающего действия меди на клеточные мембраны [27].

Заключение. Выявлены разные типы отклика микроводоросли *P. purpureum* на воздействие меди: одновременное ингибирование роста и уменьшение содержания фотосинтетических пигментов (при $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ и пересеве в среду с такой же концентрацией); увеличение содержания фотосинтетических пигментов при росте количества клеток, аналогичном контрольному (при пересеве из 50 в $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$); отставание роста популяции от контрольного (при пересеве из 50 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$). Морфология клеток изменялась при добавлении $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ и при пересеве в среду с каждой из исследованных концентраций меди. Таким образом, полной адаптации *P. purpureum* к присутствию меди в среде не происходило.

Работа поддержана грантом 18-3-052 «Получение чистых линий культур микроводорослей из коллекции Морской биобанк ННЦМБ ДВО РАН для разработки спектральных экспресс-методов определения видового состава (раздел 5)» в рамках программы «Приоритетные научные исследования в интересах комплексного развития Дальневосточного отделения РАН».

Благодарность. Авторы признательны ресурсному центру «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН (<http://marbank.dvo.ru>) за предоставление культуры *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) MBRU_PP-AB11.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2015* / под ред. А. Н. Коршенко. Москва : Наука, 2016. 190 с. [*Kachestvo morskikh vod po gidrokhimicheskim pokazatelyam. Ezhegodnik 2015* / A. N. Korshenko (Ed.). Moscow : Nauka, 2016, 190 p. (in Russ.)]
2. Adams M. S., Dillon C. T., Vogt S., Lai B., Stauber J., Jolley A. Copper uptake, intracellular localization, and speciation in marine microalgae measured by synchrotron radiation X-ray fluorescence and absorption microspectroscopy. *Environmental Science & Technology*,

- 2016, vol. 50, iss. 16, pp. 8827–8839. <http://doi.org/10.1021/acs.est.6b00861>
3. Ahalya N., Ramachandra T. V., Kanamadi N. Biosorption of heavy metals. *Research Journal of Chemical & Environmental Sciences*, 2003, vol. 7, iss. 4, pp. 71–79.
 4. Asgharpour M., Rodgers B., Hestekin J. A. Eicosapentaenoic acid from *Porphyridium cruentum*: Increasing growth and productivity of microalgae for pharmaceutical products. *Energies*, 2015, vol. 8, iss. 9, pp. 10487–10503. <https://doi.org/10.3390/en80910487>
 5. Cid A., Filargo P., Herrero C., Abalde J. Toxic action of copper on the membrane system of a marine diatom measured by flow cytometry. *Cytometry*, 1996, vol. 25, iss. 1, pp. 32–36. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0320\(19960901\)25:1<32::AID-CYTO4>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0320(19960901)25:1<32::AID-CYTO4>3.0.CO;2-G)
 6. Crespo E., Losano P., Blasco J., Moreno-Garrido I. Effect of copper, irgarol and atrazine on epiphytes attached to artificial devices for coastal ecotoxicology bioassays. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2013, vol. 91, iss. 6, pp. 656–600. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1122-4>
 7. De Jesus Raposo M. F., de Morais R. M. S. C., de Morais A. M. M. B. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. *Marine Drugs*, 2013, vol. 11, iss. 1, pp. 233–252. <https://doi.org/10.3390/md11010233>
 8. Franklin N. M., Stauber J. L., Lim R. P. Development of flow cytometry-based algal bioassays for assessing toxicity of copper in natural waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2001, vol. 20, iss. 1, pp. 160–170.
 9. Gouveia C., Kreusch M., Schmidt E. C., Felix M. R. de L., Osorio L. K. P., Pereira D. T., Santos R., Ouriques L. C., Martins R. P., Latini A., Ramlov F., Carvalho T. J. G., Chow F., Maraschin M., Bouzon Z. L. The effects of lead and copper on the cellular architecture and metabolism of the red alga *Gracilaria domingensis*. *Microscopy and Microanalysis*, 2013, vol. 19, iss. 3, pp. 513–524. <http://dx.doi.org/10.1017/s1431927613000317>
 10. Guillard R. R. L., Ryther J. H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, vol. 8, no. 2, pp. 229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
 11. Hamed S. M., Selim S., Klöck G., Abdelgawad H. Sensitivity of two green microalgae to copper stress: Growth, oxidative and antioxidants analyses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, vol. 144, pp. 19–25. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.048>
 12. Jeffrey S. W., Humphrey G. F. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 1975, vol. 167, iss. 2, pp. 191–194. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
 13. Jiang W., Liu D. H., Liu X. Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays*. *Biologia Plantarum*, 2001, vol. 44, iss. 1, pp. 105–109. <https://doi.org/10.1023/A:1017982607493>
 14. Kiseleva A. A., Tarachovskaya E. R., Shishova M. F. Biosynthesis of phytohormones in algae. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2012, vol. 59, iss. 5, pp. 595–610. <http://doi.org/10.1134/S1021443712050081>
 15. Kumar S. K., Shin K.-H. Effect of copper on marine microalga *Tetraselmis suecica* and its influence on ultra- and extracellular iron and zinc content. *Korean Journal of Ecology and Environment*, 2017, vol. 50, no. 1, pp. 16–28. <https://doi.org/10.11614/KSL.2017.50.1.016>
 16. Leung P. T. Y., Yi A. X., Ip J. C. H., Mak S. S. T., Leung K. M. Y. Photosynthetic and transcriptional responses of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* to the combined effect of temperature stress and copper exposure. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, vol. 124, iss. 2, pp. 938–945. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.038>
 17. Levy J., Stauber J. L., Jolley D. F. Sensitivity of marine microalgae to copper: The effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Science of the Total Environment*, 2007, vol. 387, iss. 1–3, pp. 141–154. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.07.016>
 18. Li X., Ping X., Xlumet S., Zhenbin W., Liqtang X. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments, and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 2005, vol. 60, iss. 2, pp. 188–192. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.01.012>
 19. Liu D., Jiang W., Meng Q., Zou J., Gu J., Zeng M. Cytogenetical and ultrastructural effects of copper on root meristem cells of *Alleum sativum* L. *Biocell*, 2009, vol. 33, iss. 1, pp. 25–32.
 20. Machado M. D., Soares E. V. Modification of cell volume and proliferative capacity of *Pseudokirchneriella subcapitata* cells exposed to metal stress.

- Aquatic Toxicology*, 2014, vol. 147, pp. 1–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.11.017>
21. Miazek K., Iwanek W., Remacle C., Richel A., Goffin D. Effect of metals, metalloids and metallic nanoparticles on microalgae growth and industrial products biosynthesis: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, vol. 16, iss. 10, pp. 23929–23969. <https://doi.org/10.3390/ijms161023929>
 22. Nagajoti P. C., Lee K. D., Sreekanth T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 2010, vol. 8, iss. 3, pp. 199–216. <http://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
 23. Perales-Vela H. V., González-Moreno S., Montes-Horcasitas C., Cañizares-Villanueva R. O. Growth, photosynthetic and respiratory responses to sub-lethal copper concentrations in *Scenedesmus incrasatulus* (Chlorophyceae). *Chemosphere*, 2007, vol. 67, iss. 11, pp. 2274–2281. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.11.036>
 24. Schmitt F.-J., Renger G., Friedrich T., Kreslavski V. D., Zharmukhamedov S. K., Los D. A., Kuznetsov V. V., Allakhverdiev S. I. Reactive oxygen species: Re-evaluation of generation, monitoring and role in stress-signaling in phototrophic organisms. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, vol. 1837, iss. 6, pp. 835–848. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2014.02.005>
 25. Voznesenskiy S. S., Popik A. Y., Gamayunov E. L., Orlova T. Y., Markina Zh. V., Kulchin Y. N. Biosensors based on micro-algae for ecological monitoring of the aquatic environment. In: *Algae – Organisms for Imminent Biotechnology*. Rijeka : Intech, 2016, chap. 5, pp. 103–131. <http://doi.org/10.5772/62801>
 26. Voznesenskiy S. S., Popik A. Yu., Gamayunov E. L., Orlova T. Yu., Markina Zh. V., Postnova I. V., Shchipunov Yu. A. One stage immobilization of the microalga *Porphyridium purpureum* using a biocompatible silica precursor and study of the fluorescence of its pigments. *European Biophysics Journal*, 2018, vol. 47, iss. 1, pp. 75–85. <http://doi.org/10.1007/s00249-017-1213-y>
 27. Yruela I. Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2005, vol. 17, no. 1, pp. 145–156. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202005000100012>

THE EFFECT OF COPPER ON THE ABUNDANCE, CELL MORPHOLOGY AND CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN THE MICROALGA *PORPHYRIDIVM PURPUREUM*

Zh. V. Markina^{1,2} and N. A. Aizdaicher¹

¹Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation

²Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

E-mail: zhannav@mail.ru

Red microalga *Porphyridium purpureum* adaptive abilities to copper intoxication were studied. Cell number dynamics and morphology, contents of chlorophyll *a* and carotenoids were used as test-points. The experiment was conducted in two stages. At the first stage the effect of copper in concentrations of 50 and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ was studied; at the second stage the alga adaptive abilities to growth in copper contaminated medium were assessed. At the first stage copper concentration of 50 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ didn't influence the parameters under study. Addition of 100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ caused growth inhibition and photosynthetic pigment content decrease. At the second stage after transferring alga to a medium with 50 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration from a medium with similar conditions, cell number and photosynthetic pigment content were not significantly different from the control ones. Part of the cells deformed, chloroplasts became darkened. Transferring to a medium with 100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ from a medium with 50 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration caused growth delay; most of the cells in suspension were with dark, granulated chloroplast. Cells transferring from a medium with 100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ to a medium with the same concentration resulted in growth inhibition and photosynthetic pigment content decrease. Part of the cells in suspension became larger than in control and with great amount of mucilage. Complete adaptation of *P. purpureum* to copper intoxication didn't occur.

Keywords: *Porphyridium purpureum*, adaptation, copper, cells number, photosynthetic pigments

UDC 582.273:546.17

THE EFFECT OF DIVERSE NITROGEN SOURCES IN THE NUTRIENT MEDIUM ON THE GROWTH OF THE GREEN MICROALGAE *CHROMOCHLORIS ZOFINGIENSIS* IN THE BATCH CULTURE

© 2019 G. S. Minyuk¹, N. V. Dantsyuk¹, E. S. Chelebieva¹, I. N. Chubchikova¹,
I. V. Drobetskaya¹, and A. E. Solovchenko²

¹A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

E-mail: gsminyuk@mail.ru

Received by the Editor 27.05.2019; after revision 14.10.2019;
accepted for publication 25.12.2019; published online 30.12.2019.

The effect of three nitrogen (N) sources in the nutrient medium – sodium nitrate (NaNO₃), urea (CO(NH₂)₂), and ammonium chloride (NH₄Cl) – on the morphological and physiological characteristics of the green microalga *Chromochloris* (*Chlorella*) *zofingiensis*, a potential commercial producer of lipids and a ketocarotenoid astaxanthin, was studied. The alga was batch-cultivated in glass conical flasks from starting cell density (*n*) around 2.3·10⁶ per mL and dry weight (DW) content of 0.06 g·L⁻¹ in all variants at 120 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR, +20...+21 °C, and air bubbling at a rate of 0.3 L·min⁻¹·L⁻¹. The concentration of nitrogen sources (as elemental N) in the modified BBM nutrient medium was 8.83 mmol·L⁻¹, the cultivation duration was 17 days. The dynamics of *n* and cell volumes, DW content, chlorophylls *a* and *b* (Chl*a* and Chl*b*), total carotenoids (Car), and lipids (Lip) in the cultures, concentration of N sources in the nutrient medium, and its pH were recorded. It was shown that the growth rate, size distribution of the cell populations, and the biomass chemical composition depended significantly on the nitrogen source in the nutrient medium. Using NH₄Cl as N source caused on the second day growth inhibition, cell swelling, aggregation, and discoloration; by the seventh day, it caused culture crash. *C. zofingiensis* cells took up NaNO₃ and CO(NH₂)₂ from the medium at a similar rate (0.626 and 0.631 mmol N·L⁻¹·day⁻¹, respectively), but the growth of the culture fed with CO(NH₂)₂ lagged; its cell volume and Chl*a*, Chl*b*, and total Car contents declined profoundly. The average dry matter productivity (P_{DW}) in the culture grown on CO(NH₂)₂ [(0.086 ± 0.004) g·L⁻¹·day⁻¹] was 32.6 % lower than in the culture grown on NaNO₃ [(0.114 ± 0.005) g·L⁻¹·day⁻¹]. At the same time, lipid productivity (P_{Lip}) of the urea-fed culture was comparable with that of the nitrate-fed culture (P_{Lip} of 28 and 26 mg·L⁻¹·day⁻¹, respectively). The lipid DW percentage of the former exceeded significantly that of the nitrate-fed culture (31.6 % vs 23.1 %, respectively). From the standpoint of profitability, the lag in biomass accumulation recorded in the urea-fed culture on P_{DW} is not critical since it is compensated by lowering the cost of nitrogen source for the nutrient medium (approximately by 230 %) and a higher biomass lipid content. *C. zofingiensis* grown in media with urea as the only N source deserves further investigation.

Keywords: *Chromochloris zofingiensis*, batch culture, nitrogen nutrition, growth, pigments, lipids

Chromochloris (*Chlorella*) *zofingiensis* (DöNZ) Fucíková and L. A. Lewis, 2012 (Chlorophyceae, Sphaeropleales), formerly *Chlorella zofingiensis* DöNZ, 1934 [12], belongs to a highly specialized ecological group of carotenogenic green microalgae capable of survival under extremely adverse environmental conditions by rapid transition of its vegetative cells to a resting state. This process is accompanied by a massive accumulation of neutral lipids and C40-ketocarotenoids (hereinafter kCar) in cytoplasmic lipid droplets.

These pigments serve as antioxidants protecting the key macromolecules of the cell under abiotic stress [18]. The relevance of ecological and physiological studies of such species is determined by (i) gaining further insight into the mechanisms of microalgae adaptation to anthropogenic disturbance of natural ecosystems and (ii) identifying new sources of bulk lipids and high-value kCar (astaxanthin and its closest metabolic precursors) widely used in the production of feed for aquaculture and poultry, dietary supplements, and cosmetics [18, 32]. The most prominent representative of this group of microalgae is *Haematococcus pluvialis* Flotow, 1844 (Chlamydomonadales) serving as a model in studies of the mechanisms and physiological significance of secondary carotenogenesis in Chlorophyceae. At the same time, *H. pluvialis* became the only industrially cultivated microalgal producer of natural astaxanthin (hereinafter Ast) [32].

In recent years, *C. zofingiensis* has been increasingly considered as a new commercially promising candidate producer of Ast that can compete with *H. pluvialis*. The main arguments in favor of *C. zofingiensis* are its (i) higher growth rate, (ii) wider environmental plasticity (especially with respect to temperature, salinity, and hydrodynamic effects), and (iii) a more complete extractability of pigments from the biomass due to less tough cell wall than in *H. pluvialis* [7, 16, 20, 23, 35]. A number of authors focus on the development of methods for its cultivation as a source of lipids for biodiesel. The capability of co-generation of lipids and a mixture of kCar from Ast group, a product, which is expensive and much sought after, constitutes a serious technological advantage of *C. zofingiensis* increasing profitability of both target products [11, 14, 23].

It is shown that *C. zofingiensis* can be successfully cultivated autotrophically, mixotrophically, and heterotrophically [7, 15, 20, 22, 23, 35]. Some authors prefer heterotrophic cultivation of algae on glucose as it yields the highest amount of biomass, lipids, and pigments [35]. The high cost of the industrial fermenters eliminates this advantage. A more cost-efficient method of growing the algae is their cultivation in mineral media in open ponds or simple flat panel photoreactor made from polyethylene film [29].

In autotrophic systems for lipids production from microalgae, nitrates (KNO_3 and NaNO_3) are usually used as a source of nitrogen (N). Moreover, in the cost structure of the nutrient media, nitrates are the second after CO_2 : production of 1 ton of biodiesel requires 250–500 kg of nitrate-N [24]. Accordingly, search for N sources bioavailable for *C. zofingiensis*, cheaper than nitrates, is crucial for optimization of its bulk cultivation. Alternative N sources for many Chlorophyceae species comprise ammonium salts and urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$). Ammonium (NH_4^+) is the most reduced form of N, it is directly involved in the synthesis of amino acids in chloroplasts, while the assimilation of nitrates and nitrites requires their reduction to NH_4^+ by reductases [30]. Urea is the most N-rich substrate. Its molecule contains 47 % of N and 20 % of carbon. It is readily absorbed by most green microalgae featuring pathways for efficient assimilation of urea [3, 8]. These observations are experimentally confirmed by successful cultivation of microalgae from the genera *Chlorella* and *Scenedesmus* with urea as the sole source of N in the medium [2, 8, 13]. However, the genera *Chlorella* and *Chromochloris* were recently shown to be evolutionary remote [12]. There are a lot of data sets published about this cultivation. However, there is no investigation of its ability to be cultivated with urea.

The present study aimed at the experimental verification of this hypothesis under conditions of autotrophic batch culture. The key goals were to assess the effect of three N sources in the nutrient medium – sodium nitrate (NaNO_3), urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), and ammonium chloride (NH_4Cl) – on the main morphophysiological characteristics of *C. zofingiensis*: its growth rate, cell size, nutrient uptake rate, dry weight (hereinafter DW), and pigment and lipid content expressed per cell, per unit culture volume, or DW.

MATERIAL AND METHODS

The strain *C. zofingiensis* CALU-190 (CCAP-211/14 = UTEX 32 = SAG 211-14 = ATTC 30412) obtained in 2006 from the Centre for Culture Collection of Microorganisms of St. Petersburg State University served as the object for this study. The strain was maintained on BBM medium [5] solidified with 1.5 % agar at the temperature round +15 °C and 35 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PAR with subculturing every 45 days.

To obtain the inoculate, the cells were transferred from the solid medium to the liquid BBM medium, diluted 2 times, and grown for 7 days in glass conical flasks at natural ambient light, room temperature +20...+22 °C, and bubbling with sterile air (0.3 L·min⁻¹·L⁻¹). Then the culture was sedimented by centrifugation (1000 g, 5 min); the cell pellet was transferred to complete BBM medium and cultivated for another 4 days at 120 μmol photons·m⁻²·s⁻¹ PAR from “Feron” DL 20W 6400K lamps and a photoperiod 15 h : 9 h light : darkness. The temperature and bubbling rate were the same as in the previous stage. The resulting culture consisting of young rapidly dividing cells was used as an inoculate.

In the experimental variant no. 1 (NaNO₃-fed cultures), *C. zoofingiensis* was grown on the BBM 3N medium of the following composition (g·L⁻¹ distilled water): NaNO₃ – 0.75; MgSO₄·7H₂O – 0.075; NaCl – 0.03; K₂HPO₄·3H₂O – 0.04; KH₂PO₄ – 0.1; Na₂EDTA – 0.05; KOH – 0.03; H₃VO₃ – 0.011; ZnSO₄·7H₂O – 0.0094; MnCl₂·4H₂O – 0.0014; Na₂MoO₄·2H₂O – 0.0024; CuSO₄·5H₂O – 0.0016; Co(NO₃)₂·6H₂O – 0.0005; FeSO₄·7H₂O – 0.005; CaCl₂ – 0.019; H₂SO₄ conc. – 1 μL.

In the nutrient media for the experimental variants no. 2 and no. 3, sodium nitrate was replaced by equimolar, as calculated per elemental nitrogen (8.83 mmol·L⁻¹), amount of urea (CO(NH₂)₂ – 0.265 g·L⁻¹), or ammonium chloride (NH₄Cl – 0.472 g·L⁻¹). The cultivation conditions were otherwise the same for all of the experimental variants: the starting cell density (*n*) about 2.3·10⁶ per mL (0.06 g DW·L⁻¹), 120 μmol photons·m⁻²·s⁻¹ PAR, 0.65 L of starting culture in 1-L conical flasks, (20 ± 1) °C, bubbling at 0.3 L·min⁻¹·L⁻¹.

The changes in cell density of the cultures (mL⁻¹) were recorded using a hemocytometer (4-grid Goryaev chamber; MiniMed, Russia) [37].

Dry weight content (g·L⁻¹) was determined gravimetrically using Whatman GF/C glass-fiber filters with a pore size of 1.2 μm [37].

Cell length (L) and width (W) were measured on photomicrographs acquired with the Leica DM-1000 photomicroscope (Leica Microsystems AG, Germany) and ImageJ software (National Institute of Health, USA). The volume of cells (V) was calculated by the formula for elongated spheroid or sphere. For the analysis of cell population size distribution, 100 cells were sampled.

Concentration of N sources in the culture medium was controlled potentiometrically or spectrophotometrically. Nitrate concentration was measured using a nitrate-selective electrode ELIS-121NO₃ (JSC “Prompribor”, Moscow, Russia). Urea was quantified by the color reaction with diacetylmonooxime [17]. Nitrite was assayed by Bendschneider – Robinson method [29].

Contents of chlorophylls (Chl*a*, Chl*b*) and total carotenoids (Car) in cultures was determined spectrophotometrically on SF-2000 spectrophotometer (MTPK-LOMO, Russia) after extraction of pigments from crude biomass by dimethyl sulfoxide (DMSO) [38].

Lipids were extracted according to Bligh and Dyer and assayed gravimetrically [4].

Maximum specific growth rates (μ_{max}, day⁻¹), average productivity in terms of cell density, DW, and total lipids (P_{Lip}) (mg·L⁻¹·day⁻¹) were calculated [40].

All measurements were performed in triplicate (biological replications) with 3 analytical replications for each biological replication. Averages and the corresponding standard deviations are shown in the text and figures. The significance of average differences was determined by Student's *t*-test at the significance level *p* < 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

For this work, we opted for BBM, the most popular medium for laboratory cultivation of green microalgae with sodium nitrate as a N source [5]. As before for screening new commercially promising astaxanthin producers [6, 25, 36], we modified this medium by increasing its N content three-fold (BBM 3N). In this study, the BBM 3N medium served as a control. In the experimental variants, NaNO₃ was replaced by CO(NH₂)₂ and NH₄Cl. Moreover, urea, a preferable N source for certain biotechnologically significant

species of Chlorophyceae [2, 8, 9], was the most interesting N source considering the goal of minimizing the cost of nutrient media for *C. zofingiensis*. NH_4Cl was chosen among ammonium salts also for the cost optimization reasons; it is also one of the least tested substrates for the cultivation of this species.

Changes in cell density and DW in the batch cultures of *C. zofingiensis* (Fig. 1) showed that of the three N sources tested, only NaNO_3 and $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ provided for the algae rapid growth.

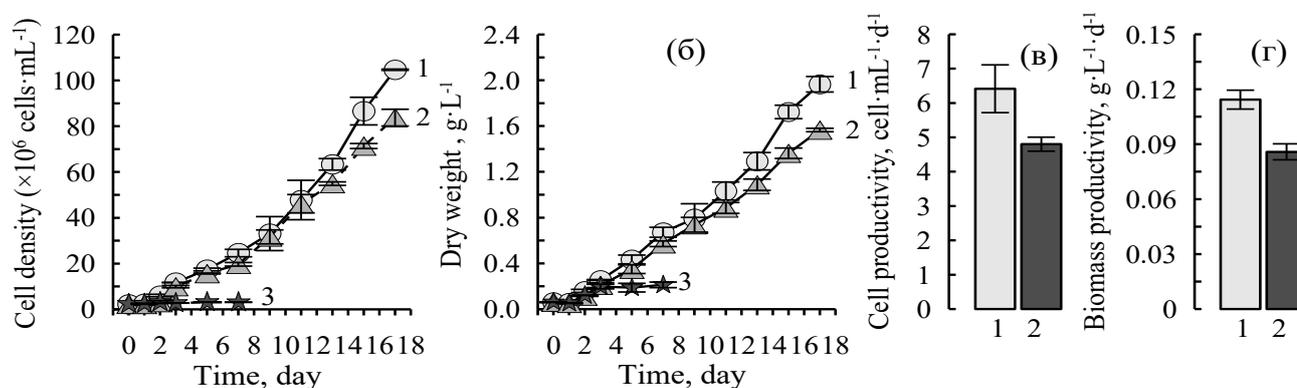


Fig. 1. Growth parameters of the *Chromochloris zofingiensis* batch cultures as a function of the nitrogen source in the nutrient medium. 1 – NaNO_3 ; 2 – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$; 3 – NH_4Cl

Рис. 1. Ростовые характеристики накопительных культур *Chromochloris zofingiensis* в зависимости от источника азота в питательной среде. 1 — NaNO_3 ; 2 — $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$; 3 — NH_4Cl

The NH_4Cl -fed culture displayed a turbidity and cessation of the cell division by the second day of the experiment. The algae cells in this variant swelled rapidly (their average volume increased 1.6 times during the first day; Fig. 2a). Starting from the third day, Chl content per cell (Fig. 3a) and per unit cell volume (Fig. 3b) declined sharply. The buildup of stress was also evidenced by a significant increase in the Car/Chl ratio index (Fig. 3c). On the seventh day, the vast majority of cells in this culture looked colorless under a light microscope and aggregated into large, loose clumps held together by the products of dead cell destruction by bacteria. The cell death in the NH_4Cl -fed culture was likely caused by an excess of the ammonium salt, which acidified the culture medium as a result of the salt hydrolysis yielding a strong acid and a weak base: $\text{NH}_4^+ + \text{Cl}^- + \text{HOH} \leftrightarrow \text{NH}_4\text{OH} + \text{Cl}^- + \text{H}^+$ (Table 1).

Table 1. The effect of N species in the medium on its pH

Таблица 1. Влияние химической формы азота на pH питательных сред

Day	Time of the day	pH		
		NaNO_3	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	NH_4Cl
5	16:15	8.53	7.07	4.45
7	14:45	8.90	7.28	4.41
13	14:30	9.10	7.70	–
15	14:30	9.00	7.60	–

Although the $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ molar ratio of the BBM 3N medium corresponds to that of a potassium-phosphate buffer (1:4), the buffer capacity of the medium is still insufficient to maintain pH in an optimum range for this species (5.5–8.5) [23]. A similar problem with cultivation of other chlorophytes (*Chlorella sorokiniana*, *Scenedesmus* sp., *Monoraphidium* sp.) on ammonium salts (NH_4Cl and NH_4NO_3) was reported [10, 21]. According to [28, 39], the main cause of cell death in such cases is inhibition of ATP synthesis in chloroplasts. Possible solution to the problem of growth inhibition by acidification of the medium during *C. zofingiensis* cultivation on ammonium salts as N source comprises cultivation

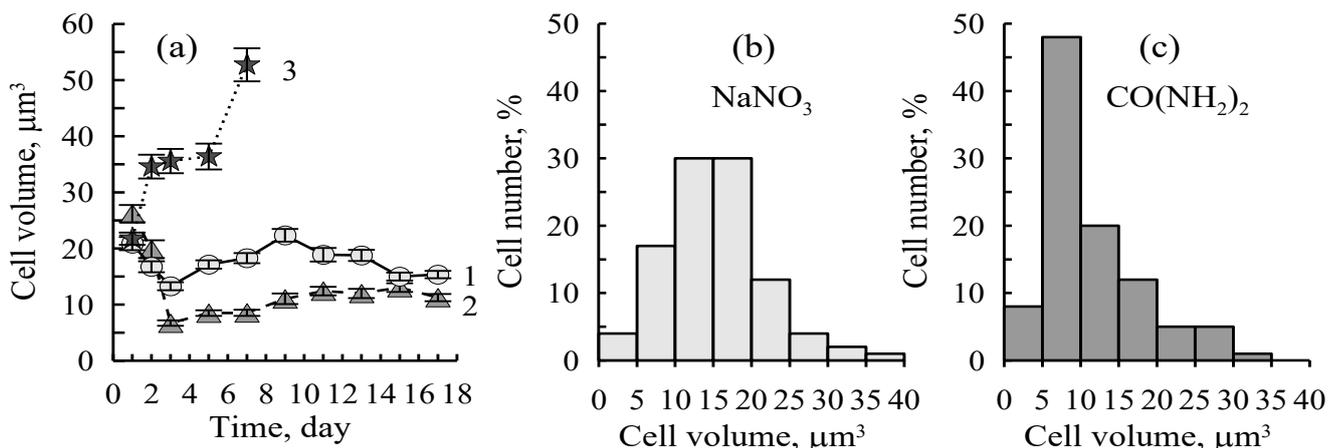


Fig. 2. Effect of the N source in the nutrient medium on (a) the dynamics of average cell volume and cell size distribution of cultures fed with (b) NaNO_3 or (c) $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ on the 17th day of *C. zofingiensis* cultivation. 1 – NaNO_3 ; 2 – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$; 3 – NH_4Cl

Рис. 2. Влияние источника азота в питательной среде на (a) динамику средних объёмов клеток и размерную структуру популяций клеток в вариантах (b) NaNO_3 и (c) $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ на 17-е сутки культивирования *C. zofingiensis*. 1 — NaNO_3 ; 2 — $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$; 3 — NH_4Cl

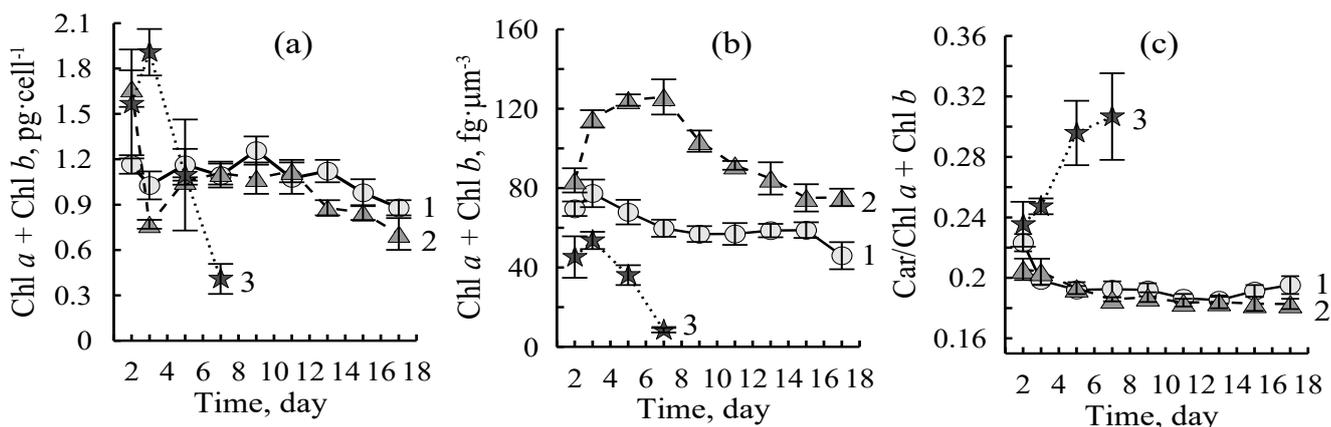


Fig. 3. Time-course of changes in chlorophylls content (a, b) and Car/Chl index (c) in *C. zofingiensis* cells as affected by the nitrogen source in the nutrient medium. 1 – NaNO_3 ; 2 – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$; 3 – NH_4Cl

Рис. 3. Динамика содержания хлорофиллов (a, b) и индекса Кар/Хл (c) в клетках *C. zofingiensis* в зависимости от источника азота в питательной среде. 1 — NaNO_3 ; 2 — $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$; 3 — NH_4Cl

in chemostat mode with pH adjustment by daily application of alkali solution (tested with *Scenedesmus* sp. and *Monoraphidium* sp. [10]). A suitable alternative would be increasing the buffer capacity of the nutrient medium by addition of an organic buffer (HEPES, TAPS, Bicine, MES, etc.) [34]. Both options require further research. At this stage, one can only argue that NH_4Cl is not a suitable N source for cultivation of *C. zofingiensis* according to the scheme employed (unbuffered BBM 3N medium; starting cell density of $2 \cdot 10^6$ per mL; $8.82 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ of ammonium N).

In the cultures fed with NaNO_3 or $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, cells divided vigorously after a short (1–2 days) lag phase; vigorous cell division was observed throughout the observation period (Fig. 1). The duration of the exponential growth phase in the NaNO_3 -fed cultures was 2 days vs 1 day in the $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ -fed cultures. In the $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ -fed cultures, the maximum specific growth rate (1.21 day^{-1}) was 57 % higher than in the NaNO_3 -fed cultures (0.77 day^{-1}), but the average productivity in terms of cell density and biomass accumulation of the urea-fed cultures was significantly lower than of the nitrate-fed cultures (by 34 and 32 %, respectively).

In both variants, the culture growth curves (monitored via either cell density or DW) of *C. zofingiensis* did not reach stationary phase for quite a long time. By contrast, the previously studied carotenogenic species (*Haematococcus pluvialis*, *Coelastrrella rubescens*, etc.) reached stationary phase by the 8th–9th day of cultivation under similar conditions in the BBM 3N medium [6, 25]. Such differences are probably due to the fact that these species have much (1–2 orders of magnitude) larger cells than *C. zofingiensis*. Thus, the average cell volume (hereinafter ACV) of *H. pluvialis* IMBR-2 featuring the smallest cells among the strains in the collection of A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS varied, under similar external conditions, in the range of 1000–2500 μm^3 depending on the growth stage; in *C. rubescens* ACV varied in the range of 60–130 μm^3 , and in *Pseudospongiococcum protococcoides* – in the range of 150–200 μm^3 [6, 25]. After the end of lag phase, the ACV in the NaNO_3 -fed cultures of *C. zofingiensis* was just 13–22 μm^3 ; the urea-fed cultures were characterized by even smaller ACV (6–13 μm^3 ; Fig. 2a). Obviously, the smaller the cells are, the later the slow-down of culture growth due to nutrient starvation will occur (provided that the cultures were initiated at the same cell density and biogenic element concentration in the medium); it was the case in this work. Only after 15–17 days of cultivation, both cultures of *C. zofingiensis* showed the signs of growth slowdown, although the concentration of NaNO_3 and $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ fell below determination limit already on the 13th day. The corresponding average uptake rates were close (0.626 and 0.631 $\text{mmol N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$, respectively; Fig. 4a). In the NaNO_3 -fed culture, the N source including nitrite accumulated in the medium at an average rate of 0.001 $\text{mmol N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$ as a result of incomplete reduction of NO_3^- to NH_4^+ [30] (Fig. 4b). A similar short-term maintenance of cell division upon depletion of nitrate nitrogen N in the medium was previously observed in *H. pluvialis* batch cultures [40].

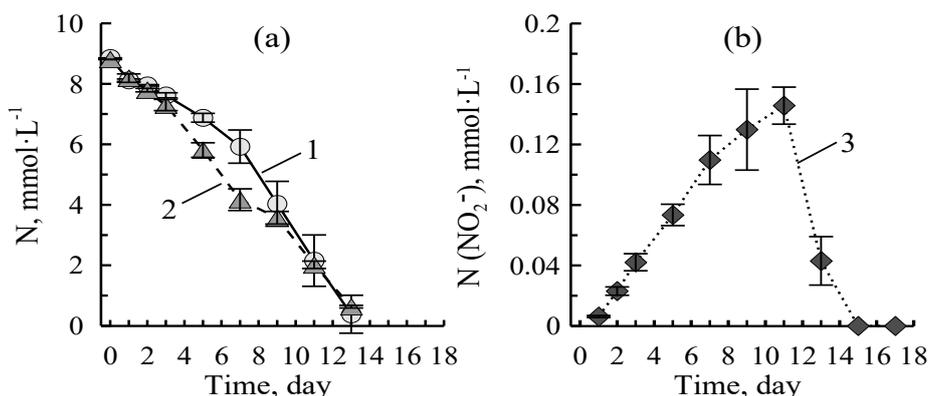


Fig. 4. Dynamics of nitrogen species content in the nutrient medium (a – absorbed N; b – released N). 1 – NaNO_3 ; 2 – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$; 3 – NaNO_2

Рис. 4. Динамика содержания различных форм азота в питательной среде (а — поглощаемый азот; б — выделяемый азот). 1 — NaNO_3 ; 2 — $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$; 3 — NaNO_2

This phenomenon stems likely from the ability of microalgae to maintain intracellular N pool even under shortage of exogenic N via increasing the active transmembrane transport of the biogenic element by (i) phosphorylation of specific transporters and increasing their affinity to (NO_3^-) (ions) and urea and (ii) up-regulating genes responsible for assimilation of N sources [26, 30].

Mobilization of intracellular N reserves also plays a role in the regulation of intracellular nitrogen pool under N starvation. This suggestion is in line with the observed kinetics of the photosynthetic pigment content of *C. zofingiensis* expressed per cell, unit culture volume, or biomass (Fig. 3b and c; Fig. 5). It reflects a decline in the pigment (mainly chlorophyll) content under nitrogen shortage and/or decomposition of the pigment-protein complexes to support the subsistence pool of key N-containing biomolecules (enzymes, macroergic compounds, nucleic acids, etc.) [19].

It is believed that for many chlorophyte species urea is the most preferred N source providing for higher growth rates as compared with cultivation in nitrate- and ammonium-containing medium since molecule of urea contains more N than inorganic N species, in addition to the bioavailable carbon [2, 8, 13, 33].

However, growing *C. zofingiensis* under conditions employed in this work did not demonstrate the advantages of urea. The urea-fed culture lagged, although slightly, behind the nitrate-fed culture considering cell division rate, DW accumulation, and photosynthetic pigment content. At the same time, it was commensurate to the NaNO_3 -fed culture in terms of total lipid productivity and even exceeded it by 36.4 % considering the DW percentage of lipids (31.65 % vs 23.21 %; $p < 0.05$; Fig. 6).

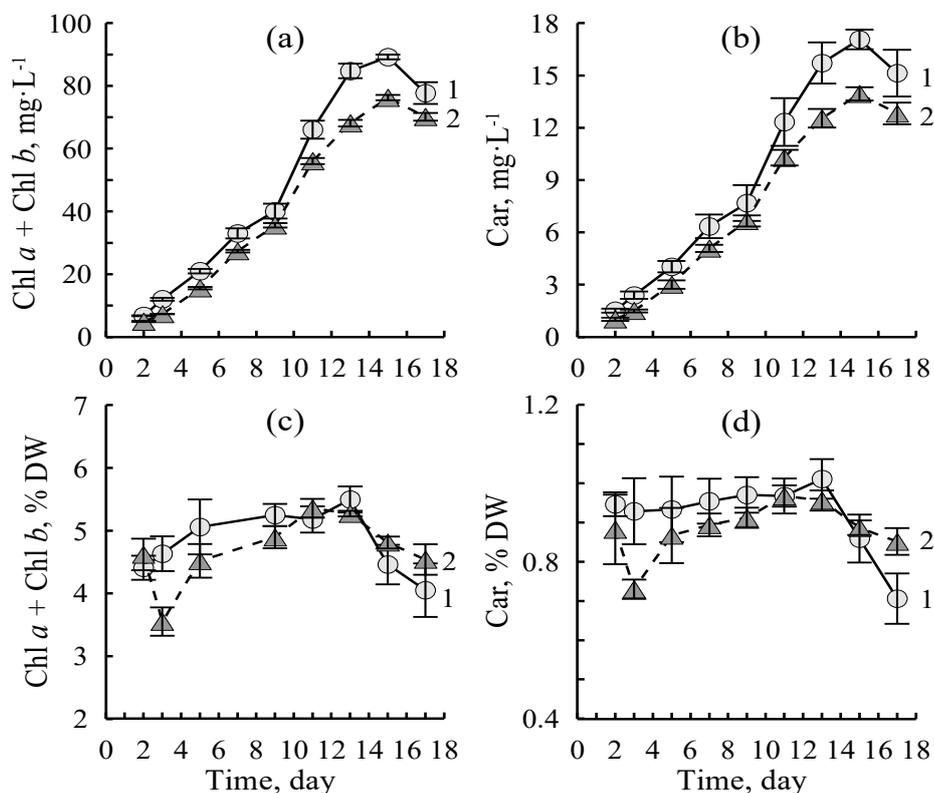


Fig. 5. The changes in chlorophylls and total carotenoids content in cultures (a, b) and dry weight (c, d) of *C. zofingiensis* depending on the nitrogen source in the nutrient medium. 1 – NaNO_3 ; 2 – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

Рис. 5. Динамика содержания хлорофиллов и суммарных каротиноидов в культурах (a, b) и сухой биомассе (c, d) *C. zofingiensis* в зависимости от источника азота в питательной среде. 1 — NaNO_3 ; 2 — $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

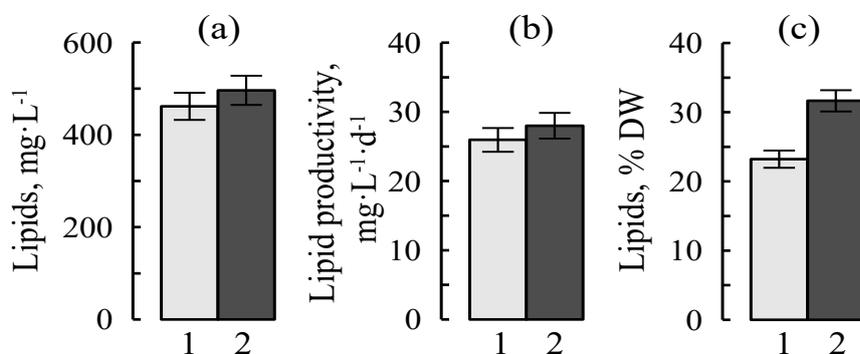


Fig. 6. The total lipid content in the cultures on the 17th day (a), the average lipid productivity of the cultures (b), and the lipid DW percentage (c) of *C. zofingiensis* depending on the nitrogen source in the nutrient medium. 1 – NaNO_3 ; 2 – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

Рис. 6. Содержание суммарных липидов в культурах на 17-е сутки (a), средняя продуктивность культур по липидам (b) и массовая доля липидов в сухом веществе (c) *C. zofingiensis* в зависимости от источника азота в питательной среде. 1 — NaNO_3 ; 2 — $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

At the same time, cost analysis suggests that a lag of the urea-fed culture as high as even 30 % considering biomass productivity is not critical since it will be compensated by savings (approximately 230 %) on the cost of reagents for the nutrient medium (Table 2).

Table 2. Comparative characteristics of some technological parameters and price of urea and sodium nitrate as nitrogen sources in nutrient media for *C. zofingiensis*

Таблица 2. Сравнительная характеристика некоторых технологических показателей и стоимости карбамида и нитрата натрия как источников азота в питательных средах для *C. zofingiensis*

N source	Russian standard (GOST)	N, mass %	Consumption, kg per m ³ of medium	Wholesale price, RUR per kg*	N costs, RUR per m ³ of medium
Urea	2081-92	46.6	0.265	26	6.89
Sodium nitrate	828-77	16.5	0.750	30	22.50

* Mineral fertilizer wholesale prices (<https://agrosserver.ru>, accessed on April 03, 2019)

As a rule, this is the decisive advantage of urea as N source for mass cultivation of microalgae for lipids [1, 8, 13]. Analysis of the reports published on this problem shows that the potential of urea as an N-rich carbon-containing nutrient that accelerates the microalgae growth is not always implemented in practice. It is manifested mainly in the cultivation of representatives of the genus *Chlorella* [2, 13, 33]. Many other species of Chlorophyta (e. g. *Chlamydomonas reinhardtii*, *Scenedesmus bijugatus*, *Haematococcus pluvialis*) also take up urea efficiently, but their biomass productivity on this substrate is slightly lower than on nitrates [1, 30, 32]. At the same time, a slightly lower biomass yield of the urea-fed cultures is normally compensated by a higher lipid content of the biomass and a better suitability of the fatty acid composition of the lipids for biodiesel [10, 28].

Notably, it is very difficult to compare the published data on N source preference for different microalgal taxa due to disparate cultivation conditions (illumination, temperature, availability of phosphorus, CO₂, and trace elements, peculiarities of inocula preparation, etc.) which modulate profoundly the effect of N sources on the microalgae growth.

Thus, in *Chlorella vulgaris*, the advantages of urea over other nitrogen sources were realized only after acclimation of the inoculate to the new chemical form of nitrogen, i. e. only on the second cycle of cultivation, according to which the growth rate on urea was 1.5 times higher than on nitrates [27]. This fact is directly related to the results obtained in this work, since the transfer of *C. zofingiensis* inoculate grown on nitrates to the nutrient medium on urea could lead to a slowdown in growth and to a noticeable grinding of the culture (Figs 1, 2), which, in turn, affected the productivity of the crop for dry matter and pigments.

Another plausible reason for the lag in the growth of urea-fed culture could be excess of urea in the nutrient medium for a given starting cell density. Imbalance of urea uptake and assimilation could lead to an unfavorable buildup of ammonium ions in the cell during enzymatic hydrolysis of urea [3] and, as mentioned above, to inhibition of ATP biosynthesis in chloroplasts [39].

Conclusion. We studied the morphological and physiological characteristics of a green microalga *Chromochloris zofingiensis* enrichment culture in the BBM 3N medium supplemented with sodium nitrate, ammonium chloride, or urea equalized by nitrogen (8.8 mmol·L⁻¹) and starting cell density of 2·10⁶ per mL. Growth rate and chemical composition of the biomass were affected significantly by chemical nature of N source. NH₄Cl inhibited cell division by the second day of cultivation, caused cell swelling, aggregation, and discoloration leading to the culture crash by the seventh day. Our results show that NH₄Cl is not a suitable N source for cultivation of *C. zofingiensis* under our experimental conditions. The cells of *C. zofingiensis* efficiently took up urea at a rate similar to the rate of NaNO₃ uptake (0.631 and 0.626 mmol N·L⁻¹·day⁻¹). Nevertheless, the CO(NH₂)₂-fed cultures were characterized by a slight growth slowdown as well as a significant decrease in the cell volume and photosynthetic pigment content

expressed per cell, unit cell volume (μm^3), and culture volume. The average DW productivity in this experimental variant $[(0.086 \pm 0.004) \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}]$ was 32.6 % lower than that of the NaNO_3 -fed culture $[(0.114 \pm 0.005) \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}]$. At the same time, both cultures exhibited a similar lipid productivity (26 and 28 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$; $p > 0.05$). Mass fraction of lipids in DW of the urea-fed culture was significantly higher than in the nitrate-fed culture (31.6 and 23.1 % DW, respectively). From economic standpoint, the lag in biomass productivity (32 %) exhibited by the urea-fed culture is of secondary importance since it is more than covered by a large (about 230 %) savings on the N source cost. To conclude, our results lay a foundation for further research on the optimization of *C. zofingiensis* cultivation using urea as the sole N source in the nutrient medium.

This work was carried out within the framework of government research assignment of IBSS "Investigation of the regulation mechanisms of biotechnological system productivity for developing if scientific foundation for production of biologically active substances and bulk products technical from marine source" (no. AAAA-A18-118021350003-6).

REFERENCES / СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Arumugam M., Agarwal A., Arya M. C., Ahmed Z. Influence of nitrogen sources on biomass productivity of microalgae *Scenedesmus bijugatus*. *Bioresource Technology*, 2013, vol. 131, pp. 246–249. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.159>
- Becker E. W. Nutrition. In: Becker E. W. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge : Cambridge University Press, 1994, chapt. 13, pp. 196–250. (Cambridge Studies in Biotechnology ; vol. 10).
- Bekheet I. A., Syrett P. J. Urea-degrading enzymes in algae. *British Phycological Journal*, 1977, vol. 12, iss. 2, pp. 137–143. <https://doi.org/10.1080/00071617700650151>
- Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, vol. 37, no. 8, pp. 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Bold H. C. The cultivation of algae. *Botanical Review*, 1942, vol. 8, iss. 2, pp. 69–138. <https://doi.org/10.1007/BF02879474>
- Chelebieva E. S., Dantsyuk N. V., Chekanov K. A., Chubchikova I. N., Drobetskaya I. V., Minyuk G. S., Lobakova E. S., Solovchenko A. E. Identification and morphological-physiological characterization of astaxanthin producer strains of *Haematococcus pluvialis* from the Black Sea region. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2018, vol. 54, no. 6, pp. 639–648. <https://doi.org/10.1134/s0003683818060078>
- Chen J., Liu L., Wei D. Enhanced production of astaxanthin by *Chromochloris zofingiensis* in a microplate-based culture system under high light irradiation. *Bioresource Technology*, 2017, vol. 245, pp. 518–529. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.102>
- Dhup S., Kannan D. C., Dhawan V. Understanding urea assimilation and its effect on lipid production and fatty acid composition of *Scenedesmus* sp. *SOJ Biochemistry*, 2016, vol. 2, no. 1, pp. 1–7. <http://dx.doi.org/10.15226/2376-4589/2/1/00112>
- El-Sayed A. B., Abdel-Maguide A. A. Growth response of *Chlorella vulgaris* to acetate carbon and nitrogen forms. *Nature and Science*, 2011, vol. 9, no. 9, pp. 53–58.
- Eustance E., Gardner R. D., Moll K. M., Menicucci J., Gerlach R., Peyton B. M. Growth, nitrogen utilization and biodiesel potential for two chlorophytes grown on ammonium, nitrate or urea. *Journal of Applied Phycology*, 2013, vol. 25, no. 6, pp. 1663–1677. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0008-5>
- Feng P., Deng Z., Fan L., Hu Z. Lipid accumulation and growth characteristics of *Chlorella zofingiensis* under different nitrate and phosphate concentrations. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, vol. 114, no. 4, pp. 405–410. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.05.007>
- Fučíková K., Lewis L. A. Intersection of *Chlorella*, *Muriella* and *Bracteacoccus*: Resurrecting the genus *Chromochloris* Kol et Chodat (Chlorophyceae, Chlorophyta). *Fottea*, 2012, vol. 12, iss. 1, pp. 83–93. <https://doi.org/10.5507/fot.2012.007>
- Hsieh C.-H., Wu W.-T. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. *Bioresource Technology*,

- 2009, vol. 100, iss. 17, pp. 3921–3926. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.019>
14. Huo S., Wang Z., Zhu S., Shu Q., Zhu L., Qin L., Zhou W., Feng P., Zhu F., Yuan Z., Dong R. Biomass accumulation of *Chlorella zofingiensis* G1 cultures grown outdoors in photobioreactors. *Frontiers in Energy Research*, 2018, vol. 6, art. 49 (8 p.). <https://doi.org/10.3389/fenrg.2018.00049>
15. Ip P. F., Chen F. Production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in the dark. *Process Biochemistry*, 2005, vol. 40, pp. 733–738. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.039>
16. Kim D.-Y., Vijayan D., Praveenkumar R., Han J.-I., Lee K., Park J.-Y., Chang W.-S., Lee J.-S., Oh Y.-K. Cell-wall disruption and lipid/astaxanthin extraction from microalgae: *Chlorella* and *Haematococcus*. *Bioresource Technology*, 2016, vol. 199, pp. 300–310. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.107>
17. *Laboratornye metody issledovaniya v klinike. Spravochnik / Men'shikov V. V.* (Ed.). Moscow : Meditsina, 1987, 368 p. (in Russ.)
18. Lemoine Y., Schoefs B. Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: A multifunctional response to stress. *Photosynthesis Research*, 2010, vol. 106, iss. 1–2, pp. 155–177. <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9583-3>
19. Li Y., Horsman M., Wang B., Wu N., Lan C. Q. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, vol. 81, pp. 629–636. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1681-1>
20. Li Y., Huang J., Sandmann G., Chen F. High-light and sodium chloride stress differentially regulate the biosynthesis of astaxanthin in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 2009, vol. 5, pp. 635–641. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00689.x>
21. Li T., Zheng Y., Yu L., Chen S. High productivity cultivation of a heat-resistant microalga *Chlorella sorokiniana* for biofuel production. *Bioresource Technology*, 2013, vol. 131, pp. 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.121>
22. Liu J., Mao X., Zhou W., Guarnieri M. T. Simultaneous production of triacylglycerol and high-value carotenoids by the astaxanthin-producing oleaginous green microalga *Chlorella zofingiensis*. *Bioresource Technology*, 2016, vol. 214, pp. 319–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.112>
23. Liu J., Sun Z., Gerken H., Liu Z., Jiang Y., Chen F. *Chlorella zofingiensis* as an alternative microalgal producer of astaxanthin: Biology and industrial potential. *Marine Drugs*, 2014, vol. 12, pp. 3487–3515. <https://doi.org/10.3390/md12063487>
24. Markou G., Monlau F. Nutrient recycling for sustainable production of algal biofuels. In: *Biomass, Biofuels and Biochemicals: Biofuels from Algae*. 2nd ed. / Pandey A., Chang J.-S., Soccol C. R., Lee D.-J., Chisti Y. (Eds). Elsevier, 2019, chapt. 6, pp. 109–133. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64192-2.00006-8>
25. Minyuk G. S., Chelebieva E. S., Chubchikova I. N., Dantsyuk N. V., Drobetskaya I. V., Sakhon E. G., Chivkunova O. B., Chekanov K. A., Lobakova E. S., Sidorov R. A., Solovchenko A. E. pH and CO₂ effects on *Coelastrrella (Scotiellopsis) rubescens* growth and metabolism. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2016, vol. 63, no. 4, pp. 566–574. <https://doi.org/10.1134/S1021443716040105>
26. Park J.-J., Wang H., Gargouri M., Deshpande R. R., Skepper J. N., Holguin F. O., Juergens M., Shachar-Hill Y., Hicks L. M., Gang D. R. The response of *Chlamydomonas reinhardtii* to nitrogen deprivation: A systems biology analysis. *The Plant Journal*, 2015, vol. 81, iss. 4, pp. 611–624. <https://doi.org/10.1111/tpj.12747>
27. Podevin M., De Francisci D., Holdt S. L., Angelidaki I. Effect of nitrogen source and acclimatization on specific growth rates of microalgae determined by a high-throughput *in vivo* microplate autofluorescence method. *Journal of Applied Phycology*, 2015, vol. 27, iss. 4, pp. 1415–1423. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0468-2>
28. Ramanna L., Guldhe A., Rawat I., Bux F. The optimization of biomass and lipid yields of *Chlorella sorokiniana* when using wastewater supplemented with different nitrogen sources. *Bioresource Technology*, 2014, vol. 168, pp. 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.064>
29. Richardson J. W., Johnson M. D., Outlaw J. L. Economic comparison of open pond raceways to photo bio-reactors for profitable production of algae for transportation fuels in the Southwest. *Algal Research*, 2012, vol. 1, pp. 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.04.001>
30. Sanz-Luque E., Chamizo-Ampudia A., Lamas A., Galvan A., Fernandez E. Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. *Frontiers in Plant Science*, 2015, vol. 6, pp. 899–916. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00899>

31. Sapozhnikov V. V. Metody gidrokhimicheskikh issledovaniy osnovnykh biogenykh elementov. Moscow : VNIRO, 1988, 119 p. (in Russ.)
32. Shah M. M. R., Liang Y., Cheng J. J., Daroch M. Astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus pluvialis*: from single cell to high value commercial products. *Frontiers in Plant Science*, 2016, vol. 7, art. 531 (28 p.) <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00531>
33. Shi X.-M., Zhang X.-W., Chen F. Heterotrophic production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* on various nitrogen sources. *Enzyme and Microbial Technology*, 2000, vol. 27, iss. 3–5, pp. 312–318. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00208-8](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00208-8)
34. Smith R. V., Foy R. H. Improved hydrogen ion buffering of media for the culture of freshwater algae. *British Phycological Journal*, 1974, vol. 9, no. 3, pp. 239–245. <https://doi.org/10.1080/00071617400650271>
35. Sun N., Wang Y., Li Y. T., Huang J. C., Chen F. Sugar-based growth, astaxanthin accumulation and carotenogenic transcription of heterotrophic *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta). *Process Biochemistry*, 2008, vol. 43, no. 11, pp. 1288–1292. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.07.014>
36. Terent'yeva N. V., Drobetskaya I. V., Chubchikova I. N., Minyuk G. S. Effect of light illumination on physiological and biochemical characteristics of green microalga *Haematococcus pluvialis* Flotow (Chlamydomonadales). *Ekologiya morya*, 2008, iss. 75, pp. 82–88. (in Russ.)
37. Vonshak A. Laboratory techniques for cultivation of microalga. In: *Handbook of Microalgal Mass Culture* / A. Richmond (Ed.). Boca Raton ; London ; New York : CRC Press ; Taylor & Francis Group, 1986, pp. 117–145.
38. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophyll *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 1994, vol. 144, pp. 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
39. Wijanarko A. Effect of the presence of substituted urea and also ammonia as nitrogen source in cultivated medium on *Chlorella's* lipid content. In: *Progress in Biomass and Bioenergy Production* / S. Shaukat (Ed.). IntechOpen, 2011, pp. 273–282. <https://doi.org/10.5772/19358>
40. Wood A. M., Everroad R. C., Wingard L. M. Measuring growth rates in microalgal cultures. In: *Algal Culturing Techniques* / R. A. Anderson (Ed.). Burlington : Elsevier Academic Press, 2005, pp. 269–288.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ АЗОТА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА РОСТ ЗЕЛЁНОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *CHROMOCHLORIS ZOFINGIENSIS* В НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ

Г. С. Минюк¹, Н. В. Данцюк¹, Э. С. Челебиева¹, И. Н. Чубчикова¹,
И. В. Дробецкая¹, А. Е. Соловченко²

¹Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», Севастополь, Российская Федерация

²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: gsminyuk@mail.ru

Исследовали влияние трёх источников азота в питательной среде — нитрата натрия (NaNO₃), мочевины (CO(NH₂)₂) и хлорида аммония (NH₄Cl) — на морфофизиологические характеристики зелёной микроводоросли *Chromochloris (Chlorella) zofingiensis* как потенциального промышленного источника липидов и кетокаротиноида астаксантина. Водоросль выращивали методом накопительной культуры в стеклянных конических колбах при начальной численности клеток (*n*) во всех вариантах около 2,3·10⁶ кл·мл⁻¹, содержания сухого вещества (СВ) 0,06 г·л⁻¹, интенсивности ФАР 120 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹, температуре +20...+21 °С и скорости продувки культур воздухом 0,3 л·мин⁻¹·л⁻¹. Концентрация всех источников азота в модифицированной питательной среде ВВМ в пересчёте на атомарный азот (N) составляла 8,83 ммоль·л⁻¹, продолжительность культивирования — 17 суток. Регистрировали динамику *n* и объёмов клеток, содержания в культурах СВ, хлорофиллов (Хла и Хлб), суммарных каротиноидов и липидов, концентрации N в среде и её pH.

Показано, что скорость роста, размерная структура клеточных популяций и химический состав биомассы существенно зависели от химической формы азота в питательной среде. NH_4Cl уже на 2-е сутки вызвал ингибирование деления, разбухание, агрегацию и обесцвечивание клеток, а на 7-е сутки — гибель культуры. Клетки *C. zofingiensis* поглощали NaNO_3 и $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ из среды со сходной скоростью ($0,626$ и $0,631$ ммоль $\text{N}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{сут}^{-1}$ соответственно), однако культура, выращиваемая на $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, отставала в росте и отличалась существенным уменьшением объёмов клеток и снижением в них содержания пигментов. Средняя продуктивность по сухому веществу ($P_{\text{СВ}}$) при росте на $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ [$(0,086 \pm 0,004)$ г·л⁻¹·сут⁻¹] была на 32,6 % ниже, чем при росте на NaNO_3 [$(0,114 \pm 0,005)$ г·л⁻¹·сут⁻¹]. В то же время по продуктивности по липидам ($P_{\text{лип}}$) культуры не различались (28 и 26 мг·л⁻¹·сут⁻¹ соответственно), а массовая доля липидов в СВ была достоверно выше в варианте $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ — 31,6 % против 23,1 % в варианте NaNO_3 . В экономическом аспекте отставание карбамидной культуры по $P_{\text{СВ}}$ не является критичным, так как компенсируется снижением затрат на реагенты для питательной среды (примерно на 230 %) и более высоким содержанием липидов в биомассе. Это обстоятельство служит основанием для продолжения исследований *C. zofingiensis* как потенциального источника липидов с использованием мочевины в качестве единственной формы азота в питательной среде.

Ключевые слова: *Chromochloris zofingiensis*, периодическая культура, азотное питание, рост, пигменты, липиды

УДК 581.132.1:551.46.08(262.5)

**СРАВНЕНИЕ ЗНАЧЕНИЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *A*,
ВОССТАНОВЛЕННЫХ ПО ДАННЫМ СПЕКТРОРАДИОМЕТРА MODIS-AQUA,
С РЕЗУЛЬТАТАМИ ИЗМЕРЕНИЙ В ПРИБРЕЖНЫХ ВОДАХ ЧЁРНОГО МОРЯ
В РАЙОНЕ СЕВАСТОПОЛЯ**

© 2019 г. **Е. Ю. Скороход, Т. В. Ефимова, Н. А. Моисеева,
Е. А. Землянская, Т. Я. Чурилова**

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: e.skorokhod.sev@gmail.com

Поступила в редакцию 01.07.2019; после доработки 07.10.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Представлены результаты сравнения значений, которые были получены с помощью стандартного спутникового продукта «Концентрация хлорофилла *a*», восстановленных по данным со спектрорадиометра MODIS-Aqua, с данными натурных измерений в прибрежных водах Чёрного моря в районе г. Севастополя с 2009 по 2019 г. в рамках регулярного биооптического мониторинга. Установлены различия между сезонами в характере ошибки стандартного спутникового продукта «Концентрация хлорофилла *a*» при использовании стандартного алгоритма NASA: в весенний период отмечено существенное занижение значений стандартного спутникового продукта «Концентрация хлорофилла *a*» (до 2,1 раза) при высоких концентрациях хлорофилла *a* по результатам натурных измерений, а летом — существенное завышение (до 3,8 раза) при малых концентрациях. На протяжении всего года в зависимости от сезона ошибка в определении стандартного спутникового продукта «Концентрация хлорофилла *a*» в среднем изменялась от $\pm 24\%$ до $\pm 51\%$. Для повышения точности определения концентрации хлорофилла *a* при дистанционном зондировании необходимо применение регионального подхода.

Ключевые слова: хлорофилл *a*, дистанционное зондирование, стандартный спутниковый продукт, MODIS-Aqua, прибрежные воды, Чёрное море

Концентрация хлорофилла *a* (далее — C_a) в поверхностном слое моря является одним из ключевых параметров оценки продуктивности вод [6, 9, 13, 22]. Его можно оперативно определять при помощи дистанционного зондирования, в частности на основе данных спектрорадиометра, расположенного на борту спутника Aqua (Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer aboard the Aqua Satellite, MODIS-Aqua). В основу алгоритмов расчёта стандартных спутниковых продуктов [16] заложены биооптические показатели океанических вод 1-го типа [18], однако закономерности формирования спектра излучения, восходящего из водной толщи Мирового океана, различны. Прибрежные воды разных акваторий требуют особого внимания в связи с высоким содержанием и большой вариабельностью концентраций взвешенного и растворённого органического вещества [8]. Кроме того, для прибрежных вод Чёрного моря отмечено превалирование растворённого органического вещества (colored dissolved organic matter, далее — CDOM) и неживой взвеси (non-algal particles, далее — NAP) в поглощении света в море [1, 3, 11].

Различия между закономерностями, характерными для конкретной акватории, и закономерностями, заложенными в стандартные алгоритмы, — одна из причин наблюдаемого некорректного отображения годовой динамики C_a в Чёрном море при использовании спутниковых данных [12]. Отмечено, что в глубоководной части моря различия между данными спутникового продукта и результатами измерений *in situ* не являются однотипными в сезонном аспекте: зафиксированы завышение величин C_a в летнее время и занижение — в период зимне-весеннего цветения фитопланктона [6].

Между тем в прибрежных водах ранее не проводили систематических работ по сравнению натуральных и смоделированных значений C_a в пределах одной станции на протяжении длительного периода времени. При этом актуальность оперативного контроля состояния прибрежных вод с помощью данных дистанционного зондирования в настоящее время возрастает, что связано с увеличением антропогенной нагрузки на береговую линию, в частности в районе г. Севастополя.

Благодаря регулярному биооптическому мониторингу, проводимому с февраля 2009 г. в прибрежных водах Севастополя, сформирован хороший массив данных для сопоставления со значениями, полученными со спутникового продукта, и выяснения причин несоответствия спутниковых оценок результатам натуральных измерений в разные сезоны.

Цель настоящей работы — сравнить данные спутникового продукта «Концентрация хлорофилла a » с результатами измерений *in situ* в прибрежных водах Чёрного моря в районе г. Севастополя в отдельные сезоны.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для реализации поставленной цели необходимо сформировать две выборки (с данными дистанционного зондирования и с результатами натуральных наблюдений), а затем — единый массив данных.

Данные *in situ*. Пробы отбирали в поверхностном слое Чёрного моря вблизи бух. Севастопольская на станции с координатами $44^{\circ}37'26''$ с. ш., $33^{\circ}26'05''$ в. д. один раз в две недели с февраля 2009 г. по март 2019 г.

Измерения концентрации хлорофилла a *in situ* (далее — C_{a-i}) проводили спектрофотометрическим методом [15, 17] сразу после отбора проб. Их собирали на стекловолоконных фильтрах GF/F, используя фильтрацию со слабым вакуумом ($< 0,2$ атм). Затем пробы помещали в раствор ацетона (90 %), гомогенизировали и оставляли на 8 ч в холодильной камере, после чего центрифугировали (5 мин. на скорости 3000 об·мин.⁻¹). Осветлённый экстракт пигментов наливали в кювету. Далее производили спектральные измерения оптической плотности до и после подкисления экстракта несколькими каплями раствора соляной кислоты (концентрация кислоты в экстракте — $3\text{--}5$ ммоль·дм⁻³) в ацетоне. В 2009–2015 гг. измерения проводили на двулучевом спектрофотометре Specord M40 (Carl Zeiss Jena), а с 2015 г. — на двулучевом спектрофотометре Lambda 35 (Perkin Elmer).

Спутниковые данные. При анализе использовали спутниковые данные 10.5067/AQUA/MODIS/L2/OC/2018 [19], которые были получены со спектрорадиометра, расположенного на борту спутника Aqua, в которых XX.XXXX — идентификатор цифрового объекта, а YYYY — год последнего обновления данных. Пространственное разрешение данных составляет 1 км в надир. L2 обозначает данные второго уровня, которые включают время измерения, географическую привязку и ряд стандартных продуктов, в том числе концентрацию хлорофилла a (C_{a-ma} , мг·м⁻³), рассчитанную на основе объединения двух алгоритмов — OCx (chl_oc4) [20] и Hu Color Index (CI) (chl_hu) [14, 21].

При формировании единого массива данных, сопоставляющего C_{a-i} и C_{a-ma} , руководствовались условием: спутниковые и *in situ* измерения должны быть выполнены в один календарный день для минимизации влияния временной изменчивости. Спутниковые данные выбирали вокруг станции измерений *in situ* в пределах области $\pm 0^{\circ}0'32''$ с. ш., $\pm 0^{\circ}0'54''$ в. д. Выбор такой области обусловлен вариативностью расположения пикселя относительно координат и разницей во времени спутниковых

и *in situ* измерений. При выборе спутниковых данных руководствовались географической приближенностью к точке измерений *in situ*. При отсутствии спутниковых данных в выбранной области значения C_{a-ma} получали путём аппроксимации значений соседних пикселей.

Данные, помеченные критичным флагом «Солнечный блик: отражательная способность превышает порог» (Sunglint: reflectance exceeds threshold, HIGLINT), были исключены из-за их ненадёжности. Данные с флагом «Возможен шум за счёт рассеянного света» (Probable stray light contamination, STRAYLIGHT) оставили для увеличения выборки данных для сравнения.

Абсолютную погрешность оценивали по разнице между измеренным и истинным значениями величины, где за истинное значение величины C_a принимали значение измерения C_{a-i} :

$$\Delta = \Delta C_a = C_{a-ma} - C_{a-i} . \quad (1)$$

Относительную погрешность находили из равенства:

$$\delta = \frac{\Delta C_a}{C_{a-i}} \times 100\% . \quad (2)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сформирован массив данных C_a , включающий результаты дистанционного зондирования (C_{a-ma}) и измерений *in situ* (C_{a-i}). В нём наименьшее относительное количество дней с квазисинхронными измерениями C_{a-ma} и C_{a-i} приходится на зиму — 21 % (табл. 1). При этом в зимний период данные C_{a-ma} помечены наибольшим разнообразием флагов. Рассчитанные величины относительной погрешности (от -29 % до +61 % при средней относительной погрешности ± 24 %) свидетельствуют о более близком совпадении значений C_{a-i} и C_{a-ma} в зимние месяцы, чем в другие сезоны (рис. 1).

Таблица 1. Отклонение значений концентрации хлорофилла *a*, которые получены со спектрорадиометра, расположенного на борту спутника Aqua (C_{a-ma}), от значений концентрации хлорофилла *a in situ* (C_{a-i})

Table 1. The deviation of the chlorophyll *a* concentration values obtained from the spectroradiometer aboard the Aqua satellite (C_{a-ma}) from the *in situ* chlorophyll *a* concentration values (C_{a-i})

Показатель	Время года				Год
	зима	весна	лето	осень	
Количество дней с данными C_{a-i}	24	34	20	18	96
Количество дней с данными C_{a-ma}	5	17	12	4	38
Относительное количество дней с квазисинхронными измерениями C_{a-ma} и C_{a-i} , %	21	50	60	22	40
Максимальная абсолютная погрешность C_{a-ma} , Δ_{max} , мг·м ⁻³	0,71	-1,5	-0,45	-0,65	-1,5
Средняя абсолютная погрешность C_{a-ma} , Δ_{cp} , мг·м ⁻³	$\pm 0,24$	$\pm 0,39$	$\pm 0,22$	$\pm 0,31$	$\pm 0,31$
Максимальная относительная погрешность C_{a-ma} , δ_{max} , %	61	-73	111	-58	111
Средняя относительная погрешность C_{a-ma} , δ_{cp} , %	± 24	± 34	± 51	± 33	± 38

Весной значения C_{a-ma} существенно занижены относительно C_{a-i} (рис. 1). Для этого периода отмечена самая большая абсолютная погрешность (табл. 1). В 88 % случаев при измерениях весной была возможна облачность, что сказывалось на точности спутниковых измерений.

Лето — наиболее обеспеченный данными сезон; относительное количество дней с квазисинхронными измерениями — 60 %. Для спутниковых данных в этот период года характерны наименьшие абсолютные погрешности при невысоких значениях C_{a-i} (0,3–0,8 мг·м⁻³). При этом средняя относительная погрешность измерений C_{a-ma} составляет ± 51 %, что на 27 % превышает среднюю относительную погрешность C_{a-ma} в зимний период (± 24 %).

Осень, как и зима, представлена меньшим количеством пар данных, чем весна и лето. Относительное количество дней с квазисинхронными измерениями C_{a-ma} и C_{a-i} в этот период — 22 %. При этом средняя относительная погрешность составляет ± 33 %.

Анализ по сезонам показал, что в среднем спутниковые оценки C_a имеют относительную погрешность в диапазоне от ± 24 до ± 51 %. Сравнение точности дистанционных оценок по сезонам позволило выявить тренд в увеличении ошибки от её наименьшей величины (± 24 %), отмеченной зимой, к средним значениям (± 33 и ± 34 %), полученным для осени и весны соответственно, и к наибольшей величине ошибки (± 51 %), зафиксированной в летний период (табл. 1).

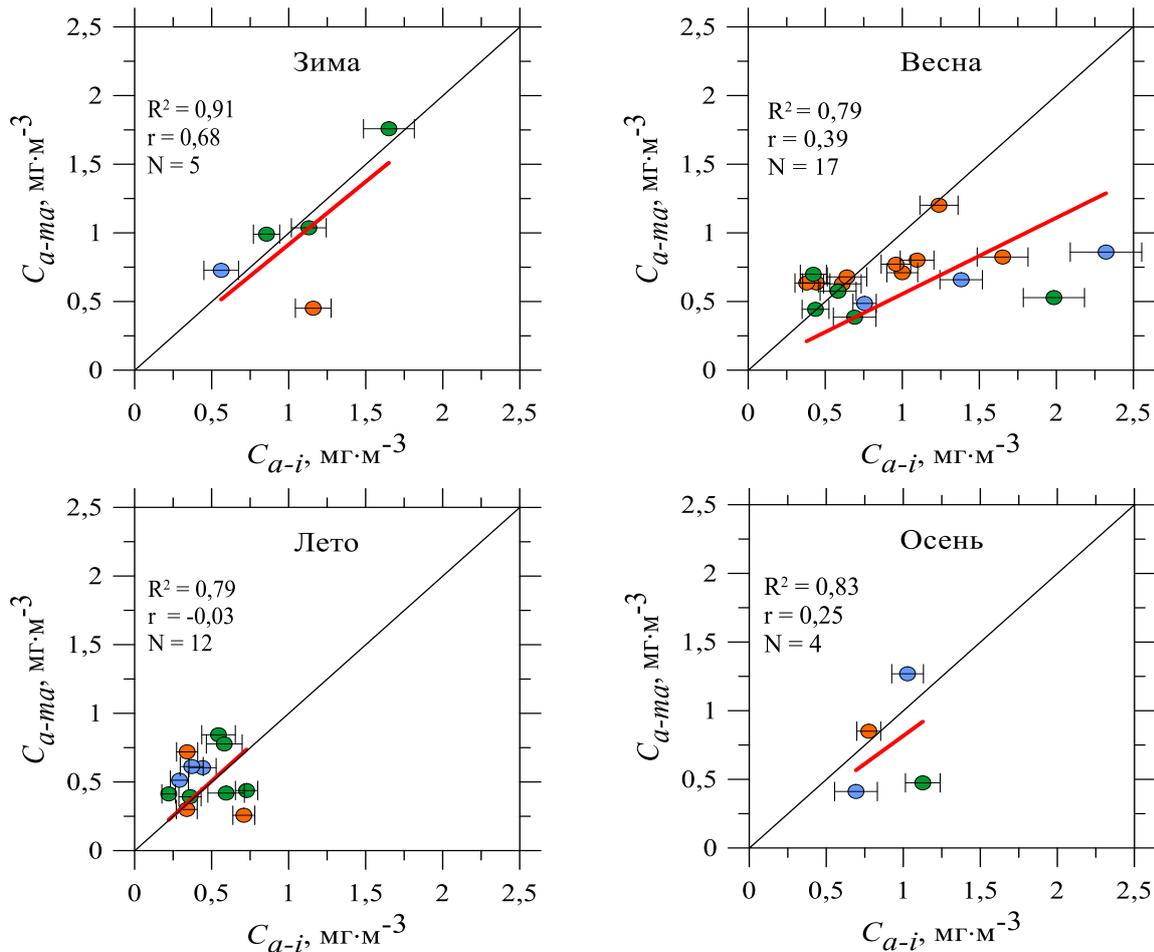


Рис. 1. Сравнение значений концентрации хлорофилла a , восстановленных по данным со спектрорадиометра MODIS-Aqua (C_{a-ma}), со значениями концентрации хлорофилла a *in situ* (C_{a-i}) в отдельные сезоны. Первый месяц сезона — синий символ, второй месяц — оранжевый, третий месяц — зелёный. Красная линия — линейная регрессия; чёрная линия (диагональ) соответствует равнозначности сравниваемых значений

Fig. 1. Comparison of the chlorophyll a concentration values retrieved from spectroradiometer MODIS-Aqua data (C_{a-ma}) with *in situ* chlorophyll a concentration values (C_{a-i}) at particular seasons. The first month of the season – blue symbol; the second month – orange; the third month – green. Red line – linear regression; black line (diagonal) corresponds to equivalence of compared values

Несмотря на близкие значения средних относительных погрешностей, различия между результатами измерений C_{a-ma} и C_{a-i} не являются однотипными на протяжении года. Весной значения C_{a-ma} ($0,39$ – $1,2$ $\text{мг}\cdot\text{м}^{-3}$) существенно занижены относительно результатов природных наблюдений C_{a-i} ($0,38$ – $2,3$ $\text{мг}\cdot\text{м}^{-3}$). При этом наибольшие отклонения отмечены при высоких C_{a-i} (> 1 $\text{мг}\cdot\text{м}^{-3}$). Точность определения C_{a-ma} менялась от -73 до $+67$ % и в среднем составила ± 34 %.

В летний период величины C_{a-i} изменялись, по результатам мониторинга *in situ*, в диапазоне $0,22-0,73 \text{ мг}\cdot\text{м}^{-3}$. По данным дистанционного зондирования получено изменение C_{a-ma} в диапазоне $0,26-0,84 \text{ мг}\cdot\text{м}^{-3}$. Несмотря на сопоставимость диапазонов варибельности C_{a-ma} и C_{a-i} , сравнение пар данных показало существенное завышение значений C_{a-ma} при малых величинах C_{a-i} ($0,2-0,3 \text{ мг}\cdot\text{м}^{-3}$). В этот сезон точность спутниковых оценок C_a изменялась от -64% до $+111 \%$ и в среднем составила $\pm 51 \%$. Следует отметить хорошее обеспечение парами данных в целом за год. Количество дней с квазисинхронными измерениями C_{a-ma} и C_{a-i} составило 40% .

Самым распространённым флагом является «Возможно наличие облачности или льда» (Probable cloud or ice contamination, CLDICE).

Связь между *in situ* и спутниковыми значениями C_a слабая, а в летний сезон она практически отсутствует (рис. 1). Наибольшая корреляционная связь между C_{a-ma} и C_{a-i} наблюдается в зимний период ($r = 0,68$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Прибрежные воды Мирового океана характеризуются большим разнообразием оптических показателей [8], при этом оптически активные компоненты (хлорофилл (Chl), NAP и CDOM) не являются ковариантными. Их пропорции меняются более чем на порядок в зависимости от особенностей водной среды, влияя на биооптические показатели вод [8]. В связи с тем, что большинство моделей базируется на C_a , точность определения C_a будет сказываться и на точности других моделей [10]. Это обосновывает необходимость проверки точности оценки других стандартных спутниковых продуктов и выявления их взаимосвязей с концентрацией хлорофилла a .

Сравнение натуральных и спутниковых значений C_a в других акваториях [2, 7] свидетельствует о неточности определения C_a при помощи стандартного алгоритма NASA. Для Японского моря показано [7], что спутниковые оценки завышают C_a во время зимне-весеннего цветения фитопланктона. Завышение значений C_a характерно и для Карского моря [2]. Сравнение результатов измерений C_{a-ma} и C_{a-i} в прибрежных водах г. Севастополя в течение года позволило не только выявить большие расхождения, но и установить сезонные отличия по знаку ошибки: летом отмечено завышение значений C_a до 2,1 раза, а весной — занижение C_a до 3,8 раза (рис. 1).

Завышение значений C_a в Карском море авторы объясняют тем, что стандартный алгоритм относит поглощение света CDOM на счёт пигментов фитопланктона [2]. Занижение значений C_a во время весеннего цветения фитопланктона в прибрежных водах г. Севастополя свидетельствует о более серьёзной проблеме, связанной с работой стандартного спутникового алгоритма. Для его корректировки следует не только определить закономерности варибельности поглощения света фитопланктоном, NAP и CDOM, но и точно обозначить акватории (так называемые провинции), для которых эти закономерности типичны [8].

В осенне-зимний период данные отличаются наибольшим разнообразием флагов. Чаще всего на протяжении года встречается CLDICE, но, так как воды Чёрного моря не подвержены замерзанию [4], этот флаг можно рассматривать исключительно как индикатор наличия облачности. Уменьшение количества спутниковых данных при квазисинхронных измерениях осенью и зимой, а также максимальное разнообразие встречающихся флагов в этот период связаны с влиянием погодных условий. Отмеченные объективные причины лимитируют количество данных осенью и зимой (число квазисинхронных измерений составляет одну-две пары в месяц), что осложняет определение характера соотношений между спутниковыми и реальными величинами C_a .

Установленные в настоящей работе различия между сезонами в характере (в знаке) ошибки стандартного спутникового продукта «Концентрация хлорофилла a » свидетельствуют о том, что применяемый стандартный алгоритм (NASA) не воспроизводит сезонную изменчивость соотношения между фитопланктоном и другими оптическими компонентами среды (CDOM, NAP) [1, 11] достаточно точно для разных районов Мирового океана [5, 23]. Для всего массива данных (без разделения

на сезоны) значения стандартного продукта хорошо коррелируют с результатами природных наблюдений ($R^2 = 0,78$) (рис. 2). Фактически завышение и занижение в отдельные сезоны привело к разбросу данных, но при этом завышение частично «скомпенсировало» занижение. Из-за изменения в течение года в знаке ошибки сравнение без разделения на сезоны может некорректно отражать ситуацию в исследуемой акватории.

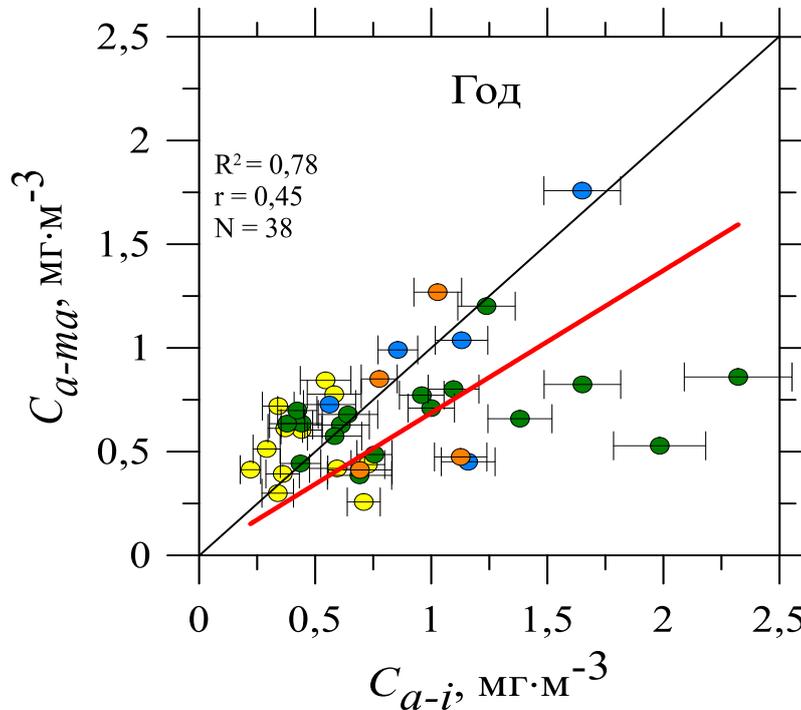


Рис. 2. Сравнение значений концентрации хлорофилла *a*, восстановленных по данным спектро радиометра MODIS-Aqua (C_{a-ma}), со значениями концентрации хлорофилла *a in situ* (C_{a-i}) на протяжении года. Зима — синий символ; весна — зелёный; лето — жёлтый; осень — оранжевый. Красная линия — линейная регрессия; чёрная линия (диагональ) соответствует равнозначности сравниваемых значений

Fig. 2. Comparison of the chlorophyll *a* concentration values retrieved from spectroradiometer MODIS-Aqua (C_{a-ma}) with *in situ* chlorophyll *a* concentration values (C_{a-i}) throughout the year. Winter – blue symbol; spring – green; summer – yellow; autumn – orange. Red line – linear regression; black line (diagonal) corresponds to equivalence of compared values

Разный характер неточности спутниковых оценок C_a , отмеченный в период одинакового явления (цветения фитопланктона), но в разных акваториях (завышение C_a фитопланктона в Японском море [7] и занижение в Чёрном море) (рис. 1), подчёркивает необходимость регионального подхода в решении этой проблемы. Использование регионального трёхканального алгоритма для расчёта стандартных продуктов [5] позволит повысить точность определения содержания хлорофилла *a* на основе учёта характера связи между хлорофиллом (Chl) и пигментами фитопланктона (aph), а также её изменчивости под влиянием факторов среды [6] в прибрежных водах. Учёт различий в способности фитопланктона поглощать солнечную энергию в отдельные сезоны в поверхностных водах, отличающихся по содержанию и соотношению основных оптически активных компонентов среды, позволит прийти к получению достоверной оценки C_a при дистанционном зондировании Чёрного моря на масштабе всего бассейна.

Выводы:

1. Восстановленные по данным со спектро радиометра MODIS-Aqua при помощи стандартного алгоритма NASA значения концентрации хлорофилла *a* некорректно отображают годовую динамику этого параметра, сглаживая сезонный ход.

2. Погрешности значений стандартного продукта, определённые в результате расчётов по стандартному двухканальному алгоритму, в зависимости от сезона в среднем составляют от $\pm 24\%$ до $\pm 51\%$. Использование регионального трёхканального алгоритма, учитывающего соотношения между концентрацией хлорофилла *a* и поглощением света пигментами фитопланктона, а также соотношения между основными оптически активными компонентами среды, позволит уточнить оценку концентрации хлорофилла *a* в прибрежных водах по спутниковым данным.
3. Результаты исследования свидетельствуют о целесообразности проведения аналогичного сравнения для других стандартных спутниковых продуктов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Изучение пространственно-временной организации водных и сухопутных экосистем с целью развития системы оперативного мониторинга на основе данных дистанционного зондирования и ГИС-технологий» (№ гос. регистрации АААА-А19-119061190081-9), а также при поддержке РФФИ (грант № 18-45-920070).

Благодарность. Авторы благодарят к. ф.-м. н., с. н. с., руководителя отдела динамики океанических процессов В. В. Суслина (ФИЦ МГИ, г. Севастополь) за помощь в работе со спутниковыми данными и м. н. с. Е. Г. Сахонь (ФИЦ ИнБЮМ, г. Севастополь) — за помощь в отборе проб при регулярном биооптическом мониторинге в бух. Севастопольская. Также авторы выражают благодарность Goddard Space Flight Center (GSFC) и Ocean Biology Processing Group (OBPG) (NASA) за предоставленные данные и их предварительную обработку и двум анонимным рецензентам — за замечания и советы, позволившие значительно улучшить статью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ефимова Т. В., Чурилова Т. Я., Моисеева Н. А., Землянская Е. А. Вариабельность биооптических показателей прибрежных вод Черного моря в районе Севастополя // *Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса (Физические основы, методы и технологии мониторинга окружающей среды, потенциально опасных явлений и объектов)* : материалы 16-й Всерос. открытой конф., Москва, 12–16 ноября 2018 г. Москва : ИКИ РАН, 2018. С. 264. [Efimova T. V., Churilova T. Ya., Moiseeva N. A., Zemlianskaia E. A. Variabel'nost' bioopticheskikh pokazatelei pribrezhnykh vod Chernogo morya v raione Sevastopolya. *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa (Fizicheskie osnovy, metody i tekhnologii monitoringa okruzhayushchei sredy, potentsial'no opasnykh yavlenii i ob'ektov)* : materialy 16-i Vseros. otkrytoi konf., Moscow, Nov. 12–16, 2018. Moscow : IKI RAS, 2018, pp. 264. (in Russ.)]
2. Кузнецова О. А., Копелевич О. В., Шеберстов С. В., Буренков В. И., Мошаров С. А., Демидов А. Б. Оценка концентрации хлорофилла в Карском море по данным спутникового сканера MODIS-Aqua // *Исследование Земли из космоса*. 2013. № 5. С. 21–31. [Kuznetsova O. A., Kopelevich O. V., Sheberstov S. V., Burenkov V. I., Demidov A. B., Mocharov S. A. Estimation of chlorophyll concentration in the Kara Sea from data of MODIS-Aqua satellite scanner. *Issledovanie Zemli iz kosmosa*, 2013, vol. 5, pp. 21–31. (in Russ.)]. <http://dx.doi.org/10.7868/S0205961413050023>
3. Моисеева Н. А., Чурилова Т. Я., Ефимова Т. В., Кривенко О. В., Латушкин А. А. Поглощение света пигментами фитопланктона, взвешенным веществом и окрашенным растворенным органическим веществом в прибрежных водах Крыма (Черное море) в июне 2016 // *Оптика атмосферы и океана. Физика атмосферы* : материалы XXIII Междунар. симп., Иркутск, 03–07 июля 2017 г. Томск : Изд-во ИОА СО РАН, 2017. С. 137–140. [Moiseeva N. A., Churilova T. Ya., Efimova T. V., Krivenko O. V., Latushkin A. A. Pogloshchenie sveta pigmentami fitoplanktona, vzveshennym veshchestvom i okrashennym rastvorennym organicheskim veshchestvom v pribrezhnykh vodakh Kryma (Chernoje more) v iyune 2016. *Optika atmosfery i okeana. Fizika atmosfery* : materialy XXIII Mezhdunar. simpoz., Irkutsk, July 03–07, 2017. Tomsk : Izd-vo IOA SO RAN, 2017, pp. 137–140. (in Russ.)]
4. Полонский А. Б., Шокурова И. Г., Белокопытов В. Н. Десятилетняя изменчивость температуры и солености в Черном море // *Морской гидрофизический журнал*. 2013. № 6. С. 27–41. [Polonskii A. B., Shokurova I. G., Belokopytov V. N.

- Decadal variability of temperature and salinity in the Black Sea. *Morskoi gidrofizicheskii zhurnal*, 2013, vol. 6, pp. 27–41. (in Russ.)]
5. Суслин В. В., Чурилова Т. Я., Сосик Х. М. Региональный алгоритм расчета концентрации хлорофилла *a* в Черном море по спутниковым данным SeaWiFS // *Морской экологический журнал*. 2008. Т. 7, № 2. С. 24–42. [Suslin V. V., Churilova T. Ya., Sosik H. M. The SeaWiFS algorithm of chlorophyll *a* in the Black Sea. *Morskoi ekologicheskij zhurnal*, 2008, vol. 7, no. 2, pp. 24–42. (in Russ.)]
 6. Чурилова Т. Я., Суслин В. В., Кривенко О. В., Ефимова Т. В., Моисеева Н. А. Спектральный подход к оценке скорости фотосинтеза фитопланктона в Черном море по спутниковой информации: методологические аспекты развития региональной модели // *Журнал Сибирского государственного университета. Биология*. 2016. Т. 9, вып. 4. С. 367–384. [Churilova T. Ya., Suslin V. V., Krivenko O. V., Efimova T. V., Moiseeva N. A. Spectral approach to assessment of phytoplankton photosynthesis rate in the Black Sea based on satellite information methodological aspects of the regional model development. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 2016, vol. 9, iss. 4, pp. 367–384. (in Russ.)] <https://doi.org/10.17516/1997-1389-2016-9-4-367-384>
 7. Штрайхерт Е. А., Захарков С. П., Гордейчук Т. Н., Шамбарова Ю. В. Концентрация хлорофилла-*a* и био-оптические характеристики в заливе Петра Великого (Японское море) во время зимне-весеннего цветения фитопланктона // *Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса*. 2014. Т. 11, № 1. С. 148–162. [Shtraikhert E. A., Zakharov S. P., Gordeychuk T. N., Shambarova Ju. V. Chlorophyll-*a* concentration and bio-optical characteristics in the Peter the Great Bay (Sea of Japan) during winter-spring phytoplankton bloom. *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa*, 2014, vol. 11, no. 1, pp. 148–162. (in Russ.)]
 8. Babin M., Stramski D., Giovanni M. Variations in the light absorption coefficients of phytoplankton, nonalgal particles, and dissolved organic matter in coastal waters around Europe. *Journal of Geophysical Research*, 2003, vol. 108, iss. C7, pp. 4-1–4-20. <https://doi.org/10.1029/2001JC000882>
 9. Behrenfeld M. J., O'Malley R. T., et al. Reevaluating ocean warming impacts on global phytoplankton. *Nature Climate Change*, 2015, vol. 6, iss. 3, pp. 323–330. <https://doi.org/10.1038/NCLIMATE2838>
 10. Campbell J., Antoine D., Armstrong R., Arriago K., Balch W., Barber R., Behrenfeld M., Bidigare R., Bishop J., Carr M.-E., Esaias W., Falkowski P., Hoepffner N., Iverson R., Kiefer D., Lohrenz S., Marra J., Morel A., Ryan J., Veder-nikov V., Waters K., Yentsch C., Yoder J. Comparison of algorithms for estimating ocean primary production from surface chlorophyll, temperature, and irradiance. *Global Biogeochemical Cycles*, 2002, vol. 16, iss. 3, pp. 9-1–9-15. <https://doi.org/10.1029/2001GB001444>
 11. Churilova T., Moiseeva N., Efimova T., Suslin V., Krivenko O., Zemlianskaia E. Annual variability in light absorption by particles and colored dissolved organic matter in the Crimean coastal waters (the Black Sea). *Proc. SPIE 10466, 23rd International Symposium on Atmospheric and Ocean Optics: Atmospheric Physics*, 2017, vol. 104664B. <https://doi.org/10.1117/12.2288339>
 12. Churilova T., Suslin V., Krivenko O., Efimova T., Moiseeva N., Mukhanov V., Smirnova L. Light absorption by phytoplankton in the upper mixed layer of the Black Sea: Seasonality and parametrization. *Frontiers in Marine Science*, 2017, vol. 4, article 90 (14 p.). <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00090>
 13. Finenko Z., Churilova T., Lee R. Dynamics of the vertical distributions of chlorophyll and phytoplankton biomass in the Black Sea. *Oceanology*, 2005, vol. 45, iss. 1, pp. 112–126.
 14. Hu C., Lee Z., Franz B. A. Chlorophyll *a* algorithms for oligotrophic oceans: A novel approach based on three-band reflectance difference. *Journal of Geophysical Research*, 2012, vol. 117, iss. C1, article C01011 (25 p.). <http://doi.org/10.1029/2011JC007395>
 15. Jeffrey S. W., Humphrey G. F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie Pflanzen*, 1975, vol. 167, no. 2, pp. 191–194. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
 16. *Level 2 Ocean Color Flags* [Electronic resource]. URL: <https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/atbd/ocl2flags> [accessed 2019.03.20].
 17. Lorenzen C. J. Determination of chlorophyll and pheo-pigments: Spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography*, 1967, vol. 12, iss. 2, pp. 343–346. <http://doi.org/10.4319/lo.1967.12.2.0343>

18. Morel A., Prieur L. Analysis of variations in ocean color. *Limnology and Oceanography*, 1977, vol. 22, iss. 4, pp. 709–722.
19. NASA Goddard Space Flight Center, Ocean Ecology Laboratory, Ocean Biology Processing Group. *Moderate-resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) Aqua Ocean Color Data*; 2018 Reprocessing. NASA OB.DAAC, Greenbelt, MD, USA. <http://doi.org/10.5067/AQUA/MODIS/L2/OC/2018>
20. O'Reilly J. E., Maritorena S., O'Brien M. C., Siegel D. A., Toole D., Menzies D., Smith R. C., et al. *SeaWiFS Postlaunch Calibration and Validation Analyses, Part 3. NASA Technical Memorandum 2000-206892* / S. B. Hooker, E. R. Firestone (Eds). NASA Goddard Space Flight Center, 2000, vol. 11, 49 p.
21. O'Reilly J. E., Maritorena S., Mitchell B. G., Siegel D. A., Carder K. L., Garver S. A., Kahru M., McClain C. R. Ocean color chlorophyll algorithms for SeaWiFS. *Journal of Geophysical Research*, 1998, vol. 103, iss. C11, pp. 24937–24953. <http://doi.org/10.1029/98JC02160>
22. Platt T., Caverhill C., Sathyendranath S. Basin scale estimates of ocean primary production by remote sensing: The North Atlantic. *Journal of Geophysical Research*, 1991, vol. 96, iss. C8, pp. 15147–15159. <https://doi.org/10.1029/91JC01118>
23. Suslin V., Churilova T. A regional algorithm for separating light absorption by chlorophyll-*a* and coloured detrital matter in the Black Sea, using 480–560 nm bands from ocean colour scanners. *International Journal of Remote Sensing*, 2016, vol. 37, iss. 18, pp. 4380–4400. <http://doi.org/10.1080/01431161.2016.1211350>

**COMPARISON OF CHLOROPHYLL A CONCENTRATION VALUES
RETRIEVED FROM MODIS-AQUA SPECTRORADIOMETER
WITH THE RESULTS OF MEASUREMENTS
IN THE COASTAL WATERS OF THE BLACK SEA NEAR SEVASTOPOL**

E. Yu. Skorokhod, T. V. Efimova, N. A. Moiseeva, E. A. Zemlianskaia, and T. Ya. Churilova

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: e.skorokhod.sev@gmail.com

The results of the comparison of the values of the standard satellite product “Chlorophyll *a* Concentration” recovered from MODIS-Aqua satellite with the results of field measurements in the coastal waters of the Black Sea near Sevastopol from 2009 to 2019 as a part of regular bio-optical monitoring have been presented. Differences between seasons in the nature of the error of the standard satellite product “Chlorophyll *a* Concentration” using the standard NASA algorithm were established: in spring, a significant underestimation of the values of the standard satellite product “Chlorophyll *a* Concentration” (up to 2.1 times) at high chlorophyll *a* concentrations was noted according to the results of the full-scale measurements, and in summer a significant overestimation of the values (up to 3.8 times) at low concentrations was noted. Throughout the year, depending on the season, the error in determining the standard satellite product “Chlorophyll *a* Concentration” on average varied from $\pm 24\%$ to $\pm 51\%$. To increase the accuracy of determining the chlorophyll *a* concentration with remote sensing, it is necessary to use a regional approach.

Keywords: chlorophyll *a*, remote sensing, standard satellite product, MODIS-Aqua, coastal waters, Black Sea

УДК 597.556.35:591.3(262.5)

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ЧЕРНОМОРСКОГО КАЛКАНА (*SCOPHTHALMUS MAEOTICUS*)
В ПЕРИОД ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ**

© 2019 г. **А. Н. Ханайченко, В. Е. Гирагосов**

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: a.khanaychenko@gmail.com

Поступила в редакцию 10.05.2019; после доработки 30.07.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Черноморский калкан *Scophtthalmus maeoticus* (Pallas, 1814) — ценный промысловый вид рыб и перспективный объект промышленной марикультуры. Потенциальная плодовитость калкана оценивается в 3–13 млн икринок, однако смертность потомства на ранних стадиях развития в море очень высока (до 90 %). В природе пелагическая икра калкана после оплодотворения поднимается к поверхностному слою моря через 2–3 ч. Она является частью нейстона до вылупления, и эмбриогенез происходит в поверхностных водах. Калкан наиболее уязвим на ранних стадиях своего развития: практически незащищённый эмбрион подвергается разнообразным неблагоприятным воздействиям. Выживаемость и физиологическое состояние личинок на этапе вылупления и до перехода к экзогенному питанию зависят от нормы морфологических характеристик зародышей в процессе их развития. Целью нашей работы было изучить нормы изменений морфологических характеристик калкана в период эмбриогенеза. Представлены результаты морфологического анализа стадий развития калкана от оплодотворения икры до выклева на основании исследования интактных икринок (более 2000 экз.) из разных партий, инкубированных в экспериментальных условиях. Для детального исследования морфологических структур эмбрионов проведена их фото- и видеосъёмка с помощью цифровой фотокамеры Canon PowerShot A720, подсоединённой к стереомикроскопу МБС-10 при увеличении 8×4, и аналоговой видеокамеры, подсоединённой к инвертированному микроскопу Nikon Eclipse TS100 при увеличении ×4, ×10, ×40. Морфологические особенности, характерные для последовательных стадий развития черноморского калкана (до и после оплодотворения, дробления, бластуляции, гастрюляции, эпиболии и нейруляции, вплоть до выклева), представлены серией цифровых фотографий с описанием трансформирующихся эмбриональных структур. Оплодотворённые пелагические икринки калкана, покрытые прозрачными оболочками, имеют диаметр от $(1,26 \pm 0,14)$ до $(1,31 \pm 0,15)$ мм, равномерно распределённый желток и одну круглую прозрачную жировую каплю 0,20–0,21 мм в диаметре, расположенную в верхней части желтка. Временные интервалы эмбрионального развития калкана в оптимальном для его эмбриогенеза температурном диапазоне (+14...+16 °С) представлены в единицах относительного времени (временного отрезка от оплодотворения до момента появления структуры, выраженного в процентах от общей длительности эмбриогенеза, % RT). Дробление начинается в возрасте 2,5 % RT. Десинхронизация деления клеток зародыша калкана, свидетельствующая о начале их дифференциации, наступает между 6-м и 7-м делением; бластодиск насчитывает около 128 бластомеров с плотными межклеточными контактами. В течение 10–11-го митотического деления (512–1024 клеток, около 12 % RT) происходит формирование желточного синцитиального слоя, контролирующего эпиболию, спецификацию клеток и морфогенез зародыша. В процессе гастрюляции образуется зародышевое кольцо (21 % RT), от которого около 25 % RT выделяется зародышевый щиток. К 31 % RT достигается 50 % эпиболии. В период 40–45 % RT на протяжении 70–75 % эпиболии возникает нейральный киль, различимы нотохорда и глазные пузыри, начинается сегментация, появляется

Купферов пузырьёк. К завершению эпиболии (49 % RT) сформированы глазные бокалы, в туловище эмбриона более 20 пар сомитов. К 60 % RT исчезает Купферов пузырьёк и образуется хвостовая почка, в глазных бокалах формируются линзовые плакоды. К 65 % RT происходит вакуолизация ното хорды, образуются миотомы и начинается рост хвостового отдела. К 70–75 % RT хвостовой отдел туловища эмбриона отделяется от желточного мешка. Около 80 % RT начинается нейромышечная моторика эмбриона; сердце слабо пульсирует; хвост эмбриона охватывает более 60 % поверхности желточного мешка; дифференцируются ксантофоры, придающие телу эмбриона розоватый оттенок. К 90–95 % RT у эмбриона калкана чётко очерчены непигментированные глазные чаши с хрусталиками; образовано по 3 симметричные слуховые камеры с отолитами; в туловище 33–38 сомитов; в дерме присутствуют меланофоры и ксантофоры; эмбрион совершает резкие движения хвостовым отделом и туловищем. Перед выклевом оболочка икринки становится эластичной, растягивается и разрывается в области головы. При +14...+16 °C выклев наступает через 114–94 ч после оплодотворения соответственно. У выклюнувшейся билатерально-симметричной личинки калкана (со стандартной длиной тела от $(2,53 \pm 0,13)$ до $(2,91 \pm 0,10)$ мм) сформированы все органы, глаза непигментированы, кишечный тракт закрыт; в течение 3–5 суток она развивается за счёт желточных запасов. Описания морфологических изменений эмбриона калкана при правильном развитии могут быть использованы для разработки критериев оценки качества развивающейся икры как в естественной среде обитания, так и в условиях культивирования.

Ключевые слова: черноморский калкан, эмбриогенез, морфология, *Scophthalmus maeoticus*

Наличие высококачественных икры и личинок — одно из важнейших условий эффективно-го воспроизводства рыб как в естественной среде обитания, так и в условиях культивирования. Кроме того, численность особей в формирующихся поколениях рыб зависит от популяционной плодовитости и количества производителей.

Плодовитость черноморского калкана *Scophthalmus maeoticus* (Pallas, 1814), одного из самых ценных промысловых видов рыб Чёрного моря и перспективного объекта промышленной марикультуры, оценивается в 3–13 млн икринок [8]. Между тем смертность пелагической икры калкана в море высока (80–90 % [5]; может превышать 99 % [8]) из-за её чувствительности к большому числу негативных факторов, причём как внешних (резкие колебания температуры, неблагоприятные гидрологические условия, шторм, наличие токсичных веществ в воде), так и внутренних (генетические аномалии, отклонения от нормы развития, связанные с неправильной экспрессией генов).

О целесообразности перехода от промысловой эксплуатации природных популяций калкана к аквакультуре свидетельствует опыт культивирования близкородственного калкану атлантического тюрбо, который в Европе является объектом промышленного выращивания уже более 30 лет. В 2016–2018 гг. годовое производство тюрбо (с товарной массой рыб 1–2,5 кг) европейской аквакультурной промышленностью составляло около 11 000 т и оценивалось в 75,6 млн евро; продукция этого вида в Китае (с массой рыб до 0,5 кг) превышала 60 000 т [13]. Европейская продукция искусственно воспроизводимого тюрбо ещё в 1999 г. достигала показателя максимального годового вылова калкана СССР в 1950-е гг. (2800 т) [10], что является доказательством высокого потенциала искусственного воспроизводства, превосходящего возможности традиционного промысла.

От того, насколько морфологические характеристики эмбрионов соответствуют норме развития, зависят выживаемость и физиологическое состояние личинок на этапе выклева, а также на каждом последующем этапе. Этиология отклонений в развитии калкана разнообразна и изучена недостаточно, поэтому исследование закономерностей его морфологической изменчивости в период раннего онтогенеза является важной задачей как для прогноза состояния природных популяций, так и для разработки аквакультурных методик выращивания молоди калкана в искусственных условиях. Нашей целью было изучить норму изменений морфологических характеристик калкана в период эмбриогенеза и описать их в свете современных представлений об эмбриологии рыб и литературных данных по развитию рыб рода *Scophthalmus*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования особенностей эмбриогенеза *Scophthalmus maeoticus* послужила искусственно оплодотворённая икра, полученная от производителей калкана, которых отловили камбальными сетями в шельфовой зоне моря в районе г. Севастополя. Экспериментальные работы по оплодотворению и инкубированию икры проводили в 2006–2018 гг. в период естественного нереста калкана (апрель — май). Половые продукты сцеживали у текучих производителей как непосредственно на судне сразу после выборки сетей, так и в лабораторных условиях при содержании рыб в пластиковых бассейнах (при температуре воды +12...+13 °С). Икру осеменяли «сухим» способом: перемешивали её с неразбавленной спермой, а затем активировали морской водой. Оплодотворение производили при температуре не выше +13 °С. Для оплодотворения и инкубирования икры использовали черноморскую воду (солёность 18 ‰), предварительно отстоянную, прошедшую грубую фильтрацию, последовательную ультрафильтрацию через серию картриджных фильтров (10, 5, 1 мкм) и обработку ультрафиолетом. После оплодотворения икру тщательно промыли чистой морской водой и переносили в проточные инкубаторы при первоначальной загрузке из расчёта 500–1000 икринок на 1 л, при скорости водообмена 10 объёмов в сутки и с аэрацией, обеспечивавшей необходимое для нормального развития калкана содержание кислорода в воде — 7,5–8,5 мкг O₂ · мл⁻¹ [11]. Температуру при инкубировании поддерживали в оптимальном диапазоне (+14...+16 °С) [3, 23]. Эффективность оплодотворения икры оценивали через несколько часов после него на стадии 8–16 бластомеров, так как первые митотические деления могут происходить без оплодотворения.

Морфологические характеристики развивающихся эмбрионов калкана на разных стадиях эмбриогенеза исследовали по цифровым фотографиям (>5000 файлов) интактных икринок (>2000 экз.). Цифровую фотосъёмку осуществляли с помощью аналоговой видеокамеры, подсоединённой к микроскопу Nikon Eclipse-200, и цифровой фотокамеры Canon PowerShot A720, подсоединённой к стереомикроскопу МБС-10. Размеры икринок и эмбрионов и их морфологических элементов оценивали по окуляр-микрометру и по цифровым фотографиям.

При исследовании развития живых эмбрионов калкана отсутствовала возможность применения электронной микроскопии и гистологического анализа, поэтому для более достоверного описания процесса эмбриогенеза наши собственные материалы были органично дополнены описанием некоторых развивающихся в процессе эмбриогенеза структур по литературным данным.

Впервые описание эмбриогенеза черноморского калкана на основании анализа отловленных в море икринок сделала Т. В. Дехник [4]. Она условно разделила эмбриогенез этого вида на классические шесть этапов, каждый из которых уже содержит некоторые черты следующего: I — дробление (от оплодотворения до образования бластулы); II — бластуляция, заканчивающаяся образованием эпителиальной бластулы; III — гастрюляция (до образования бластопора); IV — органогенез (образуются слуховые капсулы и зачатки сердца, развивается пигментация до появления хвостовой почки); V — рост хвостового отдела (до начала пульсации сердца); VI — подвижный эмбрион (до вылупления). В описаниях развития атлантического тюрбо эмбриогенез обычно разделяют на этапы дробления, гастрюляции, нейруляции, органогенеза [17, 24].

В данном описании эмбриогенеза калкана мы придерживаемся терминологии и интервалов развития (оплодотворение, дробление, бластуляция, гастрюляция, органогенез, начало мышечной моторики и подготовка к вылуплению) согласно приведённым в работе Махотина [7]. В связи с тем, что описание развития эмбриональных структур калкана рассматривали в диапазоне оптимальных температур +14...+16 °С, при которых длительность разных этапов значительно отличается, хронология появления и трансформации морфологических структур в процессе эмбриогенеза калкана приведена в относительных единицах (относительном возрасте эмбриона в процентах от общей продолжительности эмбриогенеза, % RT) [22], аналогично безразмерной характеристике τ_0 [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность оплодотворения икры калкана в значительной степени зависит от её состояния к моменту сцеживания. Отсутствие возможности вымета икры самками при их длительном пребывании в сетях в море или при содержании в бассейнах часто приводит к перезреванию икры или к получению смешанных порций — «зрелой» икры с примесью «перезрелой». Экспресс-метод оценки качества сцеженной икры заключается в определении её плавучести и соответствия морфологических характеристик ряду критериев.

Строение зрелого ооцита. Нормальная неоплодотворённая зрелая икра калкана имеет положительную плавучесть, бесцветна, прозрачна, неадгезивна, имеет большой центрально расположенный желток и одну жировую каплю на его поверхности (рис. 1А). Оболочка икры — прочная сложная геликоидная конструкция, состоящая из многочисленных решётчатых концентрированных слоёв кератиноподобных склеропротеиновых волокон в белковом матриксе [21]; она формируется ещё в яичнике и обеспечивает физическую защиту развивающемуся эмбриону. Первичная оболочка происходит от поверхностной протоплазмы ооцита и называется *zona radiata*. Сверху первичной оболочки икры образуется вторичная, продуцируемая фолликулярными клетками, — хорион.

Прозрачная светопреломляющая оболочка неоплодотворённой икры черноморского калкана, как и близкородственного тюрбо, имеет волнообразную структуру и пронизана отчётливо видимыми под электронным микроскопом гладкими порами — остатками радиальных канальцев, расположенных регулярно, на определённом расстоянии друг от друга [9, 15], через которые ооциты ассимилируют необходимые питательные вещества во время их развития в яичнике. Пористая и волнистая структура оболочки достаточно хорошо видна и под световым микроскопом (рис. 1В).

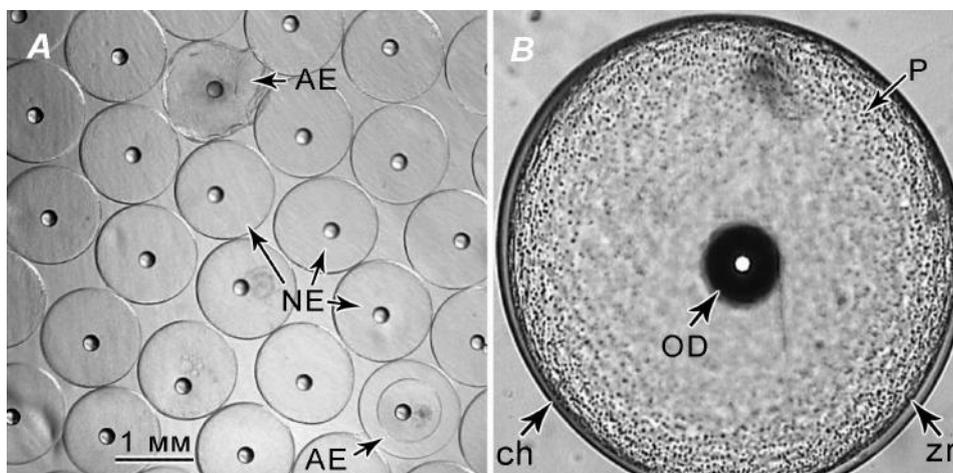


Рис. 1. Неоплодотворённая икра черноморского калкана: А — сцеженные икринки в верхнем слое воды; В — икринка крупным планом. Условные обозначения: NE — нормальная икра; AE — аномальная икра; OD — жировая капля; P — поры; zr — *zona radiata*; ch — хорион

Fig. 1. Unfertilized eggs of the Black Sea turbot: A – stripped eggs in the upper water layer; B – close-up of the egg. Symbols: NE – normal eggs; AE – abnormal eggs; OD – oil drop; P – pores; zr – *zona radiata*; ch – chorion

Эмбриогенез калкана.

Общая продолжительность эмбриогенеза составляла от 94 ч при +16 °С до 114 ч при +14 °С.

1 этап. Подготовка икринки к дроблению. Диаметр оплодотворённой икры, полученной в многочисленных экспериментах при искусственном оплодотворении с использованием гамет различных самцов и самок из нерестовой популяции калкана, отличался в разных партиях от $(1,26 \pm 0,14)$ до $(1,31 \pm 0,15)$ мм [12] (диаметр жировой капли — 0,21–0,22 мм) и находился в пределах вариаций размерных характеристик икринок калкана из моря, приведённых в результатах

ранних исследований ихтиопланктона [4], в которых диаметр икры составлял 1,10–1,33 мм, а диаметр жировой капли — 0,17–0,23 мм. После проникновения спермия через микропиле (диаметр $(4,2 \pm 0,4)$ мкм у видов рыб рода *Scophthalmus*) часть жидкости перивителлинового пространства экструдируется через микропилярный канал наружу и формирует пробку, закрывающую вход в микропиле [15], которая не только блокирует прохождение других сперматозоидов, предотвращая полиспермию, но и исключает проникновение в икру бактерий, вирусов и грибов, сохраняя стерильность перивителлинового пространства икры на протяжении эмбриогенеза. В результате активации икры прекращается блокировка процесса мейоза, завершается второе мейотическое деление, перестраивается ядерный аппарат и происходит сложная морфологическая и биохимическая трансформация экстраклеточного матрикса — преобразование структуры оболочки неоплодотворённой икры в структуру оболочки оплодотворённой икры [21]. Осмотически активные гликопротеиды втягивают воду между оболочками, вызывая их расслоение; внешняя оболочка икры поднимается и отделяется от внутренней цитоплазматической (вителлиновой) мембраны, между ними образуется перивителлиновое пространство, которое у икры калкана в норме занимает очень небольшой объём и заметно в основном на анимальном полюсе.

После обводнения происходит преобразование и затвердевание оболочки икры калкана, выдерживающей высокие физические нагрузки. В норме у правильно развивающейся икры калкана в период от дробления до ранней бластулы давление в жидкости перивителлинового пространства возрастает с $0,6 \cdot 10^3$ до $3 \cdot 10^3$ Па, сохраняется в пределах от $3 \cdot 10^3$ до $3,5 \cdot 10^3$ Па до завершения гаструляции, падает на последующих (поздних) этапах до $1 \cdot 10^3$ Па и снижается перед выклевом до значений от $0,3 \cdot 10^3$ до $0,6 \cdot 10^3$ Па [9]. Сравнительно низкая плотность ($1,011 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3}$), высокая оводнённость (94,5–95,6 %) [2] и наличие жировой капли обеспечивают оплодотворённой икре калкана положительную плавучесть и распределение в верхнем слое черноморской воды солёностью 17,5–18 ‰. По данным растровой электронной микроскопии, *zona radiata* оплодотворённой икры калкана ($\sim 1,26$ мм в диаметре) состоит из 6 слоёв общей толщиной 3 мкм, которые пронизаны порами (диаметр 0,4 мкм), расположенными в определённом порядке, и плотностью $275\,000 \text{ пор}\cdot\text{мм}^{-2}$ [9].

Доля оплодотворённой икры варьирует в разных партиях от 5 до 95 %. Даже при использовании высококачественных половых продуктов определённая часть икры остаётся неоплодотворённой (рис. 2А). В среднем для партий икры с 90 % икринок с положительной плавучестью и партий спермы с более чем 70 % подвижных сперматозоидов доля оплодотворённой икры может достигать 90 %.

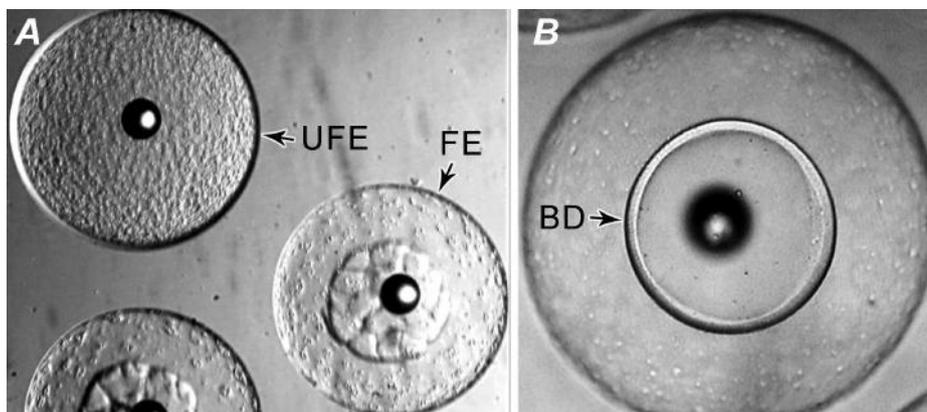


Рис. 2. Икра калкана после оплодотворения: А — икринки из одной порции (~ 4 ч после оплодотворения); В — оплодотворённая икринка с образовавшимся бластодиском ($\sim 1,5$ ч после оплодотворения). Условные обозначения: UFE — неоплодотворённая икринка; FE — оплодотворённая икринка на стадии дробления; BD — бластодиск

Fig. 2. Black Sea turbot eggs after fertilization: A – eggs from one batch (~ 4 h after fertilization); B – fertilized eggs with the formed blastodisc (~ 1.5 h after fertilization). Symbols: UFE – unfertilized egg; FE – fertilized egg at cleavage stage; BD – blastodisc

В течение периода от 0 до 1 % RT после соприкосновения оболочек икры и спермы цитоплазма икры, свободная от желтка, начинает аккумулироваться на анимальном полюсе. Приблизительно к 1,5 % RT образуется дископодобная выпуклость — зародышевый диск, или бластодиск (рис. 2В); завершается второе деление мейоза; формируется зигота, которая лежит на поверхности вегетативной части ооцита — на желточной массе, в центре которой находится одна жировая капля.

II этап. Дробление цитоплазматического диска оплодотворённой икры начинается с первого митотического цикла, во время которого, приблизительно в возрасте 2,5 % RT, образуются два одинаковых бластомера (рис. 3А). В результате двух непрерывных скоординированных процессов — кариокинеза (митотического деления ядра) и цитокинеза (деления клетки) бластодиска — восстанавливается характерное для соматических клеток ядерно-плазменное отношение, а важная для развития генетическая информация распределяется между разными клеточными областями. Из-за отсутствия роста клеток на начальных стадиях дробления совокупность бластомеров не превосходит по своим размерам зиготу. Вскоре происходит второе деление с образованием 4 бластомеров (рис. 3В), возвышающихся над цитоплазмой (рис. 3С).

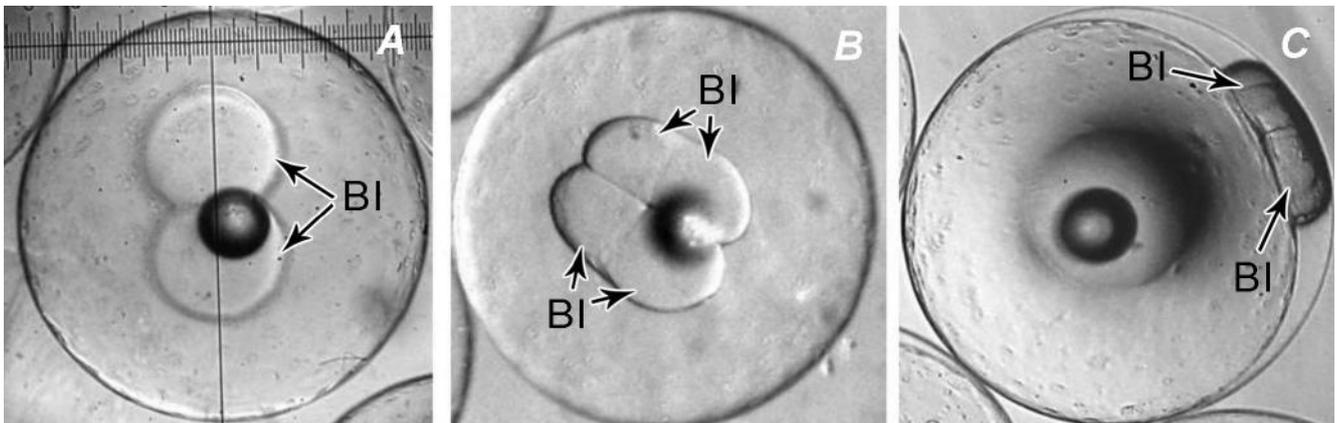


Рис. 3. Оплодотворённая икра калкана на этапе дробления: А — стадия 2 бластомеров; В — стадия 4 бластомеров; С — стадия 4 бластомеров (латеральная проекция). Условные обозначения: BI — бластомеры

Fig. 3. Fertilized eggs of the Black Sea turbot at cleavage stage: A – stage of 2 blastomeres; B – stage of 4 blastomeres; C – stage of 4 blastomeres (lateral projection). Symbols: BI – blastomeres

Спецификация клеток эмбриона калкана происходит уже после 4-го деления. По окончании 5-го митотического цикла, в возрасте 4,5 % RT, в результате деления 4 центральных бластомеров широтными, а 12 краевых — меридиональными бороздами формируются 32 бластомера, значительно отличающихся по форме и размеру (рис. 4А); образуется крупноклеточная морула. К 6,5 % RT, после 6-го по счёту, первого горизонтального деления, бластодиск калкана состоит из 64 бластомеров, а внутренние клетки формируют мембраны быстрее, чем краевые. Некоторая десинхронизация деления клеток зародыша калкана, свидетельствующая о начале их дифференциации между 6-м и 7-м делением, наступает после 7 % RT. Бластодиск насчитывает около 128 мелких бластомеров (рис. 4В) с плотно прилегающими друг к другу клеточными мембранами, образующими межклеточные контакты. Внешние, периферические бластомеры уплощаются, а внутренние, глубокие клетки, из которых в дальнейшем формируется эмбрион, округляются. После 8-го митотического цикла в зародыше калкана насчитывается около 256 клеток, упакованных в не менее чем 4 слоя. В этот период клетки ещё поддерживают коммуникацию, но затем возрастает асинхронность формирования поверхностных, внутренних и краевых бластомеров, и около 10 % RT эмбрион переходит к бластуляции.

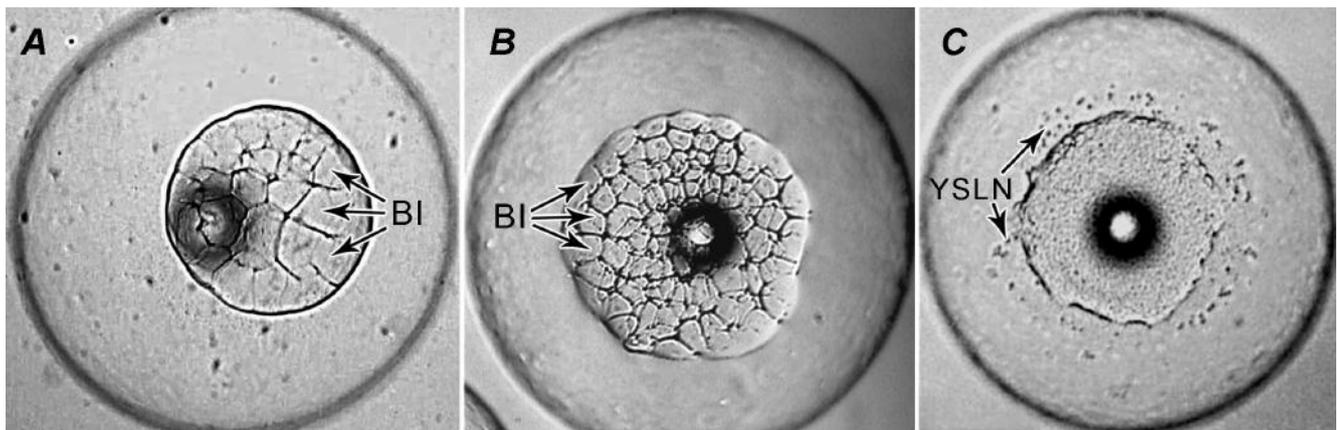


Рис. 4. Эмбрион калкана: А — на стадии 32 бластомеров; В — на стадии 128 бластомеров; С — на стадии > 512 бластомеров, по периферии бластодиска видны ряды синцитиальных ядер перибласта. Условные обозначения: Bl — бластомеры; YSLN — ядра перибласта

Fig. 4. Black Sea turbot embryo: A – stage of 32 blastomeres; B – stage of 128 blastomeres; C – stage of > 512 blastomeres, yolk syncytial layer nuclei at the periphery of the blastodisc. Symbols: Bl – blastomeres, YSLN – yolk syncytial layer nuclei (periblast nuclei)

III этап. Бластуляция характеризуется десинхронизацией деления клеток; она условно разделяется на раннюю, среднюю и позднюю бластулу и заканчивается образованием эпителиальной бластулы приблизительно в возрасте 15 % RT. В результате постоянного деления верхних бластомеров с плотными межклеточными контактами на ранней бластуле, называемой также высокой бластулой (high blastula) и бластомерной бластулой (по устаревшей терминологии), происходит куполообразное выпячивание бластодермы на анимальном полюсе. В течение средней бластулы одновременно с нормализацией ядерно-плазменного соотношения и удлинением клеточного цикла начинается период асинхронных делений клеток; пробуждается транскрипционная активность собственно генома зародыша; происходит синтез различных видов РНК на матрицах ДНК. С этой, критической стадии развития, называемой точкой перехода на стадии средней бластулы (*англ.* mid-blastula transition point, MBTP), клетки самого зародыша калкана способны к автономным движениям, необходимым для морфогенетических процессов, и зародыш становится полноценным эмбрионом, в котором начинает действовать его собственный геном. Если геном эмбриона не активируется, дальнейшего развития не происходит. К стадии поздней бластулы в зародышах калкана, как и всех костистых рыб, формируются морфологически обособленные группы клеток — поверхностные клетки с плотными межклеточными контактами (они образуют эпителиальный пласт — перидерму, которая покрывает эмбрион и желток) и глубокие клетки с неплотными контактами.

В течение 10–11-го митотического деления (приблизительно 512–1024 клетки) (около 12 % RT) в бластодерме окончательно дифференцируется особый слой. У крайних бластомеров происходит деление только ядер вместо деления цитоплазмы, клеточные мембраны отсутствуют; эти бластомеры начинают сливаться с субстанцией желтка. Ядра крайних бластомеров мигрируют из клеточного материала и располагаются несколькими рядами в цитоплазме, образуя специализированный слой клеток, не относящийся к структуре собственно зародыша, а являющийся как бы прослойкой между ним и желтком. Таким образом, образуется связанный с желтковыми запасами желточный синцитиальный слой (*англ.* yolk syncytial layer, YSL), называемый также перибластом (рис. 4С). Он играет ключевую роль в развитии эмбриона, контролируя эпиболию, морфогенез и метаболизм [16].

Перибласт становится симпластом (тканью, характеризующейся отсутствием границ между клетками и расположением ядер в сплошной цитоплазме) непрерывной системы протопластов, связанных плазмодесмами и ограниченных клеточной стенкой с полиморфными полиплоидными

ядрами [22]. Перибласт контролирует эпиболию, структурирование, спецификацию клеток и морфогенез слоёв зародыша в процессе гастрюляции. Высокодинамичные движения YSL скоординированы с движением поверхностных клеток предшественников [14].

IV этап. Гастрюляция у калкана, как и у других костистых рыб, происходит без образования бластопора и не приводит к формированию кишечной трубки [6]. У него отсутствует типичное для других позвоночных гастрюляционное подворачивание (инволюция); комплекс осевых зачатков эмбриона образуется в результате интенсивных делений и морфогенетических перемещений клеток разных слоёв, происходящих согласно их детерминации [14]. Она осуществляется двумя взаимно перпендикулярными перемещениями клеток бластодермы: эпиболией, или обрастанием желточной сферы бластодермой, увлекаемой перибластом, — пассивной миграцией клеток в меридиональном направлении, и осевой конвергенцией — активным движением клеток в широтном направлении к будущей оси билатеральной симметрии зародыша [6, 7].

В начале гастрюляции в процессе эпиболии желтка желточный цитоплазматический слой замещается многоядерным симпластом YSL. Формируется плотный сектор — утолщение из мигрировавших в результате центробежного движения клеток гипобласта, называемое зародышевым кольцом (*англ.* germ ring, GR) (рис. 5A). По всей окружности GR эмбрионов рыб рода *Scophthalmus* располагаются два слоя клеток, которые образовались из глубоких клеток, мигрировавших из центра бластодермы: поверхностный, выстилающий поверхность зародышевого диска, адгезивный слой клеток — эпибласт, который находится под кроющим эпителием и в непосредственном контакте с ним, и внутренний, мобильный слой — гипобласт, в котором мезодерма и эндодерма не разделены и образуют единый слой эмбриональных клеток — мезэндодерму (*син.* эндомезодерма); именно он находится в контакте с перибластом [24]. В клетках гипобласта увеличивается число клеточных органелл, возрастают их адгезия и активность. В начале обрастания они передвигаются по радиусам; затем их перемещения сочетаются с движениями осевой конвергенции (в широтном направлении к оси зародыша). Далее эпибласт развивается в эктодерму, а гипобласт дифференцируется в мезодерму и эндодерму. В дальнейшем: 1) эктодерма становится эпидермисом и нервной тканью; 2) из мезодермы образуются мышцы и кости; 3) эндодерма формирует ткани печени и кишечника.



Рис. 5. Начало гастрюляции эмбриона калкана: А — зародышевое кольцо; В — зародышевое кольцо (стрелка указывает на участок зародышевого кольца, разрастающийся в направлении анимального полюса (будущего зародышевого щитка) соответственно будущей передне-задней оси зародыша); С — зародышевое кольцо (увеличение $\times 400$), будущая головная часть эмбриона калкана. Условные обозначения: GR — зародышевое кольцо, HA — будущая головная часть

Fig. 5. Start of gastrulation in the Black Sea turbot embryo: A – germ ring; B – germ ring (the arrow points to the GR area expanding to the animal pole (future embryonic shield) corresponding to future ante-posterior axis); C – germ ring (magnification $\times 400$), future head area of embryo. Symbols: GR – germ ring; HA – future head area

Ядра YSL продолжают делиться митотически, перибласт разрастается, его край активно сокращается и подтягивает в вегетативном направлении слой поверхностных клеток, которые увлекают весь слой перидермы. По мере эпиволии глубокие клетки бластодермы заполняют пространство между YSL и поверхностными клетками; площадь зародышевого диска и диаметр зародышевого кольца увеличиваются.

В процессе гастрюляции перемещения клеток эпибласта и гипобласта по своим траекториям, разрастание слоя перибласта от анимального полюса в сторону вегетативного и концентрация большей части клеток (зародышевого узелка) в дорсальном секторе GR (рис. 5B и C) приводят к его асимметрии и образованию зародышевого щитка (*англ.* embryonic shield, ES) в возрасте около 25 % RT, разрастающегося соответственно будущей передне-задней оси зародыша (рис. 6A и B). Зародышевый щиток считается организатором дорсо-вентральной эмбриональной оси зародышевой полоски.

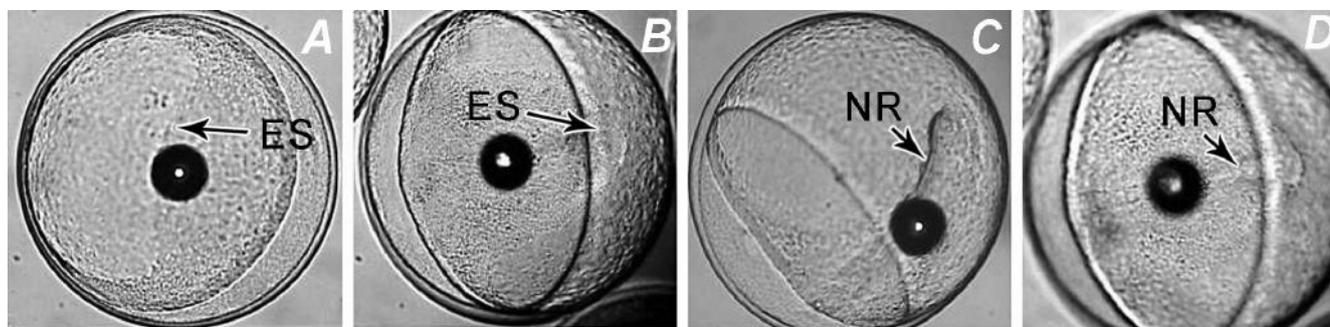


Рис. 6. Эмбрион черноморского калкана: А и В — разрастание зародышевого щитка от 20 до 50 % эпиволии; С и D — формирование зародышевой полоски и зачатка ното хорды (увеличение $\times 100$). Условные обозначения: ES – зародышевый щиток; NR – нейральная пластинка

Fig. 6. Black Sea turbot embryo: A and B – elongation of embryonic shield at 20 to 50 % epiboly; C and D – formation of embryonic band and notochord anlage (magnification $\times 100$). Symbols: ES – embryonic shield; NR – neural rod

Гастрюляцию можно считать завершённой по достижении 30 % эпиволии желточной сферы эмбриона [7], наблюдаемой у калкана в возрасте около 28 % RT. Почти одновременно с гастрюляцией в результате центробежной миграции внутренней массы бластомеров, изначально лежащих на разных уровнях (карта презумптивных зачатков у костистых рыб с самого начала является трёхмерной) [14] начинается закладка осевых зачатков.

V этап. Органогенез — определяющий период развития эмбриона калкана в возрасте от 29 до 70 % RT, в течение которого продолжается эпиволия бластодермой желточной сферы (вплоть до полного обрастания желтка и формирования хвостовой почки) и одновременно формируется осевой комплекс первичных зачатков.

В возрасте около 31 % RT формируется зачаток ното хорды — осевая мезодерма (*син.* хордомезодерма) — в гипобласте по средней линии зародышевого щитка калкана к 50 % эпиволии. Клетки хордомезодермы индуцируют дифференцировку прилегающей эктодермы в нейроэктодерму [24]. Утолщение нейроэктодермы формирует над краниальной частью зачатка ното хорды, в передне-заднем направлении, хорошо заметную нейральную пластинку (*англ.* neural rod, NR), выглядящую как утолщение вдоль медиальной оси зародышевого щитка (рис. 6C и D).

Когда бластодерма эмбриона калкана охватывает зародышевой полоской (валиком) желточную сферу на 60–70 % (к 40–42 % RT), в её анимальной (будущей головной) части, над хордой, в виде плотных тяжей вдоль будущей оси тела эмбриона формируются зачатки отделов головного мозга (рис. 7).

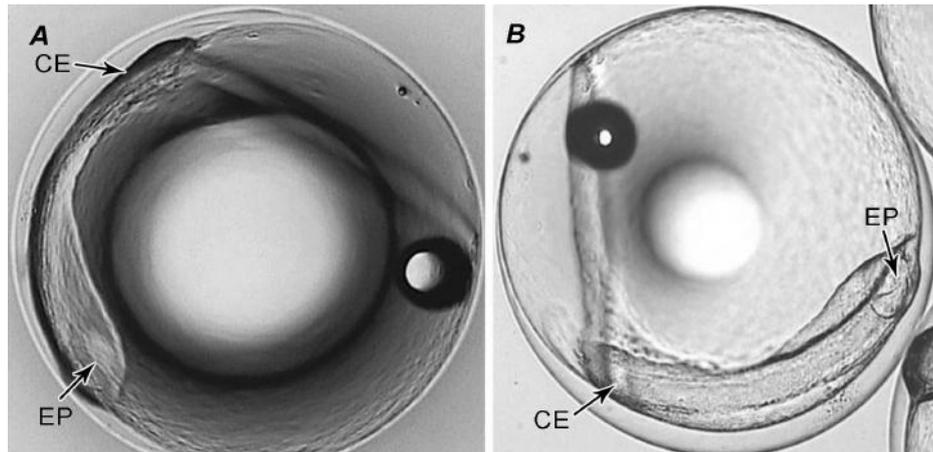


Рис. 7. Формирование зародышевой полоски эмбриона калкана: А — обрастание 60 %; В — 65 %. Условные обозначения: EP — зачатки глазных пузырей, CE — каудальная часть эмбриона

Fig. 7. Formation of Black Sea turbot embryo band: A – 60 % epiboly; B – 65 % epiboly. Symbols: EP – eye primordium; CE – caudal part of embryo

К 75 % эпиболии (в возрасте 45 % RT) в передней части по центру сплошной клеточной эмбриональной массы зародыша клетки нервной пластинки расширяются вентрально и формируют над мезодермальными клетками будущего рудиментарного мозга нейральный киль (*англ.* neural keel) (рис. 8А и В), вдавленный в ткань мезодермы. От передней части нейральной пластинки образуются три мозговых пузыря: передний (*prosencephalon*), который дифференцируется на передний (*telencephalon*) и промежуточный (*diencephalon*) мозг; средний (*mesencephalon*); задний (*rhombencephalon*). Оптические примордии (изначально сплошные эллиптические массы клеток глазных пузырей) формируются из боковых выпячиваний передней части нервной трубки, от *diencephalon*. Слуховые плакоды формирует *rhombencephalon* (рис. 8С).

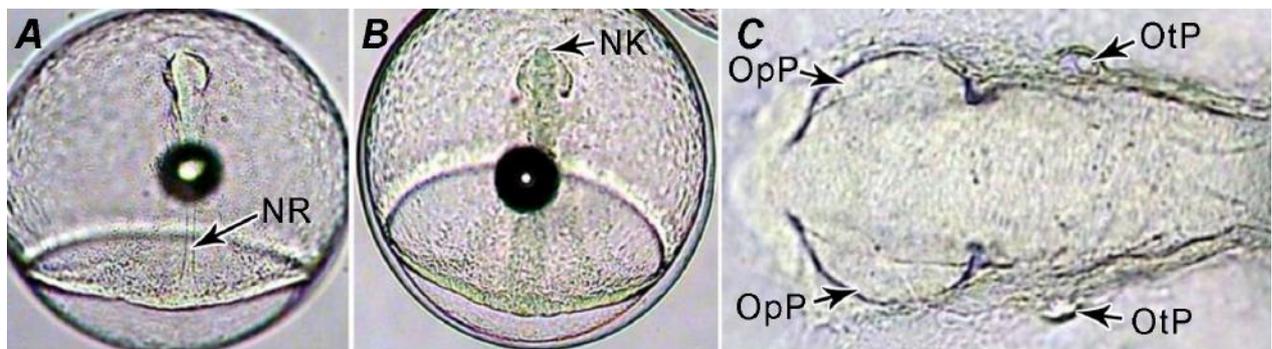


Рис. 8. Эмбрион калкана: А — формирование нейральной пластинки; В — формирование нейрального кия; С — формирование мозга, зачатков глаз и слуховых камер (увеличение $\times 100$). Условные обозначения: NR — нейральная пластинка; NK — нейральный киль; OpP — зачаток глаза; OtP — зачаток слуховой камеры

Fig. 8. Black Sea turbot embryo: A – neural rod formation; B – neural keel formation; C – formation of brain, otic and optic primordium (magnification $\times 100$). Symbols: NR – neural rod; NK – neural keel; OpP – optic primordium; OtP – otic primordium

Сегментация (разделение параксиальной мезодермы зародышевого валика сегментарными пластинками на отдельные параллельные блоки — сомиты), или сомитогенез, играет важную роль в формировании скелета и мышц. Первые сомиты у эмбриона калкана в середине туловища (рис. 9А) обнаруживаются вскоре после появления нотохорды и нейральной пластинки, ко времени замещения перибластом цитоплазматической мембраны желтка на 70 % (42 % RT). Параллельные границы

в гипобласте между осевой хордомезодермой (нотохордой) и параксиальной мезодермой сегментарной пластинки (она формирует сомиты) образуются в виде параллельных борозд, последовательно, одна за другой, в передне-заднем направлении, и уже отчётливо видны при 90 % обрастания. Формирование начальных сомитов у эмбрионов рыб рода *Scophthalmus* происходит независимо от температуры (в диапазоне +12...+16 °С) каждые 75 минут, однако в единицах относительного времени (стадиях развития в процентах от всей длительности эмбриогенеза) сомиты появляются при +12 °С раньше, чем при +16 °С [20].

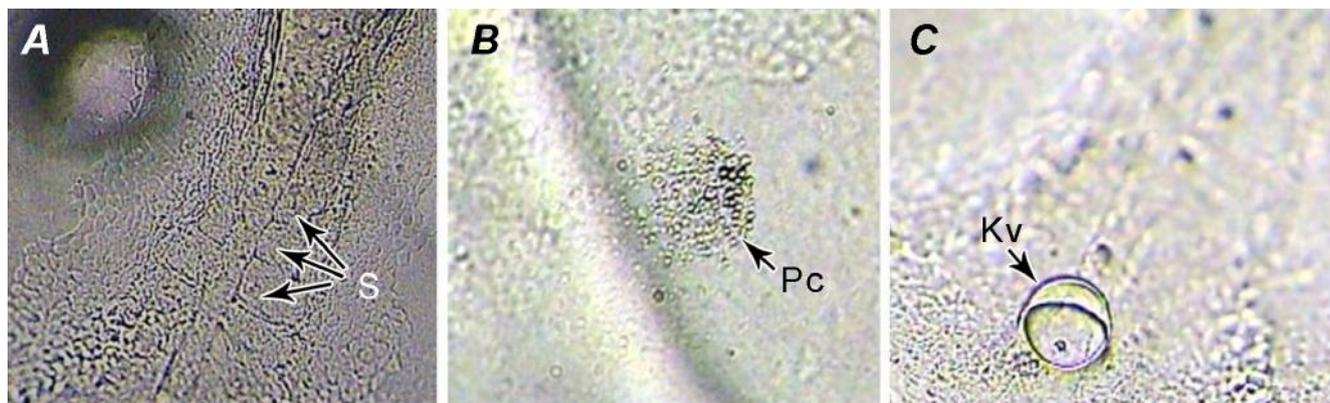


Рис. 9. Эмбрион калкана в начале сегментации (увеличение $\times 400$): А — формирование первых сомитов в середине туловища эмбриона (70 % эпиболии); В — клетки — предшественники Купферова пузырька; С — Купферов пузырёк. Условные обозначения: S — сомиты; Pc — клетки-предшественники; Kv — Купферов пузырёк

Fig. 9. Black Sea turbot embryo at the start of segmentation (magnification $\times 400$): A – formation of the first somites in the mid of embryo body (70 % epiboly); B – progenitor cells of Kupffer's vesicle; C – Kupffer's vesicle. Symbols: S – somites; Pc – cluster of progenitor cells; Kv – Kupffer's vesicle

В начале сегментации между желтком и каудальной частью эмбриона калкана, на его вентральной поверхности, появляется сперва еле заметный (видимый только при увеличении $\times 400$) зачаток временной структуры Купферова пузырька (*англ.* Kupffer's vesicle, Kv) (рис. 9В и С). По современным представлениям, Kv образуется следующим образом [19]: предшественники реснитчатых клеток Kv, дорсальные поверхностные эпителиальные клетки, в начале гастрюляции появляются в виде разбросанных по горизонтальной линии клеток, а в дальнейшем группируются (рис. 9В) и мигрируют к вегетативному полюсу, образуя в процессе быстрой эпителизации и цилиогенеза структуру из группы клеток, которая к окончанию эпиболии в области будущей хвостовой почки образует конденсированную клеточную массу, превращающуюся в Kv (рис. 9С). По данным гистологии эмбрионов рыб рода *Scophthalmus* [24], с вентральной стороны Kv формируют клетки внутреннего слоя YSL, а с дорсальной — призматические клетки. Хотя до настоящего времени все функции Kv окончательно не определены, считается, что реснитчатые клетки этой структуры во время раннего сомитогенеза определяют право-леворотонную симметрию сердца, мозга и кишечника [19]. Однозначно Kv является ориентиром появления будущей хвостовой почки и хвостового отдела калкана. Обнаружена связь между нормой развития Kv и нормой последующего развития хвостового отдела *Scophthalmus maoticus* [11].

В течение 80–85 % обрастания (рис. 10А и В) в эллипсоидных глазных пузырьках эмбриона калкана начинают образовываться полости, а Купферов пузырёк увеличивается в объёме. Достигнув вегетативного полюса, наружный перибласт смыкается, перидерма и края бластодермы окружают желтковую сферу. Процесс обрастания желтка бластодермой завершается в возрасте 49 % RT. К этому времени эмбрион и, особенно, его головная часть приобретают более чёткие очертания: в удлинённых глазных пузырьках образуются щели, которые затем преобразуются в глазные бокалы; в туловище эмбриона, расположенном от анимального к вегетативному полюсу и охватывающем половину

желточной сферы, формируются > 20 сомитов (рис. 10С). Со времени завершения эпиболии желток, окружённый перибластом и клеточным материалом, называется желточным мешком (*англ.* yolk sac, YS) и является неотделимой частью эмбриона калкана, так как выполняет множество функций, в том числе трофическую. Дифференцирующийся энтодермальный пласт продуцирует ферменты, расщепляющие желток [24].

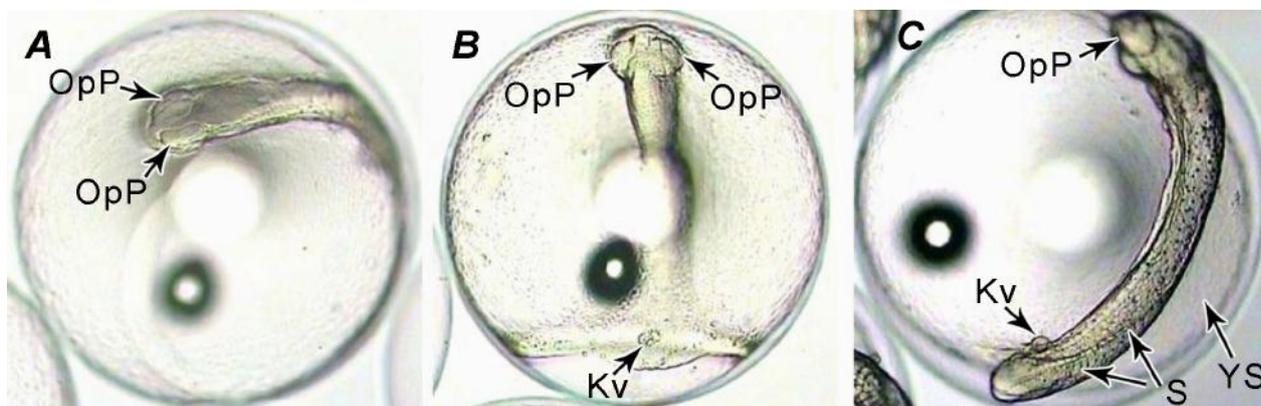


Рис. 10. Эмбрион калкана на стадии завершения эпиболии: А — 80 % эпиболии; В — 85 % эпиболии; С — завершение эпиболии, стадия сегментации (более 20 сомитов) — удлинённые глазные бокалы, в которых образована полость, Купферов пузырьёк в хвостовой части. Условные обозначения: OpP — глазной пузырьёк; Kv — Купферов пузырьёк; S — сомиты; YS — желточный мешок

Fig. 10. Black Sea turbot embryo at the end of epiboly: A – 80 % epiboly; B – 85 % epiboly; C – end of epiboly, segmentation stage (more than 20 somites), enlarged optic cups with a fissure, maximum volume of Kupffer's vesicle in the caudal part. Symbols: OpP – optic primordium; Kv – Kupffer's vesicle; S – somites; YS – yolk sac

Процесс осевой конвергенции клеток гипобласта завершается их агрегацией в каудальной части зародыша и формированием хвостовой почки (*англ.* tail bud, TB) — зачатка хвостового отдела эмбриона калкана. Когда Kv достигает максимального размера (рис. 11А), оказываясь внутри ткани будущей хвостовой почки, он уменьшается в объёме и исчезает. Образование зачатка хвостового отдела эмбриона калкана происходит к 60 % RT (рис. 11В). В этот же период в глазных бокалах формируются линзовые плакоды (рис. 11А и В).

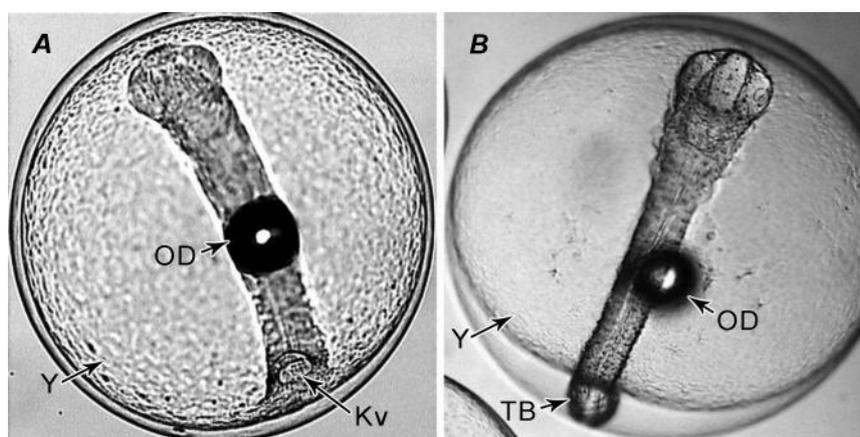


Рис. 11. Эмбрион калкана после завершения эпиболии: А — Купферов пузырьёк максимального объёма накануне образования хвостовой почки; В — формирование хвостовой почки. Условные обозначения: Kv — Купферов пузырьёк; OD — жировая капля; TB — хвостовая почка; Y — желток

Fig. 11. Black Sea turbot embryo after the end of epiboly: A – Kupffer's vesicle at its maximum volume prior formation of a tail bud; B – formation of the tail bud. Symbols: Kv – Kupffer's vesicle; OD – oil drop; TB – tail bud; Y – yolk

В хвостовой почке формируется участок ното хорды (рис. 12А), от которого происходит дальнейший рост хвостового отдела. Около 65 % RT начинается вакуолизация ното хорды: поверхностный слой клеток каждого сомита эпителизируется, а масса внутренних клеток формирует миотомы (мышечные сегменты). Они приобретают форму конусов, направленных вершиной в сторону головы эмбриона, и сохраняют метамерную организацию. Соседние миотомы отделены друг от друга поперечными миосептами из соединительной ткани. В результате формирования уплотнённой оболочки ткани, поддерживающей её упругость [24], «шевроноподобные» сегменты становятся хорошо заметны при увеличении $\times 100$ и в течение короткого периода времени выглядят «как стопка монеток» (рис. 12В).

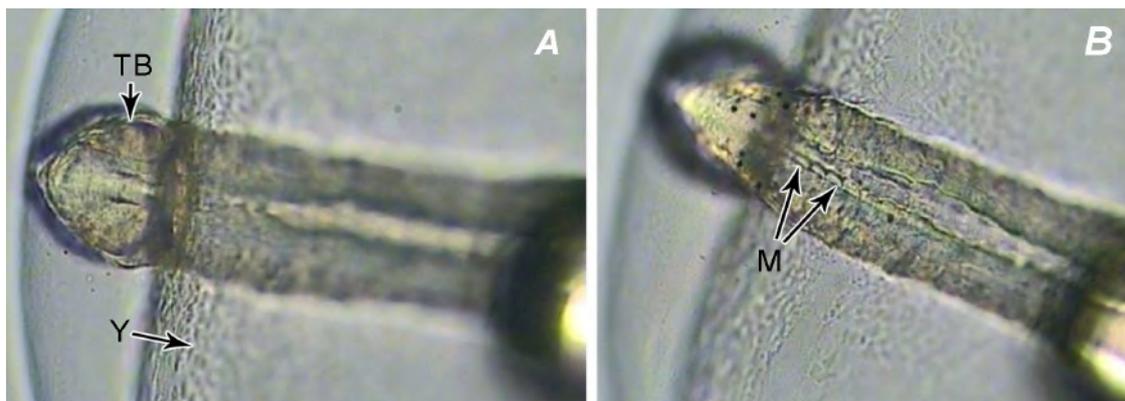


Рис. 12. Хвостовая часть эмбриона калкана: А — правильно сформированная хвостовая почка; В — посередине хвостовой части выделяются разделённые миосептами «шевроноподобные» миотомы. Условные обозначения: М — миотомы; ТВ — хвостовая почка; Y — желток

Fig. 12. Caudal part of the Black Sea turbot embryo: A – normal development of the tail bud; B – myotomes divided by myosepta in the middle of caudal part of embryo. Symbols: M – myotomes; TB – tail bud; Y – yolk

В период между 65 и 70 % RT из мигрирующих клеток нервного гребня начинают дифференцироваться хроматофоры, на туловище эмбриона калкана появляются точечные меланофоры (рис. 13А). Около 70–72 % RT в месте соединения мезодермальных боковых клеток под головным отделом зародыша калкана, от задней вентральной части среднего мозга в направлении передней части заднего мозга, сердечная трубка дифференцируется на предсердие и желудочек. Начинают формироваться свободные лопасти парных грудных плавников.

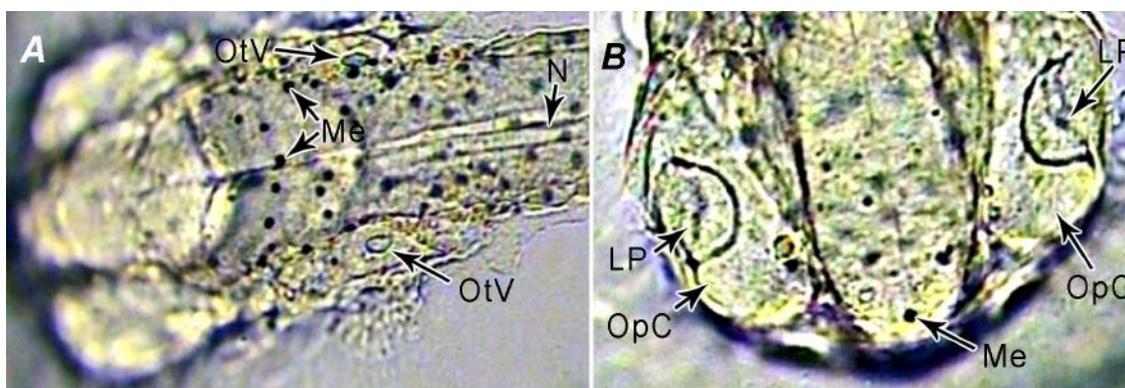


Рис. 13. Передняя и головная часть туловища эмбриона калкана. А — сегментированная ното хорда посередине, меланофоры, парные полости слуховых пузырьков; В — образование хрусталиковых плакод внутри полости глазной чаши. Условные обозначения: LP — хрусталиковые плакоды; Me — меланофоры; N — ното хорда; OpC — глазной бокал; OtV — слуховой пузырёк

Fig. 13. Forehead of the Black Sea turbot embryo: A – segmented notochord in the middle of the head, melanophores on the surface, paired otic vesicles; B – development of lens placodes in the optic cup. Symbols: LP – lens placode; Me – melanophores; N – notochord; OpC – optic cup; OtV – otic vesicle

Глазные бокалы, соприкасаясь с эктодермой головы эмбриона, начинают преобразовываться в двуслойную глазную чашу (рис. 13В): внутренний слой — зачаток сетчатки, наружный — пигментного эпителия, место перегиба внутреннего слоя в наружный — зачаток радужки [10]. Покровная эктодерма в месте соприкосновения с нейральным зачатком глаза начинает инвагинировать внутрь вторичной полости глаза, формируя хрусталиковые плакоды (рис. 13В), состоящие, согласно гистологическим исследованиям, из округлённых клеток [24]. Затем края хрусталиковой плакоды смыкаются, образуя зачаток хрусталика, приобретающий шарообразную форму (пузырёк) и отдаляющийся от покровной эктодермы, которая просветляется над ним и превращается в роговицу глаза (*лат. corneus* — роговой; *англ. cornea* — роговица глаза) [1, 24]. Дальнейшая дифференцировка отдельных элементов глаз калкана происходит по трём направлениям: 1) развитие (за счёт внутреннего и внешнего зародышевого листков) структур, воспринимающих свет и проводящих нервные возбуждения в центральные отделы мозга; 2) совершенствование структур, преломляющих свет и создающих изображение объектов на сетчатке (хрусталик, стекловидное тело); 3) дифференцировка оболочек глаза, выполняющих функции кровоснабжения, защитную и рефлекторную [10].

Растущий хвостовой отдел отделяется от границы желточной сферы, в нём дифференцируются хорда и спинной мозг, продолжают дальнейшую сегментацию и образование сомитов. Отчленение хвостового отдела от желточного мешка начинается в возрасте 70–75 % RT. В дальнейшем тело зародыша удлиняется за счёт сомитогенеза и укрупнения хвостовых мускульных сегментов.

VI этап. Начало нейромышечной моторики эмбриона калкана (нервно-мышечных сокращений мускульных сегментов туловищного отдела) регистрируется около 80 % RT. Пульсация сердца, дифференцированного к этому возрасту на 4 отдела [24], достигает 50 ударов в минуту. Хвост эмбриона охватывает более 60 % поверхности желточного мешка. Дифференцируются ксантофоры, придающие телу эмбриона розоватый оттенок.

К 90–95 % RT в головном отделе калкана чётко очерчены непигментированные глазные бокалы с хрусталиками, ниже по бокам — слуховые камеры с отолитами (рис. 14А и С), а в туловищном отделе отчётливо видна сегментированная хорда (рис. 14А). Хвост почти дорастает до головы. Дифференцирована непарная плавниковая складка, окаймляющая хвостовой отдел эмбриона (рис. 14А). В середине тела видны свободные лопасти грудных плавников (рис. 14С). Эмбрион не только производит свободные движения хвостовым отделом, но и изгибает тело, совершая волнообразные движения. На спинной стороне тела в дерме калкана наряду с меланофорами присутствуют ксантофоры (рис. 14В). На внутренней поверхности оболочки эмбриона из эпибласта дифференцируются хлорид-секретирующие клетки.

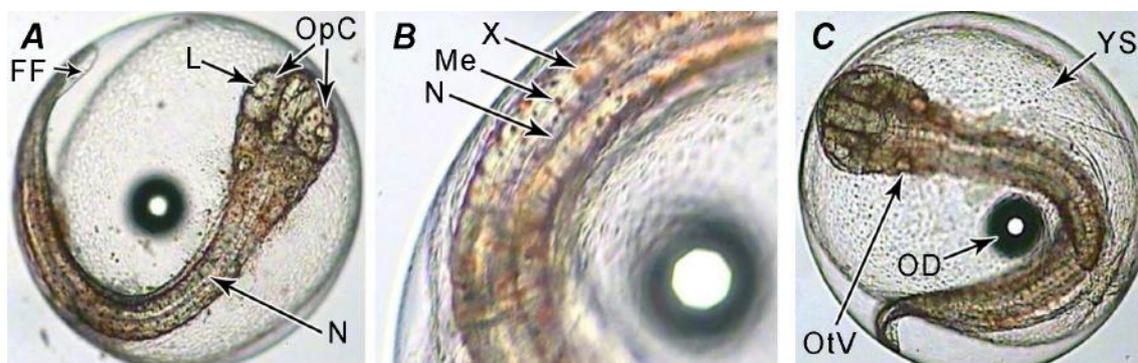


Рис. 14. Эмбрионы калкана: А — стадия свободного хвоста; В — ксантофоры и меланофоры на поверхности туловища; С — стадия подвижного эмбриона. Условные обозначения: FF — плавниковая складка; N — нотохорда; OpC — глазные бокалы; L — хрусталик; Me — меланофоры; X — ксантофоры; YS — желточный мешок; OD — жировая капля

Fig. 14. Black Sea turbot embryos: A – free tail stage; B – xanthophores and melanophores on the body surface; C – twisting of embryo. Symbols: FF – fin fold; N – notochord; OpC – optic cups; L – lens; Me – melanophores; X – xanthophores; YS – yolk sac; OD – oil drop

VII этап. Подготовка к вылуплению. Около 98 % RT хвост зародыша калкана охватывает большую часть желточного мешка, практически соединяется с головой и почти полностью отсоединяется от желточного мешка. Эмбрион свободно вращается внутри оболочки икринки. Эмбриональная моторика способствует конвективной и нестационарной диффузии кислорода и ионов в перивителлиновой жидкости, омывающей поверхность зародыша [9]. Перед головным отделом на желточном мешке, на переднем конце головы и над глазными бокалами появляются крупные округлые клетки, которые дифференцируются в железы вылупления. Под действием ферментов вылупления оболочка икринки становится эластичной, и во время энергичных вращений зародыша она постепенно растягивается (рис. 15А и В). Накануне выклева у эмбриона калкана уже различимы полукружные каналы в образованных на каждой стороне тела слуховых камерах (рис. 15С), в каждой из которых в норме сформирован один отолит.

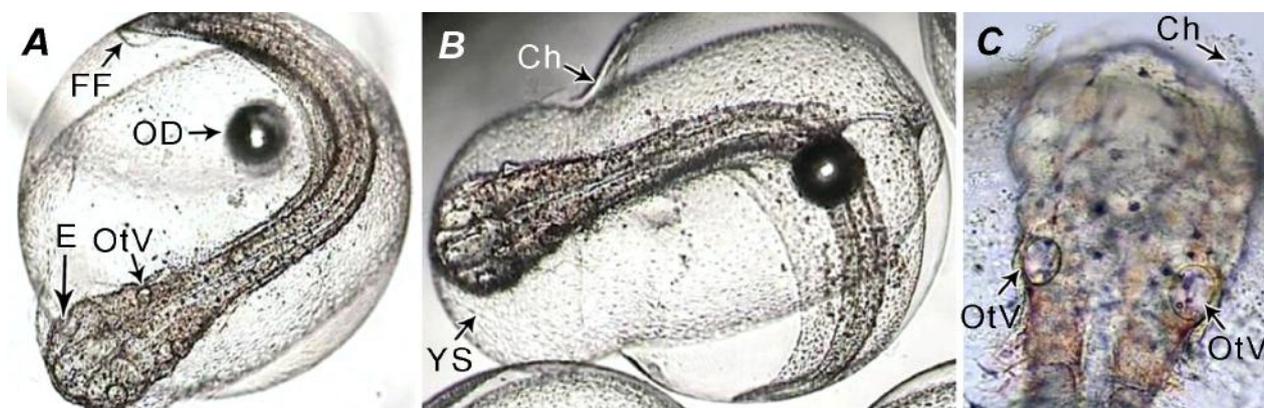


Рис. 15. Выход эмбриона калкана из оболочки икры: А — растягивание оболочки головным отделом; В — разрыв оболочки икры в области головы; С — разрыв хориона в области головы (увеличение $\times 400$). Условные обозначения: Ch — хорион; E — глаз; FF — плавниковая кайма; OD — жировая капля; OtV — слуховые камеры; YS — желточный мешок

Fig. 15. Black Sea turbot at hatching: A – stretching of the egg shell prior hatching; B – breaking through the chorion of the embryo head; C – chorion rupture at the head area (magnification $\times 400$). Symbols: Ch – chorion; E – eye; FF – fin fold; OD – oil drop; OtV – otic vesicles; YS – yolk sac

Перед выклевом в туловище эмбрионов калкана насчитывается 33–38 сомитов; сердечный ритм достигает 75–80 ударов в минуту. Активные резкие движения эмбриона приводят к растягиванию, утончению и разрыву оболочки, а также к выходу из неё эмбриона головой вперёд (рис. 15А, В и С). Обонятельные плакоды эмбрионов рыб рода *Scophthalmus* перед выклевом трансформируются в обонятельные ямки [18]. Во время выхода эмбриона из оболочки около 20–25 % массы икринки высвобождается в окружающую среду.

Общая продолжительность эмбриогенеза при повышении температуры инкубации икры с $+14$ до $+16$ °C сокращается с 114 до 94 ч. Индивидуальный процесс выклева эмбриона из оболочки продолжается около 1 ч. В партии правильно развивающейся качественной икры выклев происходит довольно синхронно — в течение 1–2 ч, в то время как в партиях икры с разнородным физиологическим и генетическим материалом и при низких температурах выклев может растянуться на 6–8 ч.

Хронология изменений и появления новых эмбриональных структур на рассмотренных стадиях эмбриогенеза калкана представлена на шкале морфологических изменений (рис. 16) в единицах относительного времени (% RT) в диапазоне оптимальных температур $+14...+16$ °C.

Непосредственно после выклева голова предличинки калкана плотно прилегает к желтку (рис. 17А), на поверхности которого расположены хлоридные клетки. Большой овальный желток занимает до $\frac{2}{3}$ туловища (рис. 17В). В непигментированных глазах чётко очерчены зрачки. По бокам туловища распределены параллельные ряды меланофоров.

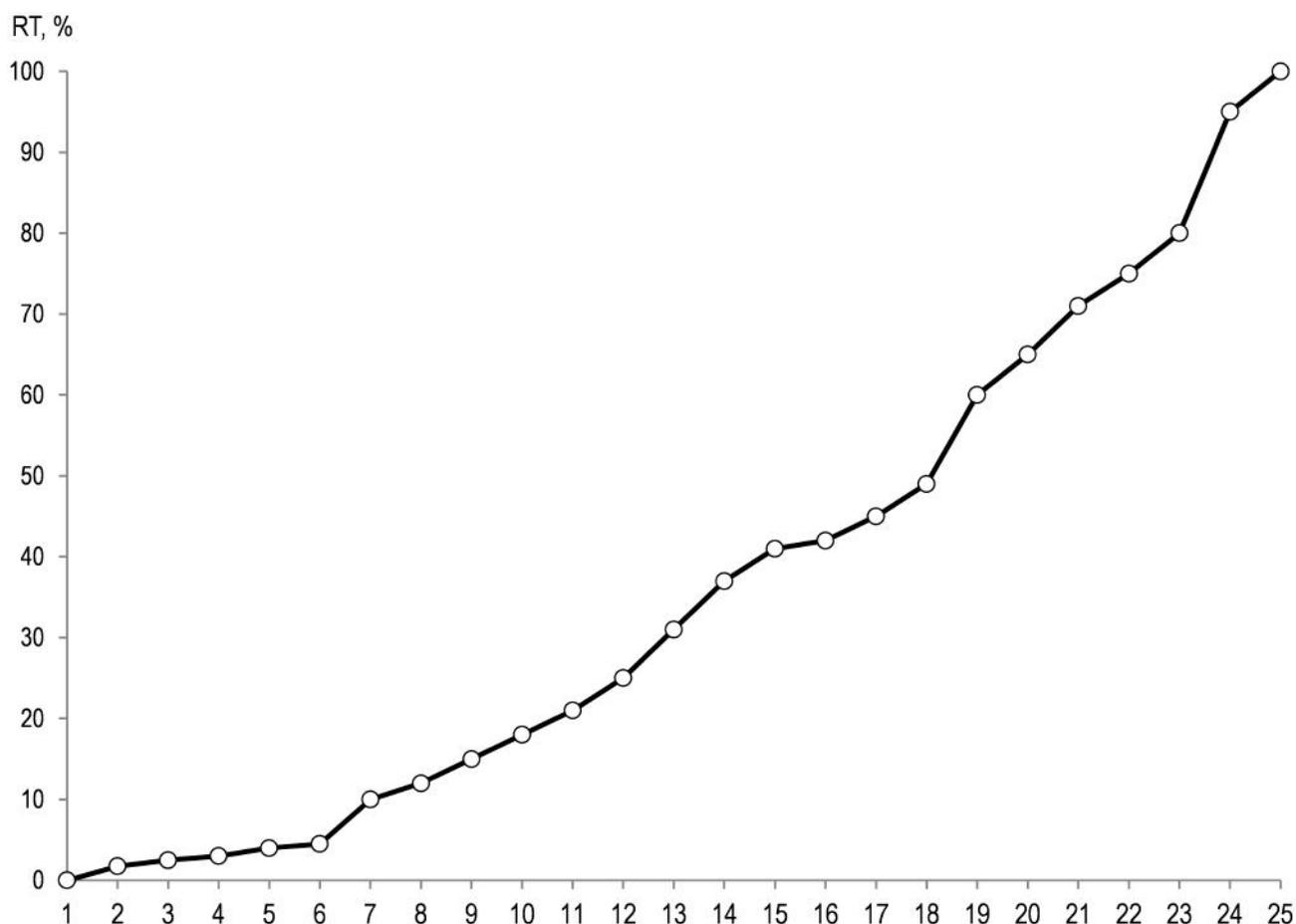


Рис. 16. Хронологическая шкала морфологических изменений калкана в течение эмбриогенеза, представленная в единицах относительного времени (% RT, временной отрезок от оплодотворения до момента появления структуры, выраженный в процентах от общей длительности эмбриогенеза) в диапазоне оптимальных температур +14...+16 °С: 1 — оплодотворение; 2 — бластодиск, зигота; 3 — 2 бластомера; 4 — 4 бластомера; 5 — 16 бластомеров; 6 — 32 бластомера; 7 — 256 бластомеров; 8 — образование перибласта; 9 — эпителиальная бластула; 10 — гастрюляция; 11 — зародышевое кольцо; 12 — зародышевый щиток; 13 — 50 % эпиболии; 14 — нейральный киль; 15 — первый сомит; 16 — Купферов пузырь; 17 — 75 % эпиболии; 18 — завершение эпиболии; 19 — хвостовая почка; 20 — рост хвостового отдела; 21 — пульсация сердца; 22 — свободный хвост; 23 — нейромаскулярная моторика; 24 — активный эмбрион; 25 — выклев

Fig. 16. Scale of morphological changes during Black Sea turbot embryogenesis in relative time units (% RT, a time interval from fertilization until the emergence of morphological structure in percentage of the embryogenesis total duration) in the range of optimal temperatures +14...+16 °C: 1 – fertilization; 2 – blastodisc, zygote; 3 – 2 blastomeres; 4 – 4 blastomeres; 5 – 16 blastomeres; 6 – 32 blastomeres; 7 – 256 blastomeres; 8 – yolk syncytial layer; 9 – epithelial blastula, gastrulation; 11 – germ ring; 12 – embryonic shield; 13 – 50 % epiboly; 14 – neural keel; 15 – 1st somite; 16 – Kupffer's vesicle; 17 – 75 % epiboly; 18 – end of epiboly; 19 – tail bud; 20 – tail growth; 21 – heart beating; 22 – free tail; 23 – neuromascular activity; 24 – active embryo; 25 – hatching

Предличинка калкана после выклева билатерально-симметрична; её глаза не пигментированы; реакция на свет отсутствует. Стандартная длина тела (SL) находится в пределах от $(2,53 \pm 0,13)$ до $(2,91 \pm 0,10)$ мм в зависимости от наследственности и температурных условий, при которых проходил эмбриогенез. В течение нескольких часов после выклева голова предличинки отделяется от желтка (рис. 18). Большой овальный желточный мешок, занимающий до 50 % длины тела, и жировая капля диаметром 0,21–0,22 мм, расположенная в задней трети желточного мешка, создают положительную плавучесть, удерживая малоподвижных предличинки в подповерхностном слое воды (брюшной стороной вверх).



Рис. 17. Предличинка калкана непосредственно после выклева: А — передняя часть тела; В — дорсальная проекция тела. Условные обозначения: Е — глаз; L — хрусталик; OD — жировая капля; YS — желточный мешок

Fig. 17. Black Sea turbot pre-larvae immediately after hatching: A – frontal part of the body; B – dorsal projection of the body. Symbols: E – eye; L – lens; OD – oil drop; YS – yolk sac

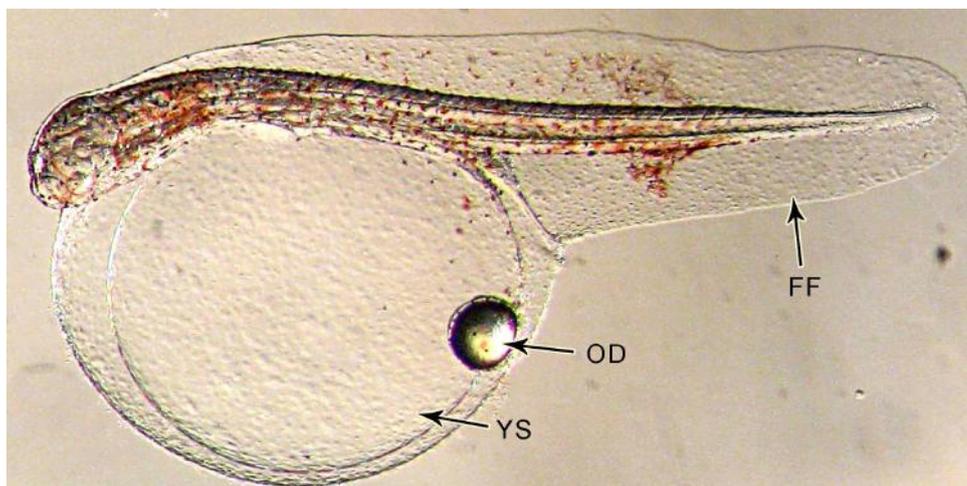


Рис. 18. Личинка калкана через ~ 1,5 часа после выклева. Условные обозначения: YS — желточный мешок; OD — жировая капля; FF — плавниковая кайма

Fig. 18. The Black Sea turbot larvae ~ 1.5 hours after hatching. Symbols: YS – yolk sac; OD – oil drop; FF – fin fold

Заключение. Выполненное нами с помощью современной световой микроскопии исследование закономерностей изменения морфологических структур черноморского калкана в период эмбриогенеза позволило уточнить: некоторые морфологические характеристики разных этапов развития (особенности формирования желточного синцитиального слоя, предшествующего началу эпиболии, образования зародышевого кольца и дифференциации слоёв бластодермы); хронологию начала сегментации; особенности организации временной структуры Купферова пузырька и его предполагаемой роли в формировании хвостовой почки и в дальнейшем развитии хвостового отдела; особенности развития эмбриональных органов зрения и слуха перед вылуплением предличинки. Приведённая хронологизация последовательности морфологических изменений в единицах относительного времени от общей продолжительности эмбриогенеза позволяет рассчитать длительность каждого этапа при конкретной температуре (в диапазоне оптимальных). Полученные данные могут быть использованы при оценке состояния икры калкана в природных условиях, при работе по усовершенствованию технологии его культивирования и при проведении исследований в области эмбриологии рыб.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ 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).

Благодарности. Авторы признательны за техническую помощь в подготовке иллюстраций к. б. н. И. Е. Драпун (ФИЦ ИнБЮМ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Битюкова Ю. Е. Развитие зрительной рецепции у личинок черноморского калкана *Psetta maeotica* (Pallas) // *Сенсорная физиология рыб* / АН СССР, Отд-е физиологии ; [Кольский филиал АН СССР]. Апатиты, 1984. С. 110–112. [Bityukova Yu. E. Razvitie zritel'noi retseptsii u lichinok chernomorskogo kalkana *Psetta maeotica* (Pallas). *Sensornaya fiziologiya ryb* / AN SSSR, Otd-e fiziologii ; [Kol'skii filial AN SSSR]. Apatity, 1984, pp. 110–112. (in Russ.)]
2. Битюкова Ю. Е., Ткаченко Н. К. Влияние солёности на эмбриональное развитие черноморской камбалы калкана *Psetta maeotica* (Pallas) // *Экология моря*. 1998. Вып. 47. С. 25–28. [Bityukova Yu. E., Tkachenko N. K. Effect of salinity on the embryonic development of Black Sea turbot *Psetta maeotica* (Pallas). *Ekologiya morya*, 1998, iss. 47, pp. 25–28. (in Russ.)]
3. Битюкова Ю. Е., Ткаченко Н. К., Чепурнов А. В. Термочувствительность калкана *Psetta maeotica* (Pallas) (Scophthalmidae) в период эмбрионального развития при искусственном выращивании // *Вопросы ихтиологии*. 1984. Т. 24, вып. 3. С. 459–463. [Bityukova Yu. E., Tkachenko N. K., Chepurnov A. V. Termochuvstvitel'nost' kalkana *Psetta maeotica* (Pallas) (Scophthalmidae) v period embrional'nogo razvitiya pri iskusstvennom vyrashchivani. *Voprosy ikhtiologii*, 1984, vol. 24, iss. 3, pp. 459–463. (in Russ.)]
4. Дехник Т. В. *Ихтиопланктон Чёрного моря*. Киев : Наукова думка, 1973. 235 с. [Dekhnik T. V. *Ikhtioplankton Chernogo morya*. Kiev : Naukova dumka, 1973, 235 p. (in Russ.)]
5. Игнатъев С. М., Мельников В. В., Климова Т. Н., Мельник Л. А., Губанов В. В., Бирюкова М. А. Макро- и ихтиопланктон прибрежных районов Крыма летом 2016 г. // *Системы контроля окружающей среды*. 2017. Вып. 28. С. 93–100. [Ignatiev S. M., Melnikov V. V., Klimova T. N., Melnik L. A., Gubanov V. V., Biryukova M. A. Summer macro- and ichthyoplankton of Crimea coastal areas in 2016. *Sistemy kontrolya okruzhayushchei sredy*, 2017, iss. 28, pp. 93–100. (in Russ.)]
6. Макеева А. П. *Эмбриология рыб*. Москва : Изд-во МГУ, 1992. 246 с. [Makeeva A. P. *Embriologiya ryb*. Moscow : Izd-vo MGU, 1992, 246 p. (in Russ.)]
7. Махотин В. В. Эмбриональное и раннее личиночное развитие беломорской трески *Gadus morhua marisalbi* (Gadidae) // *Вопросы ихтиологии*. 2016. Т. 56, вып. 2. С. 177–199. [Makhotin V. V. Embryonic and early larval development of White Sea cod *Gadus morhua marisalbi* (Gadidae). *Voprosy ikhtiologii*, 2016, vol. 56, iss. 2, pp. 177–199. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.1134/S0032945216020119>
8. Попова В. П. Особенности биологии размножения черноморской камбалы-калкана *Scophthalmus maeoticus maeoticus* (Pallas) (наблюдения в море) // *Вопросы ихтиологии*. 1972. Т. 12, вып. 6. С. 1057–1063. [Popova V. P. Biological characteristics of reproductions *Scophthalmus maeoticus* (Pallas) (observation in the sea). *Voprosy ikhtiologii*, 1972, vol. 12, iss. 6, pp. 1057–1063. (in Russ.)]
9. Терещенко В. А., Битюкова Ю. Е., Ткаченко Н. К. Движения зародышей камбалы калкана *Psetta maeotica* и изменения механических свойств оболочки икры в период эмбриогенеза // *Вопросы ихтиологии*. 1992. Т. 32, вып. 6. С. 175–178. [Tereshchenko V. A., Bityukova Yu. E., Tkachenko N. K. Movements of the Black Sea turbot's, *Psetta maeotica*, embryos, and changes of the mechanical characteristics of the egg-membrane during embryogenesis. *Voprosy ikhtiologii*, 1992, vol. 32, iss. 6, pp. 175–178. (in Russ.)]
10. Ханайченко А. Н., Битюкова Ю. Е. Искусственное разведение камбаловых: история вопроса и перспективы их выращивания на Чёрном море // *Рыбное хозяйство Украины*. 1999. Т. 4, вып. 7. С. 15–17. [Khanaichenko A. N., Bityukova Yu. E.

- Iskusstvennoe razvedenie kambalovykh: istoriya voprosa i perspektivy ikh vyrashchivaniya na Chernom more. *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 1999, vol. 4, iss. 7, pp. 15–17. (in Russ.)]
11. Ханайченко А. Н., Светличный Л. С., Гирагосов В. Е., Губарева Е. С. Дыхание икры черноморского калкана (*Scophthalmus maeoticus*) как показатель её развития // *Журнал Сибирского федерального университета. Серия «Биология»*. 2017. Т. 10, № 1. С. 9–19. [Khanaychenko A. N., Svetlichny L. S., Giragosov V. E., Hubareva E. S. Respiration of the Black Sea turbot (*Scophthalmus maeoticus*) eggs as an indicator of its development. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 2017, vol. 10, no. 1, pp. 9–19. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0004>
 12. Ханайченко А. Н., Гирагосов В. Е., Баяндина Ю. С., Ельников Д. В. Выживаемость и вариабельность аномалий икры черноморского калкана *Psetta maxima maeotica* из нерестового стада юго-западного шельфа Крыма // *Тезисы II Міжнар. іхтіол. наук.-практ. конф.*, Севастополь, 16–19 вересня 2009 р. Севастополь, 2009. С. 156–159. [Khanaychenko A. N., Giragosov V. E., Bayandina Yu. S., El'nikov D. V. Vyzhivaemost' i variabel'nost' anomalii ikry chernomorskogo kalkana *Psetta maxima maeotica* iz nerestovogo stada yugo-zapadnogo shel'fa Kryma. In: *Modern problems of theoretical and practical ichthyology* : proceedings of the 2nd International ichthyological conference, Sevastopol, Sept. 16–19, 2009. Sevastopol, 2009, pp. 156–159. (in Russ.)]
 13. *APROMAR 2018 : La Acuicultura en España* / Asociación Empresarial de Acuicultura de España. Chiclana (Cádiz), 2018, 94 p.
 14. Ballard W. W. Morphogenetic movements and fate map of the cypriniform teleost, *Catostomus commersoni* (Lacepede). *Journal of Experimental Zoology*, 1982, vol. 219, iss. 3, pp. 301–321. <https://doi.org/10.1002/jez.1402190306>
 15. Bian X., Zhang X., Gao T., Wan R., Chen S., Sakurai Y. Morphology of unfertilized mature and fertilized developing marine pelagic eggs in four types of multiple spawning flounders. *Ichthyological Research*, 2010, vol. 57, iss. 4, pp. 343–357. <https://doi.org/10.1007/s10228-010-0167-1>
 16. Carvalho L., Heisenberg C.-P. The yolk syncytial layer in early zebrafish development. *Trends in Cell Biology*, 2010, vol. 20, iss. 10, pp. 586–592. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.06.009>
 17. Devauchelle N., Alexandre J. C., Le Corre N., Letty Y. Spawning of turbot (*Scophthalmus maximus*) in captivity. *Aquaculture*, 1988, vol. 69, iss. 1–2, pp. 159–184. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(88\)90194-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(88)90194-9)
 18. Doldán M. J., Cid P., Mantilla L., de Miguel Villegas E. Development of the olfactory system in turbot (*Psetta maxima* L.). *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2011, vol. 41, iss. 3, pp. 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2011.01.003>
 19. Essner J. J., Amack J. D., Nyholm M. K., Harris E. B., Yost H. J. Kupffer's vesicle is a ciliated organ of asymmetry in the zebrafish embryo that initiates left-right development of the brain, heart and gut. *Development*, 2005, vol. 132, no. 6, pp. 1247–1260. <https://doi.org/10.1242/dev.01663>
 20. Gibson S., Johnston I. A. Temperature and development in larvae of the turbot *Scophthalmus maximus*. *Marine Biology*, 1995, vol. 124, no. 1, pp. 17–25. <https://doi.org/10.1007/BF00349142>
 21. Kjørsvik E., Pittman K., Pavlov D. From fertilisation to the end of metamorphosis – functional development. In: *Culture of cold-water marine fish* / E. Moksness, E. Kjørsvik, Y. Olsen (Eds). Oxford : Blackwell Publ. Ltd, 2004, pp. 204–278. <http://doi.org/10.1002/9780470995617.ch6>
 22. Kondakova E. A., Efremov V. I. Morphofunctional transformations of the yolk syncytial layer during zebrafish development. *Journal of Morphology*, 2014, vol. 275, iss. 2, pp. 206–216. <https://doi.org/10.1002/jmor.20209>
 23. Polat H., Özen M. R., Keskin S. Y. The embryonic development of Black Sea turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758) eggs in different incubation temperatures and salinities. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2018, vol. 18, no. 3, pp. 475–482. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v18_3_13
 24. Tong S., Xu H., Liu Q. H., Li J., Xiao Z. Z., Ma D. Y. Stages of embryonic development and changes in enzyme activities in embryogenesis of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture International*, 2013, vol. 21, iss. 1, pp. 129–142. <https://doi.org/10.1007/s10499-012-9540-6>

**MORPHOLOGICAL FEATURES
OF THE BLACK SEA TURBOT (*SCOPHTHALMUS MAEOTICUS*)
DURING THE PERIOD OF EMBRYONIC DEVELOPMENT**

A. N. Khanaychenko and V. E. Giragosov

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: a.khanaychenko@gmail.com

Black Sea turbot (hereinafter BST), *Scophthalmus maeoticus* (Pallas, 1814), is a valuable fish for commercial fishery and promising object of industrial mariculture. Potential fecundity of BST is very high, 3–13 million eggs; however, survival of its progenies during early development in the sea is unpredictable and low (mortality is up to 90 %). In nature fertilized pelagic BST eggs rise to the sea surface in 2–3 hours; BST develop in upper waters being part of neuston till hatching. BST on its early stages of development could be considered the most vulnerable as the embryo is exposed to diverse adverse effects. The survival and physiological state of the larvae at hatching till exogenous feeding depend on the norm of morphological characteristics of the embryos during their development. Our aim was to study the norm of the changes in BST morphological characteristics during embryogenesis. Morphological analysis of the BST embryogenesis stages from fertilization till hatching on the basis of detailed study of intact embryos (> 2000 eggs) sampled from different experimental batches incubated under experimental conditions is presented. Digital photos and videos of alive eggs were taken with Canon PowerShot A720 using binocular microscope MBS-10 at magnification 8×4 and under light inverted microscope Nikon Eclipse TS100, equipped with analog camera, at magnification ×4, ×10, and ×40. The morphological features of embryogenesis in BST before and after fertilization, cleavage, blastulation, gastrulation, epiboly, and neurulation and until hatching are presented by photos with detailed description of transforming embryological structures. Fertilized pelagic BST eggs covered by transparent shell vary from (1.26 ± 0.14) to (1.31 ± 0.15) mm in diameter, have homogeneously distributed yolk and a single round transparent oil drop of 0.20–0.21 mm, positioned at the top of the yolk. Scale of timing of morphological changes is presented in relative time units (as a time interval from fertilization until the emergence of morphological structure in percentage of the total duration of embryogenesis, % RT). Cleavage starts at 2.5 % RT. Cell division desynchronizes between the 6th and 7th cleavage, at 128 blastomeres. Yolk syncytial layer controlling processes of epiboly, cells differentiation, and morphogenesis is formed during the 10th–11th mitotic cycle (12 % RT, about 512–1024 cells). From the germ ring registered at 21 % RT, the embryonic shield develops (at 25 % RT), and organize formation of embryonic axis from 20 to 50 % epiboly (31 % RT). During 70–75 % epiboly (40–45 % RT), the neural keel is formed; notochord and optical primordia become visible; Kupffer's vesicle emerges at the start of segmentation. Optic cups develop, and more than 20 somites are observed at the end of epiboly (49 % RT). By 60 % RT the Kupffer's vesicle disappears in tail bud formed; lens placodes are formed in optic cups. Notochord vacuolization, myotomes formation, and tail growth are observed by 65 % RT. The caudal part of the body separates from the yolk by 70–75 % RT. About 80 % RT neuromuscular activity starts; heart beating initiates; free tail covers more than 60 % of the yolk; differentiating xantophores give a pinkish hue to the embryo. By 90–95 % RT eye cups with lenses; three symmetric otic capsules with otoliths, melanophores, and xantophores present in the embryo with 33–38 body somites; it performs jerky movements. Prior hatching, the egg shell becomes elastic, stretches, and breaks in the head area. Hatching occurs 114–94 hours after fertilization at +14...+16 °C. By hatching, all organs are formed in bilateral symmetrical BST larva (standard length is (2.53 ± 0.13) to (2.91 ± 0.10) mm), three auditory chambers with otoliths exist, eyes are non-pigmented, intestinal tract is closed; within 3–5 days it develops at the expense of yolk. Description of morphological changes in the BST embryo at norm of development could be used for elaboration of criteria of developing BST eggs both in natural environment and under cultivation conditions.

Keywords: Black Sea turbot, embryogenesis, morphology, *Scophthalmus maeoticus*

УДК 576.89:597.556.337.7(265.72)

ПЕРВЫЕ ДАННЫЕ О ДВУСТВОРЧАТЫХ МИКСОСПОРИДИЯХ КЕФАЛЕВЫХ РЫБ ЗАЛИВА НЯЧАНГ (ВЬЕТНАМ)

© 2019 г. В. М. Юрахно¹, Ха Во Тхи²

¹Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация

²Совместный российско-вьетнамский тропический научно-исследовательский и технологический центр,
Нячанг, Вьетнам

E-mail: viola_taurica@mail.ru

Поступила в редакцию 07.05.2019; после доработки 29.07.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Кефалевые рыбы являются объектом промысла во Вьетнаме; некоторых из них разводят на рисовых чеках. Интенсивное развитие в этой стране марикультуры рыб, а также большая доля гидробионтов в рационе населения требуют знаний не только о видовом составе паразитов, но и об их жизненных циклах, патогенности, медицинском и эпизоотологическом значении. Фауна морских микроспоридий в этом районе изучена крайне слабо. В пресноводных видах Вьетнама известно 36 видов и 10 не идентифицированных до вида микроспоридий; в морских рыбах найдено 7 видов и 9 не определённых до вида *Mухоспора*. В марте — апреле 2018 г. в заливе Нячанг (Вьетнам, Восточное море) на предмет обнаружения микроспоридий методом неполного паразитологического вскрытия исследовали 71 экз. рыб 7 видов из сем. *Mugilidae* (4 экз. *Chelon planiceps*, 25 экз. *Valamugil speigleri*, 10 экз. *V. formosae*, 1 экз. *Planiliza subviridis*, 19 экз. *Paramugil parmatus*, 9 экз. *Mugil cephalus*, 3 экз. *Moolgarda seheli*). Все органы просматривали под биноклем Olympus SZ61 при увеличении от $\times 15$ до $\times 25$. Мазки из тканей различных органов рыб исследовали на микроскопе Olympus CKX53 с фазовым контрастом при увеличении $\times 400$ и на микроскопе Olympus CX41 с цифровой камерой Olympus SC50 и фазовым контрастом при увеличении $\times 800$. Микроспоридий фиксировали в глицерин-желатине по общепринятой методике. Промеры паразитов базировались на 20 спорах *Mухоболус спинакриватура*, 25 спорах *Sphaerospora dicentrarchi* и 10 спорах *Henneguya* sp. Все промеры выполнены по стандартной методике. Для оценки численности паразитов использованы показатели экстенсивности и интенсивности инвазии. Получены первые сведения о микроспоридиях отр. *Bivalvulida* кефалевых рыб залива Нячанг: найдены *Mухоболус спинакриватура* в жёлчном пузыре и кишечнике у 78 % лобана *M. cephalus* при интенсивности инвазии, составляющей единичные споры в мазке из жёлчного пузыря и 5–11 цист в кишечнике; *Sphaerospora dicentrarchi* в жёлчном пузыре у 5 % черноплавничных хелонов *Paramugil parmatus*, 12 % *Valamugil speigleri*, 20 % *V. formosae* и 56 % *Mugil cephalus* при интенсивности инвазии, составляющей единичные споры в мазке; *Henneguya* sp. в жёлчном пузыре 8 % *V. speigleri* и 10 % *V. formosae* при интенсивности инвазии, составляющей единицы, десятки спор в мазке. Сделаны описания обнаруженных видов. Указано их распространение в других регионах Мирового океана. *S. dicentrarchi* — новый вид в фауне Восточного моря и Вьетнама. Он был найден не только в известном для него в других регионах *M. cephalus*, но и в новых хозяевах — *P. parmatus*, *V. speigleri* и *V. formosae*. *Mухоболус спинакриватура* впервые констатирован в заливе Нячанг. *Mухоболус спинакриватура* и *Sphaerospora dicentrarchi* известны от лобана в бассейне не только Тихого, но и Атлантического океана, поэтому предполагается, с учётом связи этих водоёмов в глубокой древности, наличие у каждого из данных паразитов в прошлом единого большого ареала, который затем был разорван вследствие мощных геологических преобразований нашей планеты.

Ключевые слова: микроспоридии, *Mухоболус спинакриватура*, *Sphaerospora dicentrarchi*, *Henneguya* sp., кефалевые рыбы, Вьетнам

Исследование паразитофауны кефалей, обитающих в прибрежных водах Вьетнама, имеет как практический, так и теоретический интерес. Кефалевые рыбы являются популярным объектом промысла во Вьетнаме, а некоторых из них разводят на рисовых чеках. Интенсивно развивающаяся в этой стране марикультура рыб, а также большая доля гидробионтов в рационе питания населения требуют знаний не только о видовом разнообразии их паразитов, но и об их жизненных циклах, патогенности, медицинском и эпизоотологическом значении. Между тем во Вьетнаме фауна морских микроспоридий, в том числе паразитов кефалей, изучена крайне слабо.

Эту группу микропаразитов исследовали ранее преимущественно в пресных водоёмах Вьетнама: имеются сведения о 33 видах и о 5 не определённых до вида пресноводных Мухоспореа [6]. Также опубликована статья [10] с описаниями и рисунками 36 видов и 10 не определённых до вида микроспоридий пресноводных рыб Вьетнама, относящихся к 6 родам 4 семейств отр. Bivalvulida. Первые находки морских микроспоридий в рыбах Вьетнама относятся к последнему десятилетию: это описание *Meglitschia insolita*, а также не определённых до вида микроспоридий, принадлежащих к 2 родам (7 *Ceratomyxa* spp. и 1 *Muxobolus* sp.), которые паразитируют в груперах и баррамунди [19]. Первые исследования многостворчатых микроспоридий Восточного моря с привлечением методов молекулярной генетики охватили изучение *Unicapsula pyramidata* в *Nemipterus japonicus* [18], *Kudoa monodactyli* из *Monodactylus argenteus* [14] и *Kudoa scomberomori* из *Scomberomorus guttatus* [15]. Для кефалевых рыб указаны *Kudoa iwatai*, *Muxobolus exiguus*, *M. spinacurvatura*, *Davisia* sp. [1]. Недостаток сведений о морских микроспоридиях Вьетнама побудил нас заняться исследованием фауны этих паразитов в практически не изученном по данному направлению заливе Нячанг.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

С 26 марта по 15 апреля 2018 г. в заливе Нячанг Восточного моря на предмет обнаружения микроспоридий исследован 71 экз. рыб 7 видов сем. Mugilidae (4 экз. *Chelon planiceps* общей длиной 21–22 см; 25 экз. *Valamugil speigleri* длиной 11,50–19,40 см; 10 экз. *V. formosae* длиной 12–13 см; 1 экз. *Planiliza subviridis* длиной 20,5 см; 19 экз. *Paramugil parvatus* длиной 13–21 см; 9 экз. *Mugil cephalus* длиной 34–40 см; 3 экз. *Moolgarda seheli* длиной 32–37 см).

Рыб обследовали методом неполного паразитологического вскрытия [2]. Жабры, желудок, кишечник, печень, селезёнку, почки, сердце, мышцы просматривали под бинокляром Olympus SZ61 при увеличении от $\times 15$ до $\times 25$. Мазки из тканей различных органов исследовали на микроскопе Olympus CKX53 с фазовым контрастом при увеличении $\times 400$, а также на микроскопе Olympus CX41 с цифровой камерой Olympus SC50 и с фазовым контрастом при увеличении $\times 800$. Найденные микроспоридии фиксировали в глицерин-желатине по общепринятой методике [3]. Промерили 20 спор *Muxobolus spinacurvatura*, 25 спор *Sphaerospora dicentrarchi* и 10 спор *Henneguia* sp. при камеральной обработке желатин-глицериновых препаратов. Все промеры выполняли по стандартной методике [11]. Для оценки численности паразитов использовали стандартные показатели — экстенсивность (ЭИ) и интенсивность (ИИ) инвазии [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

***Muxobolus spinacurvatura* Maeno et al., 1990 (рис. 1).**

Хозяин: лобан *Mugil cephalus*.

Локализация: жёлчный пузырь, кишечник.

Показатели численности: ЭИ = 78 %; ИИ — единичные споры в мазке из жёлчного пузыря, 5–11 цист в кишечнике.

Описание: цисты округлые, бело-серого цвета, диаметром 0,2–3,0 мм. Споры крупные, овальные, или широко-овальные, или округлые. Полярные капсулы не достигают середины длины споры. Нет интеркапсулярного отростка.

Размеры спор: длина 9,65*–12,16; ширина 8,14–9,76; толщина 6,45–6,50; длина полярных капсул 4,08–5,26; их ширина 2,17–3,33; длина полярной нити 8,92–39,12.

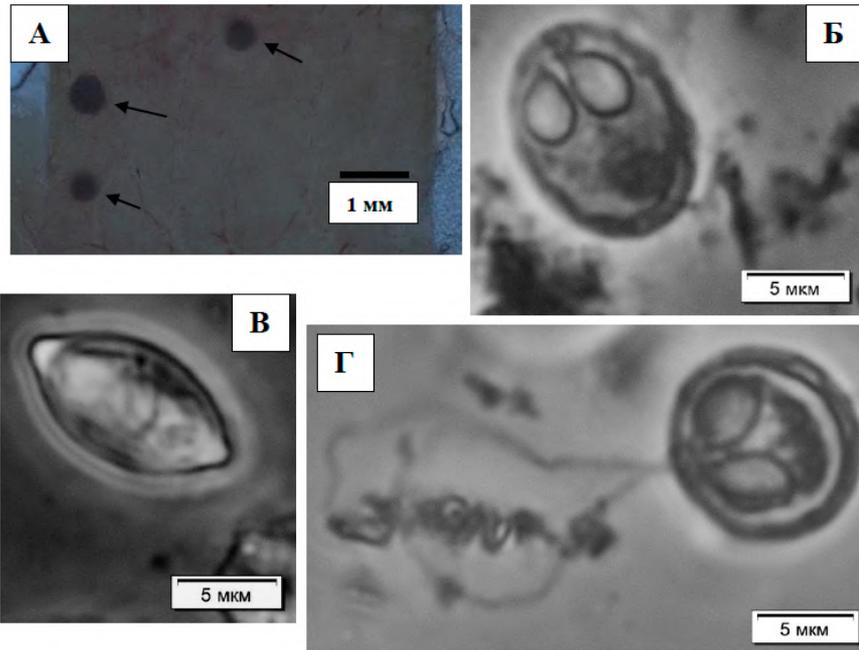


Рис. 1.

А — псевдоциста *Myxobolus spinacurvatura* в кишечнике *Mugil cephalus*, увеличение $\times 20$;
Б — овальная спора, вид спереди;
В — спора, вид сбоку;
Г — круглая спора с выстреленной полярной нитью, увеличение $\times 800$

Fig. 1.

А – pseudocyst of *Myxobolus spinacurvatura* in the intestine of *Mugil cephalus*, magnification $\times 20$;
Б – oval spore, front view;
В – spore, side view;
Г – round spore with the shot polar filament, magnification $\times 800$

Myxobolus spinacurvatura ранее был найден в том же хозяине — лобане — в Средиземном, Чёрном, Азовском, Японском морях и в Тихом океане у берегов Австралии и Японии [20]. Места локализации — кишечник, печень, жёлчный пузырь, селезёнка, мезентерий, мозг, печень, поджелудочная железа, жабры. По нашим данным, размеры и форма спор *M. spinacurvatura* из регионов Черноморско-Азовского бассейна, Средиземного и Японского морей идентичны. Выявленные нами во вьетнамском материале споры *M. spinacurvatura* отличаются от обнаруженных у австралийского побережья несколько меньшими размерами как самих спор, так и полярных капсул [12]. Характерной чертой найденного во вьетнамских водах *M. spinacurvatura* является отсутствие у него чётко просматриваемых 12 меток на шовном валике, которые обычно заметны в виде тёмного пунктира.

Myxobolus spinacurvatura найден в заливе Нячанг впервые.

***Sphaerospora dicentrarchi* Sitja-Bobadilla et Alvarez-Pellitero, 1992** (рис. 2).

Хозяин: черноплавничный хелон *Paramugil parmatus*, *Valamugil speigleri*, *V. formosae*, лобан *Mugil cephalus*.

Локализация: жёлчный пузырь.

Показатели численности: ЭИ = 5 % в *Paramugil parmatus*, ЭИ = 12 % в *V. speigleri*, ЭИ = 20 % в *V. formosae*, ЭИ = 56 % в *M. cephalus*; ИИ — единичные споры в мазке.

Описание: споры очень мелкие и асимметричные. В ракурсе сбоку форма близка к каплевидной или округлой. Передний полюс споры сужен и слегка заострён, задний — расширен и несколько уплощён. В ином ракурсе форма споры близка к треугольной, причём с одной стороны она выпуклая, а с другой — уплощённая, с небольшой вогнутостью в средней части. Створки лишены исчерченности и имеют неравные размеры. Тонкая шовная линия слегка изогнута. Грушевидные полярные капсулы равных размеров, они располагаются по обе стороны от шовной линии и открываются вблизи переднего полюса споры.

Размеры спор: длина 4,61–6,11; ширина 3,48–3,69; толщина 3,67–5,06; длина полярных капсул 1,41–1,94; их ширина 0,84–1,19.

*Здесь и далее все промеры спор и полярных капсул приведены в микрометрах (μm).

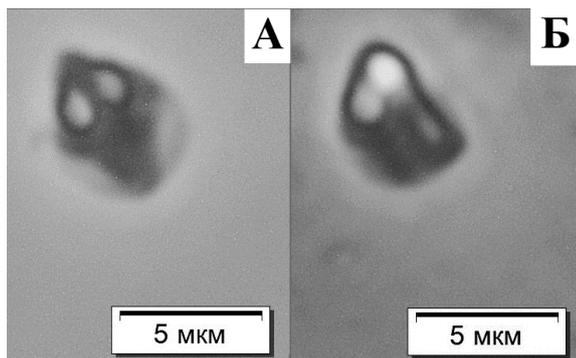


Рис. 2.
Споры *Sphaerospora dicentrarchi* из жёлчного пузыря *Valamugil speigleri*:
А — вид спереди;
Б — вид сбоку.
Увеличение $\times 800$

Fig. 2.
Spores of *Sphaerospora dicentrarchi* from gall bladder of *Valamugil speigleri*:
A – front view;
B – side view.
Magnification $\times 800$

Sphaerospora dicentrarchi впервые описана из жёлчного и плавательного пузыря, кишечника, желудка, почек, селезёнки, поджелудочной железы, гонад и серозной оболочки лаврака *Dicentrarchus labrax* в Средиземном море [17]. Позднее этот вид был найден в жёлчном пузыре, кишечнике, почках кефалевых рыб в Чёрном, Азовском и Средиземном морях [5, 16, 20], а также в Восточной Атлантике [5]. Кефалевая форма *S. dicentrarchi* отличается от формы из лаврака несколько большей длиной и меньшей толщиной спор, а также большей длиной полярных капсул. Вьетнамская форма имеет немного бóльшую длину спор, несколько меньшие ширину и толщину спор, длину и ширину полярных капсул, чем представители этого вида от кефалей из Атлантики и её морей. Эти незначительные различия могут являться результатом географической удалённости мест находок данного вида.

S. dicentrarchi обнаружен в Восточном море и во Вьетнаме впервые. Новые хозяева этого паразита в данном регионе — *Paramugil parmatius*, *Valamugil speigleri* и *V. formosae*.

Характерным для вышеуказанных видов микроспоридий (*Muxobolus spinacurvatura* и *Sphaerospora dicentrarchi*) является то, что у них имеется общий хозяин — лобан *Mugil cephalus*. Известно, что *Muxobolus spinacurvatura* ранее был найден в этом виде рыб в Средиземном море (Испания, Тунис), Чёрном, Азовском и Японском морях (Россия), в Тихом океане (Австралия, Япония). *Sphaerospora dicentrarchi* встречалась в лобане из Чёрного, Азовского (Россия) и Средиземного (Испания, Италия) морей, а также из восточной части Атлантического океана (Центрально-Восточная Атлантика) (см. ссылки в описаниях видов). С учётом того, что в самом конце неогенового периода кайнозойской эры Атлантический и Тихий океаны в течение некоторого времени соединялись широким проливом [4], можно предположить наличие у каждого из указанных видов паразитов в прошлом единого большого ареала, который затем был разорван вследствие мощных геологических преобразований нашей планеты.

***Henneguya* sp.** (рис. 3).

Хозяин: *Valamugil speigleri*, *V. formosae*.

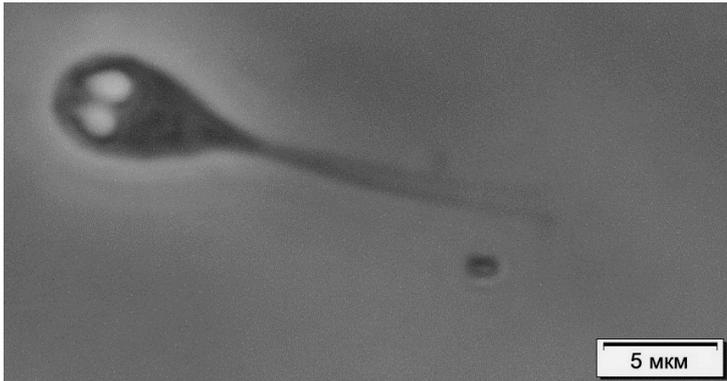
Локализация: жёлчный пузырь.

Показатели численности: ЭИ = 8 % в *Valamugil speigleri*, ЭИ = 10 % в *V. formosae*; ИИ — единицы, десятки спор в мазке.

Описание: споры удлинённо-овальные, с закруглённым передним и суженным задним полюсами. Полярные капсулы грушевидные, занимают менее половины полости споры. Их выводящие каналы не сближены. Два хвостовых отростка имеют среднюю длину.

Размеры спор: общая длина спор с хвостовыми отростками 16,66–24,17; длина спор без хвостовых отростков 7,64–8,42; ширина спор 4,38–6,49; длина полярных капсул 2,03–2,88; их ширина 1,25–1,46.

Этот вид отличается по форме и размерам спор от всех известных видов рода *Henneguya*. Из видов, найденных ранее во Вьетнаме, по форме спор к нашему виду наиболее близок *Henneguya* sp. 1 sensu [10] от пресноводной рыбы *Pangasianodon hypophthalmus*, но по размерам спор он отличается значительно.

**Рис. 3.**

Спора *Henneguia* sp. из жёлчного пузыря *Valamugil speigleri*.
Увеличение ×800

Fig. 3.

Spore of *Henneguia* sp. from gall bladder of *Valamugil speigleri*.
Magnification ×800

В кефалях известен только один идентифицированный до вида представитель рода *Henneguia* — *H. ouakamensis* из сердца и жабр лобана *M. cephalus* у берегов Сенегала (Атлантический океан) [8, 13]; также был обнаружен *Henneguia* sp. из сердца того же хозяина и из того же региона [9]. От *H. ouakamensis* найденный нами вид отличается значительно меньшими длиной спор без хвостовых отростков, шириной спор и размерами полярных капсул.

Хотя отличия от известных видов данного рода весьма существенны, очень незначительное число спор *Henneguia* sp., которое нам удалось обнаружить в исследованных кефалевых рыбах, и большая их изменчивость не позволяют описать этот вид как новый.

Выводы:

1. *S. dicentrarchi* — новый вид в фауне Восточного моря и Вьетнама.
2. Новыми хозяевами *S. dicentrarchi* в Восточном море оказались *Paramugil parmatus*, *Valamugil speigleri* и *V. formosae*.
3. *Mухоболус spinacurvatura* указан в заливе Нячанг впервые.
4. У *S. dicentrarchi* и *M. spinacurvatura* в прошлом, возможно, был единый большой ареал, который затем был разорван вследствие мощных геологических преобразований нашей планеты.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана» (№ гос. регистрации АААА-А18-118020890074-2) и государственного задания Совместного российско-вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра (ЭКОЛАН Э-3) по теме «Сохранение, восстановление и устойчивое использование морских прибрежных экосистем на основе изучения их структурно-функциональной организации» (n/p 8 «Состав видов и структура сообществ паразитов кефалевых рыб залива Нячанг») с использованием материалов ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» ФИЦ ИнБЮМ.

Благодарности. Авторы благодарны дирекции ФИЦ ИнБЮМ, ИПЭЭ РАН и Совместного российско-вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра (и лично начальнику отдела экологии Нгуен Тхи Хай Тхань) за предоставленную возможность провести исследование в малоизученном в паразитологическом отношении регионе Вьетнама, а также за создание хороших условий для сбора и камеральной обработки материала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Асеева Н. Л., Чин Н. Н. Микроспоридии – паразиты кефалей из западной части Тихого океана // *Современная паразитология – основные тренды и вызовы* : материалы VI Съезда паразитологического общества, Междунар. конф., 15–19 октября 2018 г. / Зоологический институт РАН ; ред.: К. В. Галактионов, С. Г. Медведев, А. Ю. Рысс, Ф. О. Фролов. Санкт-Петербург : Изд-во «Лема», 2018. С. 20. [Aseeva N. L., Chinh N. N. Mухosporea parasites of mullets from the West Pacific. In: *Sovremennaya parazitologiya – osnovnye trendy i vyzovy* : materialy VI S"ezda parazitologicheskogo obshchestva, Mezhdunar. konf., 15–19 Oct., 2018 / Zoologicheskii

- institut RAN ; K. V. Galaktionov, S. G. Medvedev, A. Yu. Ryss, F. O. Frolov (Eds). Sankt-Petersburg : Izd-vo "Lema", 2018, pp. 20. (in Russ.)]
2. Быховская-Павловская И. Е. *Паразиты рыб: руководство по изучению. Методы зоологических исследований – практике*. Ленинград : Наука, Ленингр. отд-ние, 1985. 123 с. [Bykhovskaya-Pavlovskaya I. E. *Parazity ryb: rukovodstvo po izucheniyu. Metody zoologicheskikh issledovaniy – praktike*. Leningrad : Nauka, Leningr. otd-nie, 1985, 123 p. (in Russ.)]
 3. Донец З. С., Шульман С. С. О методах исследования Мухосporidia (Protozoa, Cnidosporidia) // *Паразитология*. 1973. Т. 7, вып. 2. С. 191–193. [Donets Z. S., Shul'man S. S. O metodakh issledovaniya Muxosporidia (Protozoa, Cnidosporidia). *Parazitologiya*, 1973, vol. 7, iss. 2, pp. 191–193. (in Russ.)]
 4. *Жизнь животных* : в 7 т. / гл. ред. В. Е. Соколов. Москва : Просвещение, 1987. Т. 1. Простейшие. Пластинчатые. Губки. Кишечнополостные. Гребневики. Плоские черви. Немертины. Круглые черви. Кольчатые черви. Щупальцевые / под ред. Ю. И. Полянского ; 2-е изд. 448 с. [*Zhizn' zhivotnykh* : in 7 vols / V. E. Sokolov (Ed.). Moscow : Prosveshchenie, 1987, vol. 1. Prosteishie. Platinchatye. Gubki. Kishechnopolostnyye. Grebneviki. Ploskie chervi. Nemertiny. Kruglye chervi. Kol'chatye chervi. Shchupal'tsevye / Yu. I. Polyanskii (Ed.) ; 2nd edition, 448 p. (in Russ.)]
 5. Юрахно В. М., Мальцев В. Н. Новые сведения о миксоспоридиях кефалевых рыб в бассейне Атлантического океана // *Экология моря*. 2002. Вып. 61. С. 39–42. [Yurakhno V. M., Mal'tsev V. N. New data on myxosporeans of mullets in the Atlantic Ocean basin. *Ekologiya morya*, 2002, iss. 61, pp. 39–42. (in Russ.)]
 6. Arthur J. R., Te B. Q. *Checklist of the parasites of fishes of Viet Nam*. Rome : FAO, 2006, 133 p. (FAO fisheries technical paper ; 369/2).
 7. Bush A. O., Lafferty K. D., Lotz J. M., Shostak A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. *Journal of Parasitology*, 1997, vol. 83, no. 4, pp. 575–583. <http://doi.org/10.2307/3284227>
 8. Eiras J. C. Synopsis of the species of the genus *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporidia: Myxobolidae). *Systematic Parasitology*, 2002, vol. 52, pp. 43–54. <https://doi.org/10.1023/A:1015016312195>
 9. Faye N., Kpatcha K., Fall M., Toguebaye B. S. Heart infections due to myxosporean (Myxozoa) parasites in marine and estuarine fishes from Senegal. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 1997, vol. 17, no. 3/4, pp. 115–117.
 10. Ha K., Bui Q. T. [*Parasites on fresh water fish in Vietnam*] / Thu Huong, Van Su (Eds). Hanoi : Science and Technics Publishing House, 2007, 360 p. (in Vietnamese.)
 11. Lom J., Dyková I. *Protozoan parasites of fishes*. Amsterdam : Elsevier, 1992, 316 p. (Developments in Aquaculture and Fisheries Science ; vol. 26).
 12. Lom J., Dyková I. Studies on protozoan parasites of Australian fishes: III. Species of the genus *Myxobolus* Bütschli, 1882. *European Journal of Protistology*, 1994, vol. 30, iss. 4, pp. 431–439. [https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(11\)80218-X](https://doi.org/10.1016/S0932-4739(11)80218-X)
 13. Kpatcha T. K., Faye N., Diebekate C., Fall M., Toguebaye B. S. Nouvelles espèces d'Henneguya Thélohan, 1895 (Myxozoa, Myxosporidia) parasites des poissons marins du Sénégal: Étude en microscopie photonique et électronique. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie, 13e Série*, 1997, vol. 18, pp. 81–91.
 14. Nguyen N. Ch., Nguyen V. D., Nguyen V. H., Ha D. N., Dang X. N. [A Protozoa species, *Kudoa monodactyli* Gunter, 2006 (Multivalvulida: Kudoidae), in the muscle of some coastal marine fishes in Quang Binh province]. In: *Proceeding of the 42nd Vietnam National Conference of Parasitology, báo cáo khoa học toàn văn* (Cua Lo, Nghe An, 2–3 April, 2015). Publishing house for science and technology, 2015, pp. 273–280. (in Vietnamese.)
 15. Nguyen N. Ch., Ha D. N., Nguyen H. D., Nguyen T. L., Pham N. D. [Morphological and molecular characteristics of *Kudoa scomberomori* (Myxosporidia: Kudoidae) firstly found from the Indo-Pacific king mackerel *Scomberomorus guttatus* (Scombridae) in Quang Binh province, Vietnam]. *Tạp chí Sinh Học*, 2018, vol. 40, no. 1, pp. 1–6. (in Vietnamese.)
 16. Quaglio F., Delgado M. L., Caffara M., Florio D., Marcer F., Fioravanti M. L., Restani R. Histopathological observations in marine farmed fish infected by Myxosporidia. II. Osservazioni istopatologiche in pesci marini d'allevamento affetti da mixosporidiosi. *Bollettino Società Italiana di Patologia Ittica*, 2002, vol. 14, no. 34, pp. 44–67.
 17. Sitja-Bobadilla A., Alvarez-Pellitero P. Light and electron microscopic description of *Sphaerospora dicentrarchi* n. sp. (Myxosporidia)

- Sphaerosporidae) from wild and cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *The Journal of Protozoology*, 1992, vol. 39, iss. 2, pp. 273–281. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1992.tb01314.x>
18. Tomochi H., Li Y.-Ch., Tran B. T., Yanagida T., Sato H. Three *Unicapsula* species (Myxosporea: Trilosporidae) of Asian marine fishes, including the description of *Unicapsula setoensis* n. sp. in the yellowfin goby (*Acanthogobius flavimanus*) from the Inland Sea of Japan. *Parasitology Research*, 2014, vol. 113, iss. 10, pp. 3807–3816. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4048-9>
19. Vo T. D., Bristow G. A., Nguyen H. D., Vo T. D., Nguyen N. T. N. *The Parasites of Grouper and Sea Bass in Vietnam*. Ho Chi Minh : Agricultural Publishing House, 2012. 178 p.
20. Yurakhno V. M., Ovcharenko M. O. Study of Myxosporea (Myxozoa), infecting worldwide mullets with description of a new species. *Parasitology Research*, 2014, vol. 113, iss. 10, pp. 3661–3674. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4031-5>

FIRST DATA ON BIVALVULIDA MYXOSPOREANS OF NHA TRANG BAY MULLET (VIETNAM)

V. M. Yurakhno¹ and Ha Vo Thi²

¹A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation

²Vietnam-Russia Tropical Centre, Nha Trang, Vietnam

E-mail: viola_taurica@mail.ru

Mullets are objects of fishery in Vietnam; some of them are raised in rice paddies. Intensive development of fish mariculture in this country, as well as a large proportion of hydrobionts in the population diet, requires knowledge not only of the species composition of parasites, but also of their life cycles, pathogenicity, medical and epizootiological significance. The fauna of marine myxosporeans in this area has been studied very poorly. Totally 36 species of Myxosporea in freshwater fishes of Vietnam are known and 10 are not identified; 7 species of myxosporeans are found in marine fishes and 9 are not identified. In March – April of 2018 in the Nha Trang Bay (Vietnam, South China Sea, which the Vietnamese call the East Sea) 71 specimens of 7 species of Mugilidae fish were examined for identifying myxosporeans by the method of incomplete parasitological autopsy (4 specimens *Chelon planiceps*, 25 specimens *Valamugil speigleri*, 10 specimens *V. formosae*, 1 specimen *Planiliza subviridis*, 19 specimens *Paramugil parmatus*, 9 specimens *Mugil cephalus*, 3 specimens *Moolgarda seheli*). All organs were examined under Olympus SZ61 binocular microscope at magnification from $\times 15$ to $\times 25$. Smears from the tissues of various fish organs were examined under Olympus CKX53 microscope with phase contrast at magnification $\times 400$ and under Olympus CX41 microscope with the Olympus SC50 digital camera and phase contrast at magnification $\times 800$. Myxosporeans were fixed in glycerol-gelatin according to the standard technique. Parasite measurements were based on 20 *Myxobolus spinacurvatura* spores, 25 *Sphaerospora dicentrarchi* spores, and 10 *Henneguya* sp. spores. All measurements were carried out by the standard method. To assess the number of parasites, data on prevalence and intensity of invasion were used. The first data on Bivalvulida myxosporeans of Mugilidae fish in Nha Trang Bay were obtained: *Myxobolus spinacurvatura* was found in the gallbladder and intestine of 78 % *Mugil cephalus* with the intensity of invasion of unit spores in the gallbladder smear and 5–11 cysts in the intestine; *Sphaerospora dicentrarchi* was found in the gallbladder of 5 % *Paramugil parmatus*, 12 % *Valamugil speigleri*, 20 % *V. formosae* and 56 % *Mugil cephalus* with the intensity of invasion of unit spores in the smear; *Henneguya* sp. was found in the gallbladder of 8 % *V. speigleri* and 10 % *V. formosae* with the intensity of invasion of unit, tens of spores in the smear. Description of the revealed species was made. Their distribution in other regions of the World Ocean was considered. *S. dicentrarchi* turned out to be a new species for the fauna of the East Sea and Vietnam. This species was found not only in *Mugil cephalus*, the typical host in other regions, but also in new hosts *Paramugil parmatus*, *Valamugil speigleri*, and *V. formosae*. *Myxobolus spinacurvatura* was first found in the Nha Trang Bay. Since *Myxobolus spinacurvatura* and *Sphaerospora dicentrarchi* are known in *Mugil cephalus* not only in the Pacific Ocean basin but also in the Atlantic Ocean one, taking into account the connection of these water bodies in ancient times, it is assumed that each of these parasites had a common large distribution area in the past, which was then broken due to powerful geological transformations of our planet.

Keywords: myxosporeans, *Myxobolus spinacurvatura*, *Sphaerospora dicentrarchi*, *Henneguya* sp., Mugilidae fish, Vietnam

ЗАМЕТКИ

УДК 582.261.1:58.035.7

**ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРОСЛИ
CYLINDROTHECA CLOSTERIUM (EHRENBERG) REIMANN ET LEWIN, 1964**

© 2019 г. А. И. Акимов, Н. Ю. Шоман, Е. С. Соломонова

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: n-zaichencko@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.09.2019; после доработки 15.11.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Исследованы флуоресцентные характеристики диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium*, предварительно выращиваемой при интенсивности света 17, 200 и 800 мкЭ·м⁻²·с⁻¹. Показана возможность применения флуоресцентных параметров для экспресс-оценки общего функционального состояния водорослей и для выявления диапазона оптимальных для их роста освещённостей. Параметр Fv/Fm позволяет в экспресс-режиме оценивать функциональное состояние водорослей в условиях их интенсивного культивирования. Показано, что максимальный коэффициент переменной флуоресценции (Fv/Fm) составлял 0,65–0,7 для водорослей, растущих при освещённости 17 и 200 мкЭ·м⁻²·с⁻¹, и снижался до 0,48–0,57 для водорослей, адаптированных к интенсивности света 800 мкЭ·м⁻²·с⁻¹. Получены световые зависимости скорости электронного транспорта и фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, а также значения коэффициента Fv'/Fm'. Эти параметры показывают степень устойчивости водорослей к уровню светового фактора. Показано, что оптимальной для роста *C. closterium* является насыщающая освещённость около 200 мкЭ·м⁻²·с⁻¹. Высокие значения флуоресценции на единицу хлорофилла при экстремальной освещённости (800 мкЭ·м⁻²·с⁻¹) могут указывать на степень инактивации части реакционных центров фотосистемы II.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, флуоресценция, биоиндикация

Cylindrotheca closterium характеризуется высокой продуктивностью (до 1,5 г сух·л⁻¹·сут⁻¹) [1] и является перспективным источником получения каротиноида фукоксантина, содержание которого в клетках водорослей достигает 2 % от сухой массы [8]. Ввиду этого целесообразно проведение комплексного исследования по определению оптимальных условий роста *C. closterium* для её интенсивного культивирования. Одно из направлений такого анализа — оценка флуоресцентных характеристик вида, так как использование флуоресцентных параметров позволяет в экспресс-режиме (без проведения длительных и трудоёмких экспериментов) оценить условия роста и степень светолюбивости водорослей. Известно, что световые оптимумы скорости фотосинтеза и роста у разных представителей фитопланктона не совпадают, а выявление их границ является довольно сложной задачей. К примеру, диатомовая водоросль *Phaeodactylum tricornutum* относится к числу светолюбивых; оптимальные для её роста световые условия находятся в диапазоне от 150 до 850 мкЭ·м⁻²·с⁻¹ [3]. *Skeletonema costatum*, наоборот, является тенелюбивым видом с границами светового оптимума от 35 до 200–250 мкЭ·м⁻²·с⁻¹ [4].

Другой важный аспект исследования — оценка возможности применения флуоресцентных параметров в качестве индикаторов для контроля функционального состояния водорослей во время их интенсивного культивирования.

Исследуемые параметры:

1. Максимальный коэффициент переменной флуоресценции хлорофилла (Fv/Fm), характеризующий потенциальную скорость утилизации поглощённой световой энергии. Изменение значения параметра Fv/Fm считается наиболее чувствительным индикатором фотоингибирования или иного повреждения фотосистемы II [6].
2. Коэффициент переменной флуоресценции после 10-минутной адаптации к постоянному свету интенсивностью 50 и 250 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (Fv'/Fm'), имитирующей реальную эффективность использования световых квантов в естественных условиях.
3. Величины фотосинтетического (qP) и нефотосинтетического (NPQ) тушений возбуждённых состояний хлорофилла [7]. В этой публикации использован метод быстрого измерения световых зависимостей параметров флуоресценции (реализуется программным алгоритмом работы прибора), отражающих развитие qP и NPQ на свету, что позволяет регистрировать ранние изменения в функционировании фотосинтетического аппарата [5].
4. Световые зависимости (значения I от 2 до 500 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) скорости электронного транспорта (ETR), характеризующие реальную скорость электронного транспорта по цепи переносчиков электронного заряда.

Эти параметры определяли для водорослей, выращиваемых при трёх интенсивностях света — лимитирующей (17 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$), насыщающей (200 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) и ингибирующей (800 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) рост клеток. Все измерения проводили на флуориметре «Мега-25м».

Максимальный коэффициент переменной флуоресценции (Fv/Fm) для культур, растущих при освещённости 17 и 200 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, имел высокие значения — 0,65–0,7 (наибольшая величина этого параметра равна 0,83 [2]). Для водорослей, вегетирующих при ингибирующей интенсивности света 800 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, коэффициент Fv/Fm был закономерно ниже и составлял 0,48–0,57.

На фоне непрерывного освещения, когда часть реакционных центров закрыта, коэффициенты переменной флуоресценции снижались пропорционально повышению плотности светового потока. При этом для светоадаптированных клеток значения параметра были более устойчивыми. Так, при постоянной освещённости 50 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ для водорослей, адаптированных к 17 и 200 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, коэффициент Fv'/Fm' составил 0,41 и 0,48. Соответствующие значения при засветке интенсивностью 250 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ — 0,13 и 0,23.

Световой порог фотохимического тушения у *C. closterium* для тене- и светоадаптированных клеток был равен 5 и 16 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ соответственно. Нефотохимическое тушение при низких освещённостях было незначительным или отсутствовало; оно начинало возрастать с 64 и 125 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ для тене- и светоадаптированных водорослей соответственно. Максимальные абсолютные значения нефотохимического тушения у светоадаптированных водорослей (200 и 800 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) были значительно выше, чем у клеток, растущих при интенсивности света 17 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, и составляли 2,6 и 0,3 соответственно (рис. 1). Высокие значения нефотохимического тушения у светоадаптированных клеток обеспечивают им большую устойчивость к повреждающему действию ингибирующих значений светового фактора.

Световые кривые скорости электронного транспорта выходили на плато при интенсивности света около 70–100 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ и сохраняли постоянные значения до освещённости 500 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$.

В клетках водорослей, адаптированных к 800, 200 и 17 $\text{мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, содержание хлорофилла находилось в соотношении 1 : 2,5 : 10. Выход флуоресценции на единицу хлорофилла при этом имел обратную зависимость, что связано с фотодеструкцией реакционных центров фотосистемы II и уменьшением фотохимического тушения при высокой освещённости.

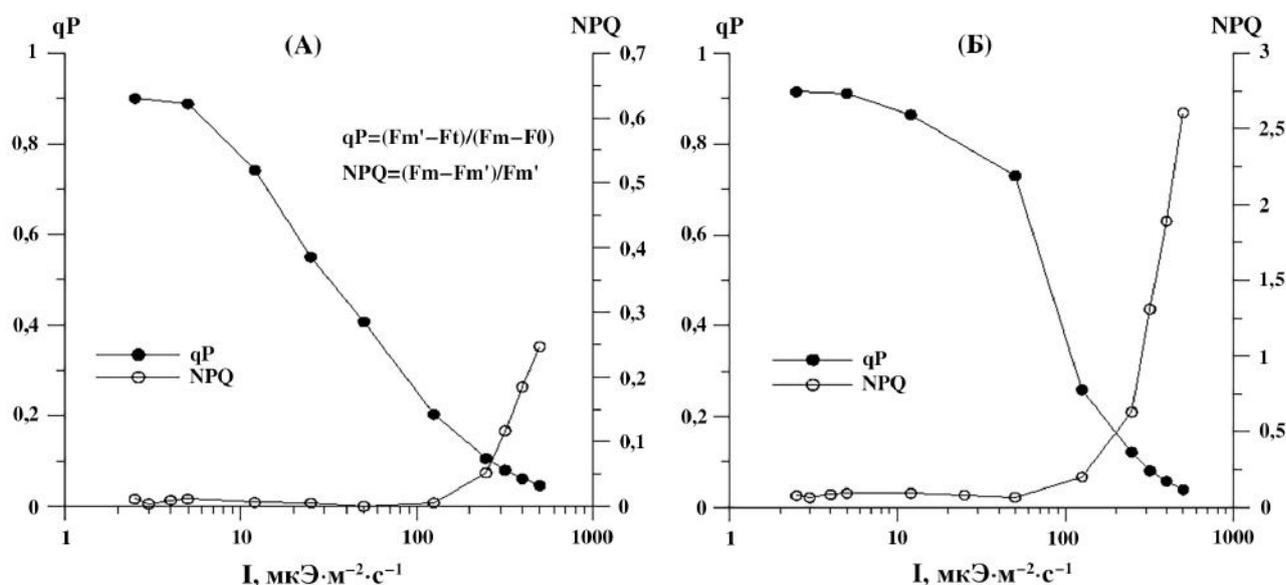


Рис. 1. Световые зависимости фотохимического (qP) и нефотохимического (NPQ) тушений флуоресценции хлорофилла диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium*, предварительно адаптированной к интенсивности света 50 (А) и 200 (Б) $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{c}^{-1}$

Fig. 1. Light response curves of photochemical (qP) and non-photochemical (NPQ) quenching of chlorophyll fluorescence of the diatom *Cylindrotheca closterium*, previously adapted to light intensities of 50 (A) and 200 (B) $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Заключение. *C. closterium* является перспективным объектом биотехнологии как потенциальный источник получения ценного каротиноида фукоксантина. Работы по интенсивному культивированию этого вида активно развиваются на базе ФИЦ ИнБЮМ. В представленной работе на примере *C. closterium* показана возможность применения флуоресцентных параметров для оценки условий роста водорослей. Основное преимущество описываемого подхода — его экспрессность, позволяющая существенно упростить выбор оптимальных условий выращивания видов. Результаты проведенного исследования демонстрируют заметные различия в значениях флуоресцентных параметров у водорослей, выращиваемых в разных условиях освещенности. Оптимальной для роста *C. closterium* является насыщающая освещенность около $200 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{c}^{-1}$. При этой интенсивности света уровень фотохимического тушения сохранял высокие значения в более широком световом диапазоне, чем в других вариантах эксперимента; значения нефотохимического тушения как защитного механизма (при фотоингибировании) были примерно на порядок выше, чем у тенеадаптированных водорослей; значения параметра F_v/F_m' также были закономерно выше, чем при других освещенностях. Культивирование *C. closterium* при интенсивности света $800 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{c}^{-1}$ вызывало необратимые изменения в фотосинтетическом аппарате водорослей (на это указывают низкие значения F_v/F_m , F_v/F_m' и ETR) и впоследствии приводило к деградации культуры. Отметим, что из исследуемого ряда флуоресцентных параметров наиболее подходящим для экспресс-оценки функционального состояния *C. closterium* в условиях её интенсивного (полупромышленного) культивирования является показатель F_v/F_m ; значения параметра должны быть выше 0,6.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ 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) и при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-34-00672.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Железнова С. Н., Геворгиз Р. Г. Интенсивная культура диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin // *Вопросы современной альгологии*. 2014. № 1 (5). [Zheleznova S. N., Gevorgiz R. G. Intensive culture of diatoms *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin. *Voprosy sovremennoi al'gologii*, 2014, no. 1 (5). (in Russ.)]. <http://algology.ru/474>
2. Маторин Д. Н., Осипов В. А., Яковлева О. В., Погосян С. И. *Определение состояния растений и водорослей по флуоресценции хлорофилла* : учеб.-метод. пособие. Москва : Изд-во Макс Пресс, 2010. 116 с. [Matorin D. N., Osipov V. A., Yakovleva O. V., Pogosyan S. I. *Opredele-nie sostoyaniya rastenii i vodoroslei po fluorestsentsii khlorofilla* : ucheb.-metod. posobie. Moscow: Izd-vo Maks Press, 2010, 116 p. (in Russ.)]
3. Шоман Н. Ю., Акимов А. И. Действие света и температуры на удельную скорость роста диатомовых водорослей *Phaeodactylum tricor-nutum* и *Nitzschia* sp. № 3 // *Морской экологический журнал*. 2013. Т. 12, № 1. С. 85–91. [Shoman N. Yu., Akimov A. I. Effect of irradiance and temperature on specific growth rate of diatoms *Phaeodactylum tricor-nutum* and *Nitzschia* sp. № 3. *Morskoi ekolo-gicheskij zhurnal*, 2013, vol. 12, iss. 1, pp. 85–91. (in Russ.)]
4. Шоман Н. Ю., Акимов А. И. Совместное действие света и температуры на удельную скорость роста диатомовой водоросли *Skeletonema costatum* // Сучасні проблеми біології, екології та хімії : зб. матеріалів III Міжнар. конф., Запоріжжя, 29 березня – 1 квітня 2012 р. Запоріжжя, 2012. С. 61–62. [Shoman N. Yu., Akimov A. I. Combined effect of light and temperature on specific growth rate of diatom *Skeletonema costatum*. In: *Suchasni problemy biolohii, ekolohii ta khimii* : zb. materialiv III Mizh-nar. konf., Zaporizhzhia, 29 March – 1 April, 2012. Zaporizhzhia, 2012, pp. 61–62. (in Russ.)]
5. Herlory O., Richard P., Blanchard G. F. Methodology of light response curves: Application of chlorophyll fluorescence to microphytobenthic biofilms. *Marine Biology*, 2007, vol. 153, iss. 1, pp. 91–101. <https://doi.org/10.1007/s00227-007-0787-9>
6. Krause G. H., Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Biology*, 1991, vol. 42, pp. 313–349. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.001525>
7. Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 2000, vol. 51, iss. 345, pp. 659–668. <https://doi.org/10.1093/jxb/51.345.659>
8. 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>

**FLUORESCENCE CHARACTERISTICS OF THE DIATOM
CYLINDROTHECA CLOSTERIUM (EHRENBERG) REIMANN ET LEWIN, 1964**

A. I. Akimov, N. Yu. Shoman, and E. S. Solomonova

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: n-zaichencko@yandex.ru

Fluorescence characteristics of the diatom *Cylindrotheca closterium* previously adapted to light intensities of 17, 200, and 800 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ were investigated. Possibility of using fluorescence parameters for express score of both the algae functional state and the identification of a range of optimal light intensities for their growth was shown. The variable fluorescence coefficient (Fv/Fm) allows to evaluate in express mode the algae functional state in intensive cultivation conditions. It was shown that the maximum of Fv/Fm was of 0.65–0.7 for algae grown at light intensities of 17 and 200 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; it decreased to 0.48–0.57 for algae adapted to light intensities of 800 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Light response curves of the electron transport rate, photochemical and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence, and the Fv'/Fm' coefficient values were obtained. These parameters indicate the degree of algae resistance to the light factor level. It was shown that saturating light intensity of about 200 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ is optimal for the growth of *C. closterium*. The high values of yield of fluorescence per chlorophyll unit under extreme light intensity (800 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) may indicate the degree of inactivation of part of photosystem II reaction centers.

Keywords: diatoms, fluorescence, bioindication

УДК 582.232(262.5)

**MICROCYSTIS WESENBERGII (KOMÁREK) KOMÁREK EX KOMÁREK, 2006
(CYANOPHYCEAE) —
НОВЫЙ ВИД ДЛЯ ПРИБРЕЖЬЯ КРЫМА ЧЁРНОГО МОРЯ**

© 2019 г. **Е. С. Мирошниченко**

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: mircyano@gmail.com

Поступила в редакцию 16.09.2019; после доработки 16.09.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Описан новый для крымского побережья Чёрного моря вид токсичной цианобактерии *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek ex Komárek, 2006, обнаруженный в результате исследования сообществ перифитона 45 образцов синтетических полимерных материалов из полиэтилентерефталата (PET), полиэтилена высокой плотности (HDPE) и полипропилена (PP), экспонированных в Карантинной бухте Чёрного моря в районе г. Севастополя (44°37'23.0"N, 33°29'38.5"E) в экспериментальной вертикальной установке с августа по сентябрь 2018 г., когда температура воды изменялась от +22,4 до +26,6 °С, а солёность воды — от 17 до 18 ‰. *M. wesenbergii* выявлен на глубине от 7,6 до 9,2 м на образцах из HDPE, PET зелёного цвета, PP и на фрагментах пластиковых контейнеров. *M. wesenbergii* — полиморфный, планктонный вид, который в небольших количествах встречается в стоячих и медленно текущих эвтрофных и мезотрофных пресноводных водоёмах; токсичен, иногда вызывает цветение; космополит, за исключением субполярных зон. Встречался в сложных колониях, которые состояли из субколоний, достигающих максимально 3700 мкм в длину. Диаметр молодых сферических колоний варьировал от 240 до 367 мкм. Диаметр клеток *M. wesenbergii* был больше диагноза [(10,19 ± 0,79) мкм], а цвет клеток — преимущественно светло-коричневым вместо сине-зелёного. Обнаружение токсичного *M. wesenbergii* в Карантинной бухте Чёрного моря свидетельствует о высоком скрытом разнообразии цианобактерий в этой акватории.

Ключевые слова: цианобактерии, Чёрное море, перифитон, синтетические полимерные субстраты

Общеизвестно, что цианобактерии играют важную роль во многих экосистемах, однако исследователи до сих пор уделяют им недостаточно внимания при изучении биологического разнообразия. К настоящему моменту известно 157 видов цианобактерий, встречающихся в планктоне и бентосе прибрежной зоны Крыма; из них 86 видов отмечены и в акватории г. Севастополя [2, 3, 4, 5, 6]. В перифитоне прибрежной зоны Крыма зарегистрировано 13 видов цианобактерий [1, 5].

Цель данной работы — изучить сообщество цианобактерий, сформировавшееся в перифитоне синтетических полимерных субстратов в экспериментальных условиях в Карантинной бухте Чёрного моря (г. Севастополь).

Материалом для исследования послужили 45 образцов полимеров [прозрачные бесцветные и цветные пластины из полиэтилентерефталата (PET), полиэтилена высокой плотности (HDPE) и полипропилена (PP)], экспонированных в Карантинной бухте Чёрного моря (44°37'23.0"N,

33°29'38.5"E) в период с 04 августа по 18 сентября 2018 г. на специальной экспериментальной установке, вертикально расположенной в толще воды до глубины 17 м, при варьировании температуры воды от +22,4 до +26,6 °С и солёности в пределах 17–18 ‰.

В ходе исследования сообщества цианобактерий перифитона полимерных субстратов выявлено 27 их видов. Среди них идентифицирован токсичный *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek ex Komárek, 2006 [8], ранее не отмеченный в Севастопольской бухте и крымском побережье Чёрного моря.

***Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek ex Komárek, 2006.** Микроцистис Везенберга (syn. *Diplocystis wesenbergii* Komárek, 1958) относится к типу Cyanobacteria, классу Cyanophyceae, порядку Chroococcales, семейству Microcystaceae, роду *Microcystis*.

Описание: полиморфный планктонный вид; в незначительном количестве встречается преимущественно в толще воды стоячих и медленно текущих пресных эвтрофных и мезотрофных водоёмов; токсичный, иногда вызывает цветение воды; космополит, за исключением субполярных регионов [4, 8]. У штаммов *M. wesenbergii*, которые выделены из пресных водоёмов Европы, отсутствует ген *mcu*, ответственный за продукцию микроцистина. Между тем у штаммов выявлена способность продуцировать гепатотоксины и другие токсичные вещества, вызывающие раздражение и обратимые повреждения покровных тканей животных [7]. Этот вид нередко путают с формами *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing, 1846 или называют *Coelosphaerium dubium* Grunow, 1865. Еленкин А. А. считал, что *C. dubium* является переходной формой от микроцистиса к роду целосфериум [3]. К сожалению, впервые *C. dubium* был описан без приведения иллюстраций, а первоначальный материал — утерян [7]. В результате ошибочной идентификации видов *C. dubium* и *M. wesenbergii* в течение многолетних альгологических исследований по всему миру определение экологических характеристик и географического распространения последнего вызывает затруднения.

В перифитоне экспериментальных субстратов Карантинной бухты вид обнаружен на глубине от 7,6 до 9,2 м на образцах из HDPE, PET зелёного цвета и PP, а также на фрагментах полиэтиленовых контейнеров. Встречался в сложных колониях, которые состояли из субколоний, максимально достигающих 3700 мкм в длину. Диаметр молодых сферических колоний варьировал от 240 до 367 мкм (рис. 1А). Клетки в колонии расположены неплотно, большей частью у периферии. От диагноза отличается цветом клеток (светло-коричневый) и их диаметром [(10,19 ± 0,79) мкм] (рис. 1Б).

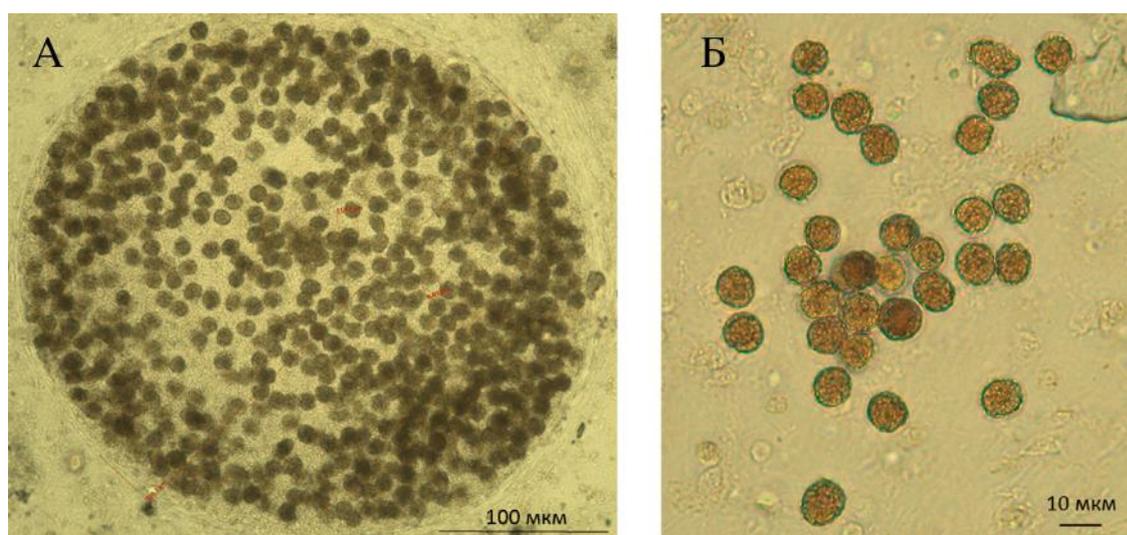


Рис. 1. *Microcystis wesenbergii*, обнаруженный в перифитоне синтетических полимерных субстратов в Карантинной бухте Чёрного моря (А — молодая сферическая колония; Б — отдельные клетки)

Fig. 1. *Microcystis wesenbergii*, found in the periphyton of synthetic polymer substrates in the Karantinnaya Bay of the Black Sea (A – young spherical colony; Б – single cells)

Таким образом, находка потенциально опасного *Microcystis wesenbergii* в Карантинной бухте Чёрного моря свидетельствует о высоком скрытом разнообразии цианобактерий акватории. Дальнейшее исследование малоизученных видов цианобактерий бентоса Чёрного моря необходимо для максимально полного понимания роли фототрофных микроорганизмов в функционировании морских экосистем, а также для контроля экологической безопасности и качества окружающей среды.

Работа выполнена частично в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ 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 частично — по проекту РФФИ (грант № 18-44-920012).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Балычева Д. С. Видовой состав и структурно-функциональные характеристики микроводорослей перифитона антропогенных субстратов в крымском прибрежье Чёрного моря : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.10. Севастополь, 2014. 236 с. [Balycheva D. S. Vidovoi sostav i strukturno-funktsional'nye kharakteristiki mikrovodoroslei perifitona antropogennykh substratov v krymskom pribrezh'e Chernogo morya. [dissertation]. Sevastopol, 2014, 236 p. (in Russ.)]
2. Виноградова О. Н., Брянцева Ю. В. Таксономическая ревизия Суанобактерия/Суанопрокариота черноморского побережья Украины // *Альгология*. 2017. Т. 27, № 4. С. 436–457. [Vinoogradova O. N., Bryantseva Yu. V. Taxonomic revision of the species composition of Cyanobacteria/Suanoprocaryota of the Ukrainian coast of the Black Sea. *Algologia*, 2017, vol. 27, no. 4, pp. 436–457. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.15407/alg27.04.436>
3. Еленкин А. А. Синезеленые водоросли СССР. Специальная (систематическая) часть. Москва ; Ленинград : Изд-во АН СССР, 1938. Вып. 1. 984 с. [Elenkin A. A. *Sinezelenye vodorosli SSSR. Spetsial'naya (systematicheskaya) chast'*. Moscow ; Leningrad : Izd-vo AN SSSR, 1938, iss. 1, 984 p. (in Russ.)]
4. Кондратьева Н. В., Коваленко О. В., Приходькова Л. П. *Определитель пресноводных водорослей Украинской ССР. Вып. 1. Синезеленые водоросли – Суанопхита. Ч. 1. Общая характеристика синезеленых водорослей. Класс хроококковые водоросли – Chroococcophyceae. Класс хамесифоновые водоросли – Chamaesiphonophyceae.* Киев : Наукова думка, 1984. 388 с. [Kontrat'eva N. V., Kovalenko O. V., Prikhod'kova L. P. *Opredelitel' presnovodnykh vodoroslei Ukrainskoi SSR. Iss. 1. Sinezelenye vodorosli – Cyanophyta. Ch. 1. Obshchaya kharakteristika sinezelenykh vodoroslei. Klass khrookokkovye vodorosli – Chroococcophyceae. Klass khamesifonovye vodorosli – Chamaesiphonophyceae.* Kiev : Naukova dumka, 1984, 388 p. (in Ukr.)]
5. Рябушко Л. И. *Микрофитобентос Чёрного моря.* Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2013. 416 с. [Ryabushko L. I. *Microphytobenthos of the Black Sea.* Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2013, 416 p. (in Russ.)]
6. Садогурская С. А. К изучению флоры Суанопхита каменистой супралиторали Севастопольского района // *Бюллетень Никитского ботанического сада*. 2008. Вып. 96. С. 23–26. [Sadogurskaya S. A. The study of flora Cyanophyta in stony supralittoral of the Sevastopol region. *Byulleten' Nikitskogo botanicheskogo sada*, 2008, vol. 96, pp. 23–26. (in Russ.)]
7. Joosten A. M. T. *Flora of the blue-green algae of the Netherlands. I. The non-filamentous species of inland waters.* Utrecht, Netherlands : KNNV Publishing, 2006, 239 p.
8. Komárek J., Anagnostidis K. *Cyanoprocaryota. I Teil: Chroococcales. Süßwasserflora von Mitteleuropa.* Heidelberg ; Berlin : Spektrum Akademischer Verlag, 1995, Bd 19/1, 523 p.

***MICROCYSTIS WESENBERGII* (KOMÁREK) KOMÁREK EX KOMÁREK, 2006
(CYANOPHYCEAE) –
A NEW SPECIES FOR THE CRIMEAN COAST OF THE BLACK SEA**

E. S. Miroshnichenko

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: mircyano@gmail.com

The note describes a new species of toxic cyanobacteria *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek ex Komárek, 2006, which was discovered after the study of the periphyton community of synthetic polymeric materials during experimental vertical exposure of 45 samples of polyethylene terephthalate (PET), high-density polyethylene (HDPE), and polypropylene (PP). The experimental vertical module was located in the water column of the Karantinnaya Bay of the Black Sea near Sevastopol (44°37'23.0"N, 33°29'38.5"E) from August to September 2018, when the water temperature varied from +22.4 to +26.6 °C and water salinity – from 17 to 18 ‰. *Microcystis wesenbergii* was found at a depth of 7.6 to 9.2 m on samples of HDPE, green PET, PP, and fragments of plastic containers for polymer samples. *Microcystis wesenbergii* is a polymorphic, planktonic species that occurs in small quantities in the water column of stagnant and slowly flowing eutrophic and mesotrophic freshwater reservoirs; it is toxic, sometimes forming blooms; cosmopolitan, except subpolar regions. The species was found in complex colonies consisting of subcolonies reaching a maximum length of 3700 µm; the diameter of young spherical colonies ranged from 240 to 367 µm. The diameter of *M. wesenbergii* cells was larger than the diagnosis [(10.19 ± 0.79) µm]; the color of the cells was predominantly light brown instead of blue-green. The discovery of toxic *M. wesenbergii* in the Karantinnaya Bay of the Black Sea indicates high latent diversity of cyanobacteria in this water area.

Keywords: Cyanobacteria, Black Sea, periphyton, synthetic polymeric substrates

УДК 594.1(285.3+262.5)

**НАХОДКИ МОЛОДИ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА
CRASSOSTREA GIGAS (THUNBERG, 1793)
В ОЗЕРЕ ДОНУЗЛАВ И В АРТИЛЛЕРИЙСКОЙ БУХТЕ (КРЫМ, ЧЁРНОЕ МОРЕ)**

© 2019 г. М. А. Попов, С. В. Щуров

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: mark.a.popov@mail.ru

Поступила в редакцию 05.07.2019; после доработки 12.11.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Найдены и сфотографированы молодые экземпляры двустворчатого моллюска *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), осевшие на искусственные и естественные субстраты в озере Донузлав и в Артиллерийской бухте. В этих акваториях до настоящего времени личинки *C. gigas* в планктоне не обнаружены.

Ключевые слова: марихозяйство, устрично-мидийная ферма, конхиокультура, молодь *Crassostrea gigas*

Тихоокеанская устрица (японская, гигантская) *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) была впервые завезена в Чёрное море румынскими специалистами ограниченной партией, для научных целей [3].

Массовое заселение японской устрицы в Чёрное море происходило в два этапа. В 1980–1985 гг. завезено примерно 70 тыс. шт. молоди и взрослых экземпляров моллюска; в 1989–1991 гг. — ещё около 30 тыс. особей молоди [4]. При этом после вселения примерно 100 тыс. экз. в акватории не обнаруживали ни осевших личинок гигантской устрицы, ни её молодь.

Позже было решено сосредоточить усилия на интродукции этого моллюска в Чёрное море за счёт искусственного разведения [2]. Получение спата гигантской устрицы в питомниках (полноциклическое разведение) активно развивалось в 1989–2016 гг. [1, 6]. В это время многие производители спата выпускали большую часть устриц на личиночной стадии в море. По экспертным оценкам, в акваторию попало около 1 млрд личинок [4]. Впоследствии практически все устричные хозяйства перешли на полуциклическое разведение гигантской устрицы и стали завозить импортный спат.

Сведения о естественно осевшей гигантской устрице в озере Донузлав появились в 2002–2004 гг. [5]. В 2018 г. отдел аквакультуры и морской фармакологии ФИЦ ИнБИОМ организовал экспедицию на оз. Донузлав. Одной из задач было обнаружить и сфотографировать молодь гигантской устрицы, размножившейся в естественной среде. При проведении гидробиологической съёмки 06.10.2018 в точке с координатами 45° 25.382' N, 33° 9.648' E на глубине 0,5–1 м были найдены и сфотографированы отдельные экземпляры молоди *C. gigas*, осевшие на пластиковом наплаве мидийно-устричной фермы (рис. 1).

При отборе мидий из естественных поселений с глубины 0,5 м в Артиллерийской бухте г. Севастополя (44° 36.851' N, 33° 31.138' E) 27.06.2019 на створке *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 обнаружена прикрепленная молодая особь *C. gigas* (рис. 2). Сырая масса устрицы — 3,3 г. Возраст моллюска — около 1 года.

Последний раз личинок *C. gigas* выпускали из питомника в море в районе внешнего рейда г. Севастополя в 2016 г. Можно предположить, что производители, от которых происходит этот экземпляр моллюска, находятся на одном из двух марихозяйств, расположенных западнее Артиллерийской бухты. Между тем, пока не обнаружены личинки *C. gigas* на планктонной стадии, утверждать о размножении гигантской устрицы в Чёрном море естественным путём рано.

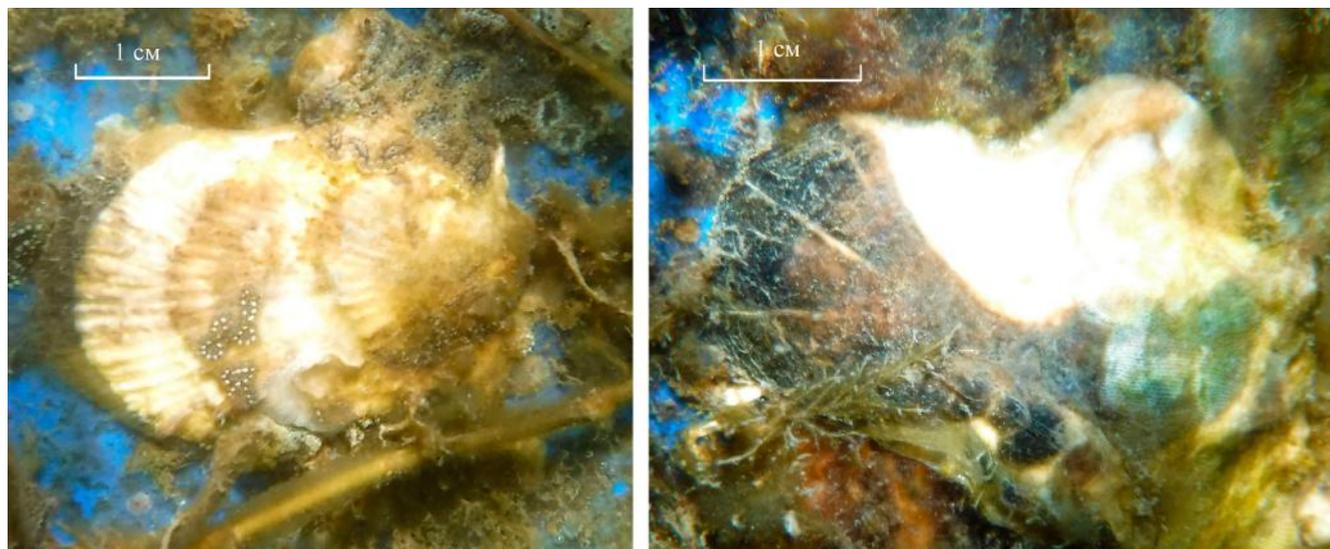


Рис. 1. Молодь *Crassostrea gigas* из озера Донузлав, *in situ*

Fig. 1. *Crassostrea gigas* juveniles in Lake Donuzlav, *in situ*



Рис. 2. Молодой экземпляр *Crassostrea gigas*, Артиллерийская бухта (г. Севастополь)

Fig. 2. *Crassostrea gigas* juvenile, Artillery Bay (Sevastopol)

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ 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. 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. [Zolotnitskiy A. P., Orlenko A. N., Kryuchkov V. G., Sytnik N. A. On organization of large scale culture of oysters in the Donuzlav Lake. *Trudy YugNIRO*, 2008, vol. 46, pp. 48–54. (in Russ.)]
2. Мони́на О. Б. Интродукция тихоокеанской устрицы в Черном море // *Рыбное хозяйство*. 1983. № 1. С. 189–190. [Monina O. B. Introduktsiya tikhookeanskoï ustritsy v Chernom more. *Rybnoe khozyaistvo*, 1983, no. 1, pp. 189–190. (in Russ.)]
3. 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.)]
4. Орленко А. Н. Гигантская устрица (*Crassostrea gigas* Thunberg) как аллохтонный вид фауны Черного моря // *Труды ЮгНИРО*. 2012. Т. 50. С. 129–133. [Orlenko A. N. Giant oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) as allochthonic species on the Black Sea fauna. *Trudy YugNIRO*, 2012, vol. 50, pp. 129–133. (in Russ.)]
5. Орленко А. М. Факт розмноження гігантської устриці (*Crassostrea gigas* Thunberg) в природному середовищі оз. Донузлав // *Таврійський науковий вісник* : зб. наук. праць. 2004. Вип. 33. С. 210–214. [Orlenko A. M. Fakt rozmnozhennya hihantskoï ustrytsi (*Crassostrea gigas* Thunberg) v pryrodnomu seredovyshchi oz. Donuzlav. *Tavriiskyi naukovyi visnyk* : zb. nauk. prats, 2004, iss. 33, pp. 210–214. (in Ukr.)]
6. Холодов В. И., Пиркова А. В., Ладыгина Л. В. *Выращивание мидий и устриц в Чёрном море*. Воронеж : ООО «Издат-Принт», 2017. 508 с. [Kholodov V. I., Pirkova A. V., Ladygina L. V. *Cultivation of mussels and oysters in the Black Sea*. Voronezh: ООО “Izdat-Print”, 2017, 508 p. (in Russ.)]

**FINDINGS OF SPAT OF BIVALVE MOLLUSC
CRASSOSTREA GIGAS (THUNBERG, 1793)
IN DONUZLAV LAKE AND ARTILLERY BAY (CRIMEA, THE BLACK SEA)**

M. A. Popov and S. V. Schurov

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: mark.a.popov@mail.ru

The spat of the bivalve mollusc *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) was found and photographed on artificial and natural substrates in Donuzlav Lake and Artillery Bay. However, up to this point the planktonic larval stages of *C. gigas* were not registered in this water areas.

Keywords: mariculture, oyster-mussel farm, conchioculture, *Crassostrea gigas* juveniles

УДК 581.132.1:582.26/.27

СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА В БИОМАССЕ МОРСКИХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПРИ СВЕТОВОМ ЛИМИТИРОВАНИИ (МОДЕЛЬ)

© 2019 г. Р. П. Тренкеншу, Т. М. Новикова

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: r.trenkenshu@rambler.ru

Поступила в редакцию 25.10.2019; после доработки 11.12.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Представлена математическая модель светозависимого содержания хлорофилла в биомассе морских микроводорослей. Основой модели служит представление о биомассе как сумме резервных и структурных макромолекулярных форм органического вещества клеток. При этом хлорофилл относится к структурным формам биомассы. Используя такие представления, можно применять известные уравнения для светозависимого содержания структурных форм в биомассе. Предложенное уравнение хорошо описывает результаты, полученные в экспериментах с хлорофиллостатной культурой *Tetraselmis viridis*.

Ключевые слова: микроводоросли, хлорофилл, световые условия, хлорофиллостат

Оценка содержания хлорофилла a в биомассе микроводорослей крайне важна, поскольку это ключевой параметр, лежащий в основе расчёта первичной продукции в Мировом океане [5]. Экспериментально установлено, что содержание хлорофилла a в биомассе клеток существенно зависит от условий, в которых растут микроводоросли [5]. Из множества факторов, определяющих первичную продукцию, главным является свет, который прямо или косвенно энергетически обеспечивает все продукционные процессы за счёт фотосинтеза.

В случае, когда клетки полностью обеспечены минеральным питанием (и когда другие условия также оптимальны), можно изучить влияние света на соотношение хлорофилл a / биомасса. Такие условия можно реализовать только в непрерывной культуре микроводорослей при стабилизации концентрации хлорофилла (хлорофиллостат) и варьировании внешнего освещения [1]. Обнаружено, что с ростом интенсивности облучения клеток содержание хлорофилла a в биомассе плавно снижается с максимальных (при невысоких освещённостях) до минимальных (при высоких облучённостях клеток) значений [1].

В качестве одного из обоснований этого снижения высказано предположение о деструктивном фотоокислении пигментов и использовании соответствующих количественных моделей [1], хотя деструкция пигментов не была подтверждена, а явление снижения объясняется наличием артефактов, связанных с применением методических приёмов при исследованиях [6].

В этой публикации на основе представлений о процессах фото- и биосинтеза микроводорослей [3] предложена количественная модель, описывающая зависимость соотношения хлорофилл / биомасса от света в непрерывной культуре невысокой плотности.

Модель. Общий подход к моделированию фотобиосинтеза и биохимических трансформаций в клетках микроводорослей подробно изложен в [3].

Использовались общепринятые схемы разделения процессов на световые и темновые стадии фотобиосинтеза и разделения продуктов этих стадий на резервные и структурные (их сумма представляет собой биомассу). В результате получено уравнение зависимости соотношения структура / биомасса (β^*) от интенсивности света для непрерывной культуры микроводорослей, которое можно записать в виде:

$$\beta^* = \frac{\beta_{max}}{1 + a + \sqrt{a^2 + bI_0/I_{sat}}},$$

где a и b — видоспецифические коэффициенты;

I_0 и I_{sat} — действующая и насыщающая интенсивность света соответственно.

Если отнести пигменты к структурным формам биомассы, можно интерпретировать это уравнение как зависимость содержания хлорофилла a в клетках микроводорослей от интенсивности действующего света. Подтверждением может служить линейная связь между концентрациями белка и хлорофилла в биомассе [4].

Описание экспериментальных данных. Точную зависимость соотношения хлорофилл / биомасса от света экспериментально можно получить только в непрерывной фотоавтотрофной культуре невысокой плотности при стабилизации хлорофилла (хлорофиллостат) на уровне, когда клетки не затеняют друг друга и полностью обеспечены минеральным питанием. Для морских видов такие данные получены для флагелляты *Tetraselmis (Platymonas) viridis* [1, 2]. В опытах стабилизировали оптическую плотность в области ΔD_{680} от 0,33 до 0,35 ед. опт. пл. для освещаемого слоя культуры 3 см, что соответствует концентрации хлорофилла a 1,7–1,8 мг·л⁻¹. Ежечасное разведение культуры до заданного уровня хлорофилла позволяло определять концентрацию биомассы в сливах. Результаты показаны на рис. 1.

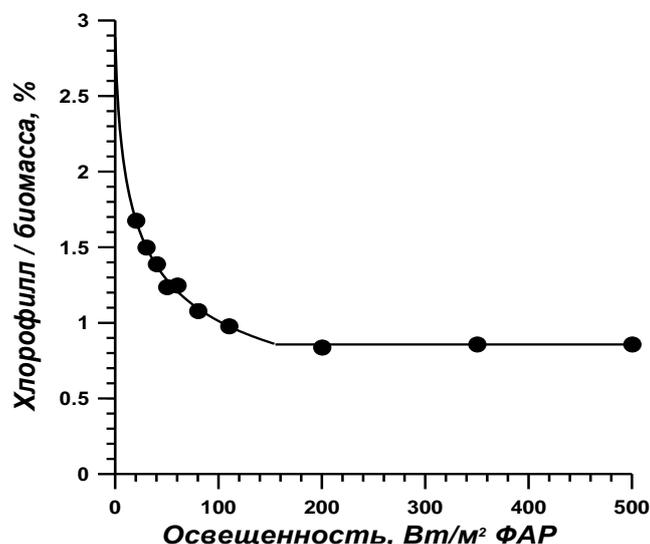


Рис. 1. Зависимость относительного содержания хлорофилла a в биомассе *Tetraselmis (Platymonas) viridis* от поверхностной освещённости непрерывной хлорофиллостатной культуры; ● — эксперимент; сплошная линия — расчёт по уравнению

Fig. 1. Dependence of relative chlorophyll a content in *Tetraselmis (Platymonas) viridis* biomass on surface illumination of continuous chlorophyll-state culture; ● – experiment; solid line – calculation according to the equation

Выводы. Предложена модель зависимости соотношения хлорофилл a / биомасса от интенсивности действующего света для фотоавтотрофного роста микроводорослей. Модель основана на общепринятом представлении о механизме фотобиосинтетических процессов в клетке. Предлагаемое уравнение с высокой точностью описывает результаты экспериментальных данных для морской микроводоросли *Tetraselmis viridis*.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ 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. Беянин В. Н. *Светозависимый рост низших фототрофов (в управляемых условиях)*. Новосибирск : Наука, 1984. 98 с. [Belyanin V. N. *Svetozavisimyi rost nizshikh fototrofov (v upravlyаемых usloviyakh)*. Novosibirsk : Nauka, 1984, 98 p. (in Russ.)]
2. Терсков И. А., Тренкеншу Р. П., Беянин В. Н. Светозависимый рост водоросли *Platymonas viridis* в непрерывной культуре // *Известия Сибирского отделения АН СССР. Серия биологических наук*. 1979. Т. 10, № 2. С. 103–108. [Terskov I. A., Trenkenshu R. P., Belyanin V. N. *Svetozavisimyi rost vodorosli Platymonas viridis v nepreryvnoi kul'ture. Izvestiya Sibirskogo otdeleniya AN SSSR. Seriya biologicheskikh nauk*, 1979, vol. 10, no. 2, pp. 103–108. (in Russ.)]
3. Тренкеншу Р. П. Влияние света на макромолекулярный состав микроводорослей в непрерывной культуре невысокой плотности (Часть 1) // *Вопросы современной альгологии*. 2017. № 2 (14). [3 с.] [Trenkenshu R. P. Influence of light on macromolecular composition of microalgae in continuous culture of low density (Part 1). *Voprosy sovremennoi al'gologii*, 2017, no. 2 (14). [3 p.] URL: <http://algology.ru/1180> (in Russ.)]
4. 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>
5. Финенко З. З., Мансурова И. М., Суслин В. В. Динамика концентрации хлорофилла *a* в Чёрном море по спутниковым данным // *Морской биологический журнал*, 2019. Т. 4, № 2. С. 88–96. [Finenko Z. Z., Mansurova I. M., Suslin V. V. Dynamics of chlorophyll *a* concentration in the Black Sea on satellite data. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2019, vol. 4, no. 2, pp. 87–95. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2019.04.2.09>
6. Goericke R., Welschmeyer N. A. Pigment turnover in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. 1. The ¹⁴CO₂-labeling kinetics of chlorophyll *a*. *Journal of Phycology*, 1992, vol. 28, iss. 4, pp. 498–507. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0022-3646.1992.00498.x>

CHLOROPHYLL CONCENTRATION IN MARINE MICROALGAE BIOMASS UNDER THE CONDITION OF LIGHT LIMITATION (MODEL)

R. P. Trenkenshu and T. M. Novikova

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: r.trenkenshu@rambler.ru

The paper presents a mathematical model of light-dependent chlorophyll concentration in the marine microalgae biomass. The model is based on the concept of biomass as the sum of reserve and structural macromolecular forms of organic cell matter. At the same time, chlorophyll refers to structural forms of biomass. Using such concepts, it is possible to apply known equations for light-dependent content of structural forms in biomass. The proposed equation describes well the experimental results obtained in a number of experiments with the chlorophyllostate culture *Tetraselmis viridis*.

Keywords: microalgae, chlorophyll, light conditions, chlorophyllast

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

**ПОЗДРАВЛЯЕМ А. В. ТРАПЕЗНИКОВА — ПЕРВОГО ЛАУРЕАТА
МЕДАЛИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е. Н. АВРОРИНА**



По итогам конкурса 2019 г. на присуждение наград имени выдающихся учёных Урала, 16 сентября 2019 г. доктору биологических наук Александру Викторовичу Трапезникову вручена медаль имени академика Е. Н. Аврорина за цикл работ «Перенос и распределение техногенных радионуклидов в реках, озёрах и искусственном водохранилище Урало-Сибирского региона, подверженных воздействию предприятий атомного комплекса». Награду лауреату вру-

чил на общем заседании Уральского отделения Российской академии наук председатель УрО РАН академик РАН В. Н. Чарушин. Медаль имени академика Е. Н. Аврорина, учреждённая постановлением Президиума УрО РАН в 2018 г., вручена впервые. Её будут присуждать один раз в два года за междисциплинарные экспериментальные и теоретические исследования, имеющие важное практическое значение.

Радиоэкологическим исследованиям Александр Викторович посвятил почти полвека. А. В. Трапезников родился в г. Перми 29 января 1951 г. В 1973 г. окончил биологический факультет Пермского государственного университета имени А. М. Горького. С 1974 г. работает на биофизической станции Института экологии растений и животных УрО РАН в г. Заречном (Свердловская обл.). В 1990 г. защитил кандидатскую диссертацию «Накопление, распределение и миграция ^{60}Co в компонентах пресноводной экосистемы».

Александр Викторович — последователь Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского — одного из крупнейших генетиков XX в., создателя количественной радиобиологии и основателя радиационной биогеоценологии, заведовавшего лабораторией радиационной биогеоценологии и биофизики в 1955–1964 гг. сначала в Миассово, а затем — в Заречном. После отъезда Н. В. Тимофеева-Ресовского в Обнинск лабораторию возглавил д. б. н. Николай Васильевич Куликов. В 1979 г. на базе этой лаборатории были созданы биофизическая станция и отдел континентальной радиоэкологии. С 1993 г. А. В. Трапезников возглавляет отдел континентальной радиоэкологии института и лабораторию общей радиоэкологии, а также заведует биофизической станцией. В 2001 г. он защитил докторскую диссертацию «Радиоэкология пресноводных экосистем (на примере Уральского региона)».

В область его научных интересов входят радиоэкология пресноводных экосистем и оценка воздействия предприятий ядерного топливного цикла на реки, озёра и искусственные водохранилища. Александр Викторович ведёт радиоэкологические исследования по ряду направлений и занимается: изучением закономерностей миграции техногенных радионуклидов (^{60}Co , ^{90}Sr , ^{137}Cs и $^{239,240}\text{Pu}$)

в пресноводных экосистемах; оценкой запасов радионуклидов в реках, озёрах и искусственных водохранилищах; исследованием вертикальной миграции искусственных радионуклидов в донных отложениях и пойменных почвах; изучением накопления техногенных радионуклидов основными компонентами пресноводных экосистем (ихтиофауна, макрофиты, донные отложения, пойменные почвы); исследованиями воздействия ряда факторов (макро- и микроконцентрации химических элементов, включая изотопные и неизотопные носители в водной среде, температура и pH водной среды и др.) на накопление радиоактивных веществ гидробионтами и донными отложениями. Самым важным научным достижением А. В. Трапезникова являются масштабные исследования распределения техногенных радионуклидов ^{90}Sr , ^{137}Cs и $^{239,240}\text{Pu}$ в речной системе Теча — Исеть — Тобол — Иртыш — Обь, позволившие установить закономерности их миграции как в пространстве, так и во времени.

Александр Викторович вместе с возглавляемым им научным коллективом провёл обширные, во многом уникальные исследования радиоэкологии пресноводных водоёмов в природных экосистемах. Показано, что водные экосистемы выполняют барьерную роль по отношению к миграции радионуклидов в окружающей среде и что она специфична для рек, озёр и искусственных водохранилищ. С помощью математического моделирования рассчитана ретроспективно концентрация техногенных радионуклидов ^{90}Sr и ^{137}Cs в воде озёр Тыгиш, Червяное и Большой Сунгуль в начальный период после аварии на производственном объединении «Маяк». Сделаны прогностические расчёты концентрации этих радионуклидов в воде и донных отложениях в течение 100 лет начиная с 1957 г. Идентифицированы источники радиоактивного загрязнения рек Течи и Исети с помощью анализа изотопных отношений в донных отложениях пойменных водоёмов. Проведены расчёты по оценке запасов радионуклидов в основных компонентах р. Течи на участке от 49-го км вниз по течению до её впадения в р. Исеть. Оценено интегральное содержание радионуклидов в пойменной зоне вниз по течению рек Течи и Исети на расстояние до 310 км от ПО «Маяк». Эти величины составляют для ^{90}Sr — 106 ТБк, для ^{137}Cs — 348, для $^{239,240}\text{Pu}$ — 0,83. Показано, что пойма реки является основным депо радионуклидов и выполняет барьерную функцию по отношению к их рассеянию в окружающей среде. Изучены закономерности миграции, накопления и перераспределения широкого спектра радионуклидов в компонентах наземных экосистем различных природно-климатических зон. Исследованы природные экосистемы, подверженные воздействию предприятий ядерного топливного цикла. Выявлены особенности поведения радионуклидов в природно-территориальных комплексах в пределах Восточно-Уральского радиоактивного следа, в пойме р. Теча, в 30-километровой зоне Белоярской АЭС.

Результаты радиоэкологических исследований, выполненных А. В. Трапезниковым и возглавляемым им коллективом, имеют большое фундаментальное и прикладное значение для развития атомной промышленности. Александр Викторович — автор и соавтор более чем 420 научных публикаций, среди которых 13 монографий и 35 статей в журналах на платформе Web of Science.

А. В. Трапезников — неизменный участник и организатор множества экспедиций, которые охватывают Урал, Сибирь, Дальний Восток, Якутию. Специалисты возглавляемой им лаборатории работали на Семипалатинском и Тоцком полигонах, в Якутии, в Казахстане и на Украине — повсюду, где имело место радиоактивное загрязнение или его угроза.



Александр Викторович активно развивает международное и междисциплинарное сотрудничество учёных. В разные годы коллектив лаборатории общей радиоэкологии работал со специалистами из Дании, Великобритании, Норвегии, Германии, Соединённых Штатов Америки, Казахстана, Украины и из многих организаций Российской Федерации.

Плодотворно сотрудничает с лабораторией общей радиоэкологии и отдел радиационной и химической биологии (ОРХБ) Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН». Особенно тесным наше взаимодействие было во время изучения последствий атомных аварий. В настоящее время совместные работы ведутся по проблеме изучения радиоэкологии солёных озёр Крыма. Наши молодые учёные неоднократно проходили стажировку на биофизической станции по методам определения и измерения радионуклидов в природных образцах. Сотрудники ОРХБ активно принимают участие в работе Урало-Сибирского междисциплинарного семинара «Проблемы радиоэкологии и пограничных дисциплин», который проводится с 1993 г. Семинар много лет служит платформой для обмена опытом и для представления учёными итогов новых и многолетних научных изысканий. Здесь проходит плодотворное обсуждение результатов исследований, формируется благоприятное научно-образовательное пространство, которое объединяет опытных и начинающих учёных различных научных школ и направлений, рассматриваются и решаются ключевые радиоэкологические проблемы. За последние годы приняли участие в работе Семинара и выступили с докладами четыре сотрудника ОРХБ: м. н. с. А. А. Коротков (2016), д. б. н. С. Б. Гулин (2017), к. б. н. Н. Ю. Мирзоева (2018), к. б. н. Н. Н. Терещенко (2019).

А. В. Трапезников — член редколлегий нескольких научных журналов, включая «Морской биологический журнал».

Научные достижения Александра Викторовича признаны российским и зарубежным сообществом. Он лауреат Международного конкурса научных работ в области радиоэкологии имени академика В. М. Ключковского и премии имени Н. В. Тимофеева-Ресовского УрО РАН. А. В. Трапезников удостоен почетного звания «Заслуженный эколог Российской Федерации».

Александр Викторович — замечательный учёный, душевный и внимательный человек, его общение с окружающими отличается особой деликатностью и предупредительностью. Он человек разных интересов — знаток и любитель истории, литературы, театрального искусства. При этом главное увлечение его жизни — научные исследования. Он преуспел в изучении радиоэкологических закономерностей в природных экосистемах и внёс весомый вклад в развитие водной радиоэкологии как синтеза многих сопутствующих наук, без привлечения достижений которых невозможно полноценно решать радиоэкологические задачи.

А. В. Трапезников стал первым лауреатом медали имени академика Е. Н. Аврорина. От всей души поздравляем Александра Викторовича с высокой наградой, желаем ему новых научных достижений и творческих успехов в его многогранной деятельности, крепкого здоровья, благополучия.

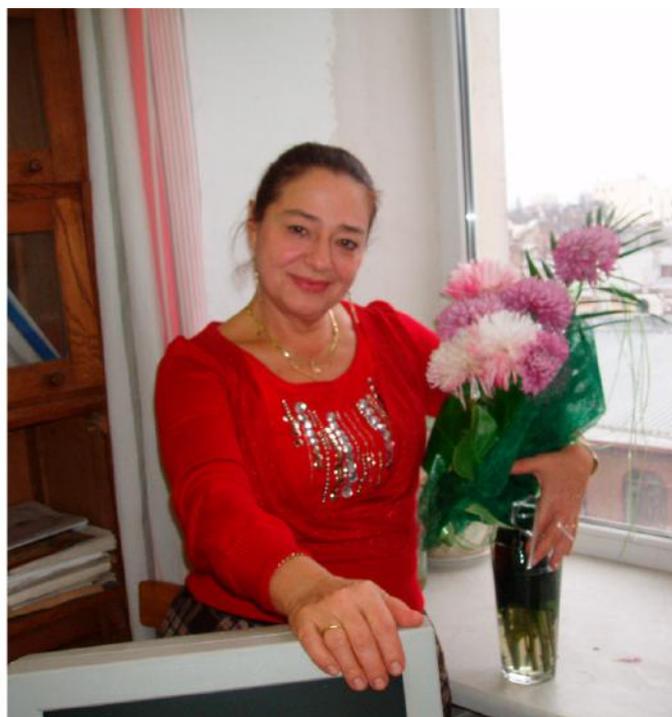
В. Н. Егоров, Н. Ю. Мирзоева, Н. Н. Терещенко, ФИЦ ИнБЮМ

CONGRATULATIONS TO A. V. TRAPEZNIKOV, THE FIRST LAUREATE OF THE MEDAL NAMED AFTER ACADEMICIAN E. N. AVRORIN

In September 2019, Doctor of Biological Sciences Alexander Viktorovich Trapeznikov was awarded a medal named after academician E. N. Avrорin for the series of works “Technogenic radionuclides transfer and distribution in rivers, lakes, and an artificial reservoir of the Ural-Siberian region exposed to nuclear enterprises”. We congratulate A. V. Trapeznikov on the high award and wish him new scientific achievements and success in his multifaceted activities.

V. N. Egorov, N. Yu. Mirzoyeva, and N. N. Tereshchenko, IBSS

**ПАМЯТИ БОРИСА ГЕОРГИЕВИЧА АЛЕКСАНДРОВА (17.04.1958 – 04.12.2019)
И ГАЛИНЫ ВАЛЕНТИНОВНЫ ИВАНОВИЧ (02.12.1954 – 04.12.2019)**



Четвёртого декабря 2019 г. коллективы Института морской биологии НАН Украины (г. Одесса) и Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН (г. Севастополь), ранее долгое время бывшие единым научным коллективом (1963–2014), понесли невосполнимую двойную утрату: в результате пожара в здании ИМБ трагически погибли директор Борис Георгиевич Александров и его верная помощница — референт Галина Валентиновна Иванович. Жизненные пути обоих наших коллег стали примерами служения науке.

Борис Георгиевич был талантливым учёным, незаурядным педагогом, уважаемым и авторитетным руководителем большого коллектива. Б. Г. Александров родился 17 апреля 1958 г. В 1980 г. он с отличием окончил биологический факультет Одесского государственного университета имени И. И. Мечникова. В 1988 г. Борис Георгиевич защитил кандидатскую диссертацию «Экологические аспекты распределения и развития личинок обрастателей в северо-западной части Чёрного моря» по специальности «гидробиология», а в 2003 г. — докторскую диссертацию «Гидробиологические основы управления состоянием прибрежных экосистем Чёрного моря».

С 1980 г. и до своего последнего дня Б. Г. Александров работал в Институте морской биологии НАН Украины (до 2014 г. — Одесском отделении Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского НАН Украины). Борис Георгиевич прошёл путь от инженера-гидробиолога

до руководителя Одесского филиала ИнБЮМ (1994–2014) и директора Института морской биологии НАН Украины (с 2014). За период научной деятельности Б. Г. Александров стал автором более чем 200 статей и монографий, членом девяти научных обществ и редколлегий ряда научных журналов, лауреатом Государственной премии по науке и технике Украины. Помимо выполнения большой научной и административной работы, профессор Борис Георгиевич долгие годы преподавал на кафедре гидробиологии и общей экологии Одесского национального университета имени И. И. Мечникова, где его уважали и ценили студенты.

Безвременный уход Б. Г. Александрова — большая утрата для черноморских и международных гидробиологических организаций: он по праву считался учёным с мировым именем, поддерживал активные постоянные контакты с иностранными коллегами и более десяти лет возглавлял экспертную группу по сохранению биологического разнообразия в Комиссии по защите Чёрного моря от загрязнения (The Black Sea Commission).

Борис Георгиевич прожил яркую и активную жизнь длиной лишь в 61 год. Список его научных регалий впечатляет: доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН Украины, заслуженный деятель науки и техники Украины. Однако запомним мы его не только как профессионала, чьи заслуги признаны отечественным и международным сообществом, но и как жизнелюбивого оптимиста и подлинного интеллигента с истинно одесским тонким чувством юмора.

Жизнь Галины Валентиновны тоже была неразрывно связана с наукой. Г. В. Иванович родилась 2 декабря 1954 г. В 1977 г. она окончила Одесский государственный университет имени И. И. Мечникова. В 2002 г. защитила в Севастополе, в диссертационном совете при ИнБЮМ, кандидатскую диссертацию «Динамика содержания гликогена и суммарных липидов у мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. Одесского залива». С 1985 г. и до своего последнего дня Галина Валентиновна работала в Институте морской биологии НАН Украины, пройдя путь от инженера-гидробиолога до старшего научного сотрудника (2008).

Г. В. Иванович опубликовала более 50 научных статей. Её деятельность отмечена множеством грамот и благодарностей. Коллеги и друзья ценили её как душевного, благожелательного, внимательного и мудрого человека.

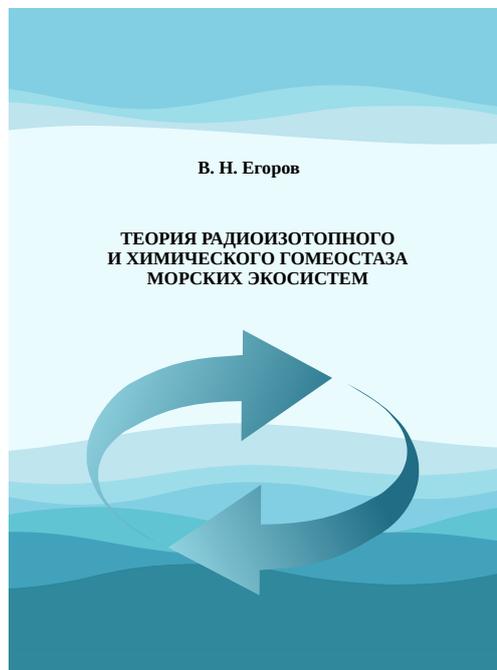
Светлая память о Борисе Георгиевиче Александрове и Галине Валентиновне Иванович навсегда останется в наших сердцах.

Коллеги из ФИЦ ИнБЮМ им. А. О. Ковалевского РАН и ИМБ НАН Украины

TO THE MEMORY OF BORIS ALEXANDROV (17.04.1958 – 04.12.2019) AND GALINA IVANOVICH (02.12.1954 – 04.12.2019)

On December 4, 2019, teams of Institute of Marine Biology of the National Academy of Sciences of Ukraine (Odessa) and A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of Russian Academy of Sciences (Sevastopol) suffered a painful and irreparable double loss: Director of IMB D. Sc., Prof. Boris Alexandrov and senior scientist, PhD Galina Ivanovich tragically perished in a terrible fire in the building of Odessa IMB. Boris Alexandrov was a talented scientist in marine ecology, widely-known expert in international hydrobiological community, as well as an outstanding teacher and respectful leader of a large Institute's staff. Boris Alexandrov lived a remarkable and active life of only 61 years. List of his scientific merits and achievements is impressive: Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of NAS of Ukraine, laureate of the State Prize for Science and Technology of Ukraine, Honoured Worker of Science and Techniques of Ukraine, author of the more than 200 scientific papers and monographs. For more than 10 years, Boris Alexandrov was the Head of the Biodiversity Conservation Expert Group in the Black Sea Commission for protection of the marine ecosystems against pollution. Galina Ivanovich was expert in physiology of marine organisms. Since the beginning of her research career (1985), she worked at Odessa IMB, and published more than 50 scientific articles. The blessed memory of Boris Alexandrov and Galina Ivanovich will forever remain in our hearts.

Егоров В. Н. Теория радиоизотопного и химического гомеостаза морских экосистем / ФИЦ «Ин-т биологии юж. морей им. А. О. Ковалевского РАН». – Севастополь : ФИЦ ИнБЮМ, 2019. – 356 с.
<https://doi.org/10.21072/978-5-6042938-5-0>



Монография посвящена изучению и математическому описанию биогеохимических закономерностей взаимодействия живого и косного вещества с радиоактивными и химическими компонентами морской среды. В ней обоснована полуэмпирическая теория радиоизотопного и минерального обмена гидробионтов в масштабе времени протекания сорбционных и метаболических процессов и трофических взаимодействий, параметрически совместимая с современными методами описания баланса вещества и энергии в морских экосистемах. Установлено, что закономерности радиоизотопного и химического гомеостаза в морской среде реализуются в соответствии принципом Ле Шателье — Брауна. Обоснованы критерии оценки экологической ёмкости, ассимиляционной способности биогеоценозов и радиоёмкости водных масс, составляющие базу теории радиоизотопного и минерального гомеостаза морских экосистем. Предложены методы реализации концепции устойчивого развития критических и рекреационных зон Чёрного моря по факторам загрязнения морской среды посредством регулирования баланса между потреблением ресурсов качества вод и их воспроизводством в результате природных биогеохимических процессов.

Монография предназначена для биогеохимиков, экологов и специалистов по морскому природопользованию.

Egorov V. N. Theory of radioisotope and chemical homeostasis of marine ecosystems / A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS. – Sevastopol: IBSS, 2019. – 356 p. <https://doi.org/10.21072/978-5-6042938-5-0>

The monograph is devoted to the study and mathematical description of the biogeochemical regularities of living and nonliving matter interaction with radioactive and chemical components of the marine environment. A semi-empirical theory of the radioisotope and mineral exchange of living and nonliving matter in the marine environment on a time scale of sorption and metabolic processes and trophic interactions is described in the monograph. The theory is parametrically compatible with modern techniques describing the matter and energy balance in aquatic ecosystems. It is established that the laws of the radioisotope and chemical homeostasis in the marine environment are implemented in accordance to the Le Chatelier – Brown principle. The criteria for assessing the ecological capacity, biogeocenoses assimilation capacity, and water masses radiocapacity, which form the basis of the theory of radioisotope and mineral homeostasis of marine ecosystems, are substantiated. Methods for implementing the concept of sustainable development of the critical and recreational zones of the Black Sea according to the marine pollution factors by regulating the balance between the consumption of water quality resources and their reproduction as a result of natural biogeochemical processes are proposed.

The monograph is intended for biogeochemists, ecologists, and specialists in marine environmental management.

Научное издание

Морской биологический журнал
Основан в феврале 2016 г.

Издатели журнала:

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»
ФГБУН Зоологический институт РАН

Рекомендовано к печати
решением учёного совета
ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей
имени А. О. Ковалевского РАН»
(протокол № 8 от 25.12.2019)

Свидетельство о государственной регистрации:

Сер. ПИ № ФС 77 - 76872 от 24.09.2019

Сер. ЭЛ № ФС 77 - 76873 от 24.09.2019

ISSN 2499-9768 print

ISSN 2499-9776 online

Выпускающий редактор:

Довгаль И. В.

Корректор:

Копытова О. Ю.

Компьютерная вёрстка:

Баяндин А. С.

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

Подп. к печати 25.12.2019	Формат 60 × 84/8	Бум. офсетная № 1	Печать офсетная
Уч.-изд. листов 12,1	Усл. печ. листов 12,56	Тираж 150 экз.	Заказ № 19

Типография: ИП Бондаренко Н. Ю., ОГРН 314920421200018 от 31.07.2014;
пр. Октябрьской Революции, д. 32, г. Севастополь, 299057;
тел.: +7 (978) 067-74-76; e-mail: digitprint@gmail.com.



Вниманию читателей!

*Институт биологии южных морей
имени А. О. Ковалевского РАН,
Зоологический институт 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» — Е38872. Цена свободная.

Заказать «Морской биологический журнал»

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

*A. O. Kovalevsky Institute of Biology
of the Southern Seas of RAS,
Zoological Institute of 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. The price is free.

You may order Marine Biological Journal

in the Scientific Information Department of IBSS. Address: A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, 2 Nakhimov avenue, Sevastopol, 299011, Russian Federation. Тел.: +7 8692 54-41-10. E-mail: mbj@imbr-ras.ru.