



ISSN 2499-9768 print

МОРСКОЙ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ
MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

Том 7 № 3
2022



**МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
MARINE BIOLOGICAL JOURNAL**

Выпуск посвящён 300-летию Российской академии наук.

Журнал включён в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Российской Федерации, а также в базу данных Russian Science Citation Index (RSCI).

Журнал реферирован 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.,
ННЦМБ ДВО РАН

Азовский А. И., д. б. н., проф., МГУ

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

Денисенко С. Г., д. б. н., ЗИН 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

Мильчакова Н. А., к. б. н., 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 МГИ

Рябушко В. И., д. б. н., ФИЦ ИнБЮМ

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

Санжарова Н. И., чл.-корр. РАН, д. б. н., ВНИИРАЭ

Совга Е. Е., д. г. н., проф., ФИЦ МГИ

Стельмах Л. В., д. б. н., ФИЦ ИнБЮМ

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

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

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

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

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

Magni P., PhD, 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

Адрес учредителя, издателя и редакции:

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.

Сайт журнала: <https://marine-biology.ru>.

Адрес соиздателя:

Зоологический институт РАН.

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

Editorial Board

Editor-in-Chief

Egorov V. N., Acad. of RAS, D. Sc., Prof., IBSS, Russia

Assistant Editor

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

Managing Editor

Kornychuk Yu. M., PhD, IBSS, Russia

Adrianov A. V., Acad. of RAS, D. Sc., Prof.,
NSCMB 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

Denisenko S. G., D. Sc., ZIN, Russia

Dovgal I. V., D. Sc., Prof., IBSS, Russia

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

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

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

Magni P., PhD, CNR-IAS, Italy

Milchakova N. A., PhD, IBSS, Russia

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

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

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

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

Rudneva I. I., D. Sc., Prof., MHI RAS, Russia

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

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

Sanzharova N. I., Corr. Member of RAS, D. Sc., RIRAE, Russia

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

Stelmakh L. V., D. Sc., IBSS, Russia

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

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

Zuyev G. V., D. Sc., Prof., IBSS, Russia

Founder, Publisher, and Editorial Office address:

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.

Journal website: <https://marine-biology.ru>.

Co-publisher address:

Zoological Institute Russian Academy of Sciences.

1 Universitetskaya emb., Saint Petersburg, 199034, Russia.

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

2022 Том 7 № 3

Основан в феврале 2016 г.

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Выходит 4 раза в год

СОДЕРЖАНИЕ

Научные сообщения

- Андреева А. Ю., Кладченко Е. С., Гостюхина О. Л.
Влияние дефицита кислорода на иммунную систему двустворчатых моллюсков 3–16
- Губарева Е. С., Аннинский Б. Е.
Состояние популяции *Calanus euxinus* (Copepoda) в открытой пелагиали
и зоне крымского шельфа Чёрного моря осенью 2016 г. 17–27
- Дурукан Ф., Довгаль И.
Новые находки эпибионтных сукторий (Ciliophora, Suctorea) на клещах-галакаридах
и гарпактикоидах с турецкого побережья (in Eng.) 28–33
- Живоглядова Л. А., Елфимова Н. С., Карманов В. Г.
История освоения североамериканской полихетой *Marenzelleria neglecta* Sikorski & Bick, 2004
(Annelida: Spionidae) северо-восточной части Азовского моря 34–43
- Клиндух М. П.
Динамика содержания свободных аминокислот в бурой водоросли
Fucus vesiculosus Linnaeus, 1753 Баренцева моря в течение года 44–59
- Кузнецов А. В., Вайнер В. И., Волкова Ю. М., Цыганкова В. М., Бочко Д. Н., Муханов В. С.
Культивирование и регенерация трихоплакса *Trichoplax* sp. H2 из фрагментов тела
и агрегатов диссоциированных клеток: перспективы генетической модификации 60–79
- Пономарева Е. Н., Красильникова А. А., Белая М. М., Коваленко М. В.
Сохранение биологического разнообразия методами криоконсервации:
опыт Южного научного центра РАН 80–87
- Титлянов Э. А., Титлянова Т. В., Ли Ш., Белоус О. С., Хуи Х.
Сообщества бентосных водорослей коралловых рифов залива Санья (остров Хайнань, Китай)
в местах, сильно загрязнённых биогенными веществами, и их изменения
после устранения источника загрязнения (in Eng.) 88–102

Заметки

- Шоман Н. Ю., Акимов А. И.
Конкурентные преимущества диатомовой водоросли *Skeletonema costatum* Cleve, 1873
в Чёрном море в зимне-весенний период 103–106

Хроника и информация

- К 85-летию паразитолога с мировым именем — профессора Альбины Витольдовны Гаевской 107–110
- К юбилею доктора биологических наук Александра Васильевича Празукина 111–112
- Несколько страниц из жизни Виталия Евгеньевича Гирагосова (антинекролог) 113–114

МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

MARINE BIOLOGICAL JOURNAL

2022 Vol. 7 no. 3

Established in February 2016

SCIENTIFIC JOURNAL

4 issues per year

CONTENTS

Scientific communications

- Andreyeva A. Y., Kladchenko E. S., and Gostyukhina O. L.*
Effect of hypoxia on immune system of bivalve molluscs (in Russ.) 3–16
- Hubareva E. S. and Anninsky B. E.*
State of population of *Calanus euxinus* (Copepoda) in the open pelagial
and on the shelf of the Black Sea near Crimea in autumn 2016 (in Russ.) 17–27
- Durucan F. and Dovgal I.*
New reports of suctorian ciliates (Ciliophora, Suctorea) epibiont on halacarid mites
and a harpacticoid copepod from Türkiye 28–33
- Zhivoglyadova L. A., Elfimova N. S., and Karmanov V. G.*
History of dispersion of the North American polychaete *Marenzelleria neglecta* Sikorski & Bick, 2004
(Annelida: Spionidae) in the northeastern Sea of Azov (in Russ.) 34–43
- Klindukh M. P.*
Dynamics of free amino acids in the brown alga *Fucus vesiculosus* Linnaeus, 1753
from the Barents Sea throughout the year (in Russ.) 44–59
- Kuznetsov A. V., Vainer V. I., Volkova Yu. M., Tsygankova V. M., Bochko D. N., and Mukhanov V. S.*
Trichoplax sp. H2 cultivation and regeneration from body fragments
and dissociated cell aggregates: Outlook for genetic modification (in Russ.) 60–79
- Ponomareva E. N., Krasilnikova A. A., Belaya M. M., and Kovalenko M. V.*
Preservation of biological diversity by cryopreservation methods:
Experience of the Southern Scientific Center of the RAS (in Russ.) 80–87
- Titlyanov E. A., Titlyanova T. V., Li X., Belous O. S., and Huang H.*
Benthic algae communities of coral reefs in the Sanya Bay (Hainan Island, China)
in sites heavily polluted with nutrients and their changes after the pollution source elimination 88–102

Notes

- Shoman N. Yu. and Akimov A. I.*
Competitive advantages of the diatom *Skeletonema costatum* Cleve, 1873
in the Black Sea in the winter–spring period (in Russ.) 103–106

Chronicle and information

- On the 85th anniversary of the world-famous parasitologist – professor Albina Gaevskaya (in Russ.) 107–110
- On the anniversary of D. Sc. Alexander Prazukin (in Russ.) 111–112
- A few pages from the life of Vitaly Giragosov (anti-obituary) (in Russ.) 113–114



НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 594.1:612.22.017.1

DOI: 10.21072/mbj.2022.07.3.01

**ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА КИСЛОРОДА
НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ**

© 2022 г. А. Ю. Андреева, Е. С. Кладченко, О. Л. Гостюхина

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: kladchenko_ekaterina@bk.ru

Поступила в редакцию 09.03.2021; после доработки 01.07.2021;
принята к публикации 19.08.2022; опубликована онлайн 13.09.2022.

В течение последних десятилетий исследования иммунной системы двустворчатых моллюсков сфокусированы на изучении влияния факторов внешней среды на базальный статус защитных систем организма. Иммунная система моллюсков чувствительна к действию абиотических факторов, среди которых наиболее существенны температура, солёность воды и уровень растворённого кислорода. Гипоксия широко распространена в прибрежных водах Мирового океана с 1950-х гг.; гипоксические зоны (с концентрацией кислорода менее $0,5 \text{ мл O}_2 \cdot \text{л}^{-1}$) сохраняются на шельфе в течение длительного времени, соответствующего продолжительности жизненного цикла многих гидробионтов. Двустворчатые моллюски, являясь бентосными организмами, часто попадают под воздействие пониженной концентрации растворённого кислорода. Данная группа водных беспозвоночных играет важную роль в функционировании водных экосистем, при этом двустворок активно используют для аквакультурного выращивания. Эффективность культивирования этих организмов напрямую зависит от их иммунного статуса, определяющего устойчивость к заболеваниям. Основу иммунной системы двустворчатых моллюсков составляет комплекс неспецифических реакций клеточного и гуморального компонентов. Гемоциты, циркулирующие в гемолимфе, являются ключевыми эффекторами клеточного иммунного ответа, которые, наряду с барьерными тканями моллюсков, осуществляют синтез гуморальных факторов с широким спектром антимикробной активности. Гемолимфа моллюсков различных видов содержит разные типы клеток, которые отличаются по размерам, морфологии и наличию включений в цитоплазме. Большинство видов двустворок имеет два типа гемоцитов — гранулярные и агранулярные гемоциты; они могут подразделяться на морфотипы в зависимости от числа и окраски гранул, размеров ядра и наличия органелл в цитоплазме. Считается, что гранулоциты являются основными иммунными клетками, осуществляющими фагоцитоз и (или) инкапсуляцию инфекционных агентов, а также их последующую нейтрализацию путём выделения активных форм кислорода, лизирующих ферментов и гуморальных антимикробных белков. Также в комплекс защитных систем организма входит антиоксидантная, тесно связанная с иммунитетом моллюсков, поскольку эта система осуществляет нейтрализацию активных форм кислорода, выделяющихся в процессе активации клеточных иммунных механизмов. Избыток этих веществ оказывает повреждающее действие на клетки моллюсков путём окисления белков, липидов цитоплазматической мембраны и ДНК. В настоящем обзоре приведены данные о влиянии недостатка кислорода на клеточный и гуморальный компоненты иммунной системы и на тканевый антиоксидантный комплекс двустворчатых моллюсков.

Ключевые слова: двустворчатые моллюски, иммунитет, гемоциты, гипоксия, антимикробные белки, антиоксидантный комплекс

Глубокие гипоксические условия, как правило, характерны для водных экосистем, где формируются зоны кислородного минимума (Diaz & Breitburg, 2009). Формирование гипоксии во многих водных экосистемах обусловлено причинами естественного характера, однако усиление антропогенной нагрузки на прибрежные участки водоёмов привело к существенному распространению гипоксии и аноксии в Мировом океане (Gallo & Levin, 2016). При этом достаточное количество растворённого кислорода — фактор, определяющий выживание организмов в водной среде. Гипоксия вызывает существенные трансформации структуры сообществ, приводя к смене их видового состава и к изменениям численности и биомассы популяций (Diaz & Breitburg, 2009). Недостаток кислорода особенно влияет на физиологию бентосных макроорганизмов (Wang Y. et al., 2012).

Двустворчатые моллюски — массовые представители прибрежных морских водоёмов. Многие виды являются объектами культивирования и обладают высокой коммерческой ценностью (Wijsman et al., 2019). Кроме того, моллюски играют ключевую роль в функционировании морских экосистем (Hartmann et al., 2016). Высокая биологическая и экономическая значимость этих организмов обуславливает интерес исследователей к изучению особенностей функционирования их иммунной системы и к определению степени влияния негативных факторов среды на способность иммунитета противостоять инфекционным агентам различной природы (Anderson, 2001).

Иммунная защита двустворчатых моллюсков основана в первую очередь на биологических барьерах (раковина и мантия), а также на неспецифических реакциях врождённого иммунитета (Donaghy et al., 2012). Иммунитет двустворок состоит из клеточного и гуморального компонентов (Anderson, 2001). Моллюски имеют открытую систему циркуляции. Основными агентами, осуществляющими клеточный иммунный ответ, являются гемоциты (Donaghy et al., 2012). Механизмы клеточного компонента иммунной системы моллюсков включают фагоцитоз и (или) инкапсуляцию патогенных микроорганизмов с последующей их деструкцией путём ферментативного расщепления или выброса активных форм кислорода (далее — АФК) (Pauletto et al., 2014). Гуморальный ответ реализуется посредством воздействия на патогены комплекса молекул, в числе которых — антимикробные белки (Rodrigues et al., 2010), лектины С-типа (Wang S. et al., 2010), пептидогликанраспознающие белки (Ikuta et al., 2019) и ряд других соединений (Wootton et al., 2003).

Некоторые авторы рассматривают антиоксидантный (далее — АО) тканевый комплекс как ещё один механизм иммунной защиты моллюсков, поскольку в процессе реализации ответа на воздействие патогенов и неблагоприятных условий среды происходит генерация гемоцитами АФК (Donaghy et al., 2012). При этом восстановление кислорода до супероксидного аниона приводит к появлению множества высокоактивных форм кислорода, среди которых гидроперекиси, синглетный кислород или гидроксил-радикалы (Lambert & Brand, 2004). Избыток этих веществ способен повредить клеточные структуры (Valko et al., 2006). Между тем баланс в производстве и нейтрализации АФК достигается за счёт поддержания высокой активности тканевых АО-ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы и др.), которые расщепляют гидроперекиси на менее активный газообразный кислород и воду (Monari et al., 2007). Таким образом реализуется внутренний механизм защиты организма от повреждающего действия АФК в процессе функционирования иммунной системы.

Являясь преимущественно донными организмами, моллюски часто сталкиваются с условиями периодической или постоянной гипоксии, что обусловило наличие у них широкого спектра адаптационных механизмов для выживания в среде с минимальным содержанием кислорода (Sokolov et al., 2019). В настоящей работе приведён обзор современных понятий о реакции клеточного и гуморального иммунного ответа, а также о реакции АО-комплекса двустворчатых моллюсков на недостаток кислорода.

1. Клеточный иммунный ответ

1.1. *Соотношение типов гемоцитов и общее число гемоцитов в гемолимфе.* Известно, что клеточный состав гемолимфы и функциональные особенности гемоцитов различны у представителей двустворчатых моллюсков. Различия в классификации гемоцитов у разных видов (а иногда и у одного вида) зависят от метода анализа и от принципа, положенного в основу классификации клеток (Hine, 1999). Обобщая существующие классификации, можно выделить два основных типа клеток — агранулярные (бластоподобные клетки, агранулоциты и гиалиноциты) и гранулярные (Andreyeva et al., 2019; Hine, 1999). Именно гранулярные клетки в большей степени отвечают за реализацию иммунного ответа (Wang W. et al., 2017), в связи с чем соотношение типов клеток в гемолимфе — это важный диагностический показатель функционального состояния организма моллюска. Снижение общего количества гемоцитов или изменение их соотношения в гемолимфе может повлиять на эффективность иммунного ответа.

Показано снижение общего числа гемоцитов в условиях недостатка кислорода у разных видов моллюсков. Так, инкубация мидий *Mytilus coruscus* Gould, 1861 на протяжении 3 суток в условиях гипоксии приводила к снижению относительного числа гранулярных клеток в гемолимфе (Sui et al., 2016). У мидии *Perna perna* (Linnaeus, 1758) инкубация на воздухе в течение 48 ч вела к уменьшению количества циркулирующих гемоцитов на 73 % (Nogueira et al., 2017). Снижение общего числа гемоцитов после инкубации в гипоксических условиях отмечено у *Perna viridis* (Linnaeus, 1758) (Wang Y. et al., 2011) и *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) (Matozzo et al., 2005). Уменьшение общего количества гемоцитов связывают с нарушением их пролиферации, миграцией гемоцитов в другие ткани, увеличением скорости апоптоза и уровня смертности (Mydlarz et al., 2006). Показано, что инкубация в условиях дефицита кислорода обуславливает увеличение уровня смертности гемоцитов *P. viridis* (Wang Y. et al., 2011) и *M. coruscus* (Sui et al., 2016). По результатам других исследований, гипоксия может приводить к снижению общего числа гемоцитов без увеличения уровня их смертности (Nogueira et al., 2017). Интересно, что у *Ch. gallina*, подвергшихся суточной гипоксии после 96 ч инкубации в условиях нормоксии, число гемоцитов восстановилось до уровня контроля (Matozzo et al., 2005). В то же время воздействие дефицита кислорода более 24 ч приводило к необратимым изменениям в отношении числа гемоцитов (Pampanin et al., 2002).

1.2. *Фагоцитоз.* Гемоциты способны фагоцитировать чужеродные частицы и патогенных микроорганизмов, проникающих в организм моллюска. Процесс фагоцитоза включает распознавание, связывание и инактивацию патогена (Canesi et al., 2002). Как правило, гипоксия приводит к подавлению фагоцитарной активности (Ellis et al., 2011); её снижение отмечено у *P. viridis* после суточной инкубации в условиях гипоксии (Wang Y. et al., 2011), у *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 после 12 и 24 ч инкубации на воздухе (Mosca et al., 2013), а также у *M. coruscus* (Sui et al., 2016), *Chlamys farreri* (К. Н. Jones & Preston, 1904) (Chen J. et al., 2007) и *Ch. gallina* (Matozzo et al., 2005). Изменения зависели от времени инкубации: при более длительной гипоксии зафиксирована меньшая интенсивность фагоцитоза (Sui et al., 2016). Снижение фагоцитарной активности при гипоксии связывают с уменьшением числа гемоцитов (Pampanin et al., 2002). Недостаточная продукция аденозинтрифосфорной кислоты при дефиците кислорода приводит к снижению способности мигрировать и фагоцитировать инородные частицы. Вместе с тем инкубация на воздухе *P. perna* способствовала увеличению фагоцитарной активности их гемоцитов (Nogueira et al., 2017).

1.3. *Спонтанная продукция активных форм кислорода.* Гемоциты продуцируют АФК для противомикробной защиты (Anderson, 2001). Обычно гранулярные клетки двустворчатых моллюсков в большей степени способны к генерации окислительного взрыва, чем агранулярные клетки (Pauletto et al., 2014). Считается, что основной источник АФК в гемоцитах —

митохондрии (Donaghy et al., 2013), а снижение продукции АФК может быть вызвано ингибированием ферментов, участвующих в генерации окислительного взрыва (Andreyeva et al., 2019). Ингибирование продукции АФК отмечено у гемоцитов *P. viridis* (Wang Y. et al., 2011). Снижение продукции АФК связывают с механизмами метаболической корректировки при участии фактора, индуцируемого гипоксией (hypoxia-inducible factor, HIF) (Michiels et al., 2002). С другой стороны, у *M. galloprovincialis* краткосрочная гипоксия индуцирует увеличение способности к продукции АФК в агранулоцитах и снижение — в гранулоцитах (Andreyeva et al., 2019). Аналогичные результаты получены другими авторами (Chen J. et al., 2007 ; Sui et al., 2016). Вероятно, у некоторых видов гипоксия индуцирует реорганизацию дыхательной цепи митохондрий, что приводит к увеличению образования АФК (Chandel et al., 2000).

2. Гуморальный иммунитет и реакция на гипоксию

Двустворчатые моллюски обладают комплексом гуморальных иммунных факторов, активируемых в ответ на инвазию патогенных микроорганизмов и (или) на негативное воздействие окружающей среды. Основными классами соединений, принимающих участие в гуморальном иммунном ответе моллюсков, являются антимикробные белки, цитокины, факторы системы комплемента, АО-ферменты и белки острой фазы (Rodrigues et al., 2010). Эффекторы гуморального неспецифического иммунитета обладают широким спектром активности против грамположительных и грамотрицательных бактерий, простейших, дрожжей, грибов и вирусов. Одними из первых выявлены и описаны антимикробные белки у *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758 и *M. galloprovincialis* (Charlet et al., 1996 ; Mitta et al., 2000). Наиболее распространённой у двустворок группой антимикробных белков являются дефензины, однако описаны и другие классы соединений, обладающих антимикробными свойствами, — гистоны (Dorrington et al., 2011), лизозимы и др. (Wang Q. et al., 2013). Показано, что семейство лизозимов у моллюсков представлено большим числом белков, которые в основной своей массе экспрессируются в мукозальных тканях (мантии, жабрах и гепатопанкреасе) (Wang Q. et al., 2013). Очевидно, что спектр соединений, принимающих участие в гуморальном иммунном ответе моллюсков, значительно шире известного в настоящее время. В основе принципа исследований лежит поиск аналогий с уже описанными факторами неспецифического иммунитета позвоночных, и при таком подходе специфические для моллюсков соединения остаются неописанными. Конкретная роль большинства идентифицированных факторов гуморального иммунитета всё ещё не изучена ввиду сложностей в постановке экспериментов и выборе методик. Тем не менее большинство авторов сходятся во мнении о первичной роли этих соединений в иммунном ответе моллюсков. Данное предположение основано на быстрых изменениях уровней экспрессии гуморальных факторов в ответ на экспериментальную иммунизацию гемоцитов (Suárez-Ulloa et al., 2013).

Поскольку база фундаментальных знаний об особенностях функционирования гуморального иммунитета двустворчатых моллюсков отсутствует, чрезвычайно сложно охарактеризовать степень негативного влияния недостатка кислорода на эту часть иммунной системы. Транскриптомные исследования свидетельствуют об активации целого комплекса генов, которые задействованы в ряде иммунных сигнальных путей, реализующих ответ на бактериальную инвазию у моллюсков, которых содержат в условиях гипоксии (Zhang et al., 2019). Показано, что она оказывает угнетающее действие на гуморальный иммунитет моллюсков. Уровень экспрессии дефензина в жабрах *Brachidontes pharaonis* (P. Fischer, 1870) снижался в 5–20 раз после 6-дневного воздействия низких концентраций кислорода (Parisi et al., 2015). У других представителей типа Mollusca также отмечены существенные изменения экспрессии иммунных генов. Так, у тихоокеанского абалона зарегистрировано угнетение экспрессии 6 генов, ассоциированных с иммунным ответом, в условиях дефицита кислорода (Shen et al., 2019). С другой стороны, инкубация морских ушек (*Haliotis discus discus* Reeve, 1846) в гипоксических условиях в течение 8 ч вызывала

существенное усиление транскрипции белков, задействованных в регуляции активности цитокинов, что говорит об активации последних, а также некоторых других белков, участвующих в иммунном ответе позвоночных (De Zoysa et al., 2009).

Непосредственные реакции гуморального иммунитета, возникающие вследствие изменений экспрессии генов, остаются предметом дискуссии, и результаты лишь фиксируют факт изменений экспрессии факторов гуморального иммунитета. Реальная физиологическая роль наблюдаемых изменений пока не исследована. Вероятно, подобные реакции иммунной системы имеют негативный характер, поскольку у некоторых видов отмечено снижение экспрессии факторов гуморального иммунитета в ответ на стимуляцию патогенными организмами при инкубации в гипоксических условиях (Sun et al., 2016).

3. Влияние гипоксии на антиоксидантный комплекс двустворчатых моллюсков

АО-комплекс моллюсков является важнейшей системой неспецифической защиты организма от окислительного стресса (далее — ОС) и в значительной мере определяет их устойчивость к действию неблагоприятных факторов среды (Гостюхина и Андреевко, 2018 ; Soldatov et al., 2014). Одним из наиболее существенных повреждающих факторов, защиту от которых обеспечивает АО-система, является дефицит кислорода. Повышенное высвобождение АФК у моллюсков при гипоксии увеличивает риск ОС (Tomanek, 2015). АО-защиту моллюсков обеспечивают АО-ферменты, такие как каталаза, супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза (далее — КАТ, СОД и ГП соответственно), а также ряд низкомолекулярных антиоксидантов (Livingstone, 2001). Некоторые компоненты АО-комплекса не только обеспечивают защиту от гипоксии, но и служат важными гуморальными факторами иммунной защиты; например, активность КАТ, СОД и ГП хорошо коррелирует с иммунной компетентностью клеток моллюсков (Liu et al., 2004 ; Sui et al., 2017). Высокая активность разных звеньев АО-системы у моллюсков-эврибионтов позволяет им выдерживать длительный дефицит кислорода в воде (Irato et al., 2007 ; Soldatov et al., 2014), адаптироваться к нему и занимать свою собственную эконишу (Довженко, 2006).

3.1. Видовая специфика в реакциях антиоксидантного комплекса на гипоксию. Несмотря на универсальный, неспецифический характер действия АО-комплекса, он может иметь специфику в зависимости от видовых, тканевых, эволюционных и экологических особенностей моллюсков (Гостюхина и Андреевко, 2018 ; Довженко, 2006 ; Истомина, 2012 ; Gostyukhina & Andreenko, 2019 ; Livingstone, 2001 ; Soldatov et al., 2014). Так, в условиях экспериментальной гипоксии и аноксии выявили три типа реакций: увеличение активности АО-ферментов (у толерантных к гипоксии видов), снижение их активности и постоянство состояния АО-комплекса (Истомина и др., 2011). Повышение активности СОД и глутатионредуктазы обнаружили у *Spisula sachalinensis* (Schrenck, 1862) и *Littorina mandshurica* (Schrenck, 1862) — моллюсков, испытывающих дефицит кислорода в силу условий среды обитания. *S. sachalinensis* периодически закапывается в грунт и находится в гипоксических условиях, а *L. mandshurica* — обитатель литорали — ежедневно подвержена колебаниям уровня кислорода при приливах и отливах. Эти реакции связывают со способностью АО-ферментов данных моллюсков к быстрой реакции на рост уровня АФК. В гепатопанкреасе *S. sachalinensis* также отмечено снижение содержания восстановленного глутатиона (далее — GSH) (Истомина, 2012), что отражает активную АО-роль GSH и быстрое исчерпание его ресурса при гипоксии. У устойчивых к ОС видов моллюсков при гипоксии повышается активность АО-ферментов, в первую очередь СОД и КАТ. В частности, реакция на кратковременную и продолжительную критическую гипоксию у моллюска *Astarte borealis* (Schumacher, 1817) выражалась в активации СОД и КАТ, а также ГП (Abele-Oeschger & Oeschger, 1995). В гепатопанкреасе и жабрах устойчивой к гипоксии анадары *Scapharca inaequivalvis* (Bruguière, 1789) тоже выявлена высокая активность КАТ, СОД и ГП (Irato et al., 2007).

У стенооксильного вида *Patinopecten yessoensis* (Jay, 1857) активность АО-ферментов падала, что обусловлено меньшей устойчивостью данного моллюска к гипоксии. Это связывают с его обитанием в относительно стабильных условиях и способностью избегать гипоксии (Истомина и др., 2011). У чувствительного к ОС моллюска *Tapes philippinarum* (A. Adams & Reeve, 1850) при гипоксии показано снижение активности СОД и КАТ, что может свидетельствовать о наличии ОС в тканях (Irato et al., 2007). Также у гребешка *Mizuhopecten yessoensis* при гипоксии зарегистрирован существенный рост уровня GSH — в 6 раз (Истомина, 2012). Это отражает ведущую роль GSH в защите чувствительных к ОС моллюсков.

Третий способ реагирования — постоянная АО-активность — также связан, вероятно, с устойчивостью к недостатку кислорода. Отсутствие достоверных изменений АО-комплекса при гипоксии показано у *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) и *Tegula rustica* (Gmelin, 1791), обитающих в сублиторали, ведущих прикрепленный или малоподвижный образ жизни и не подверженных частому дефициту кислорода, в отличие от литоральных или роющих моллюсков (Истомина и др., 2011). Кроме того, мидия Грея, *C. grayanus*, способна длительное время поддерживать постоянную активность СОД и КАТ при дефиците кислорода на фоне постоянного уровня продуктов перекисного окисления липидов (Истомина, 2012). Такая стратегия АО-защиты обусловлена, возможно, эволюционной приспособленностью митилид к длительной гипоксии/аноксии (Hicks & McMahon, 2005). Однако при этом отмечено снижение активности глутатионредуктазы и уровня GSH (Истомина, 2012). Это указывает на то, что основной вклад в АО-защиту *C. grayanus* при гипоксии вносят ключевые ферменты — СОД и КАТ. В тканях *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906), ещё более устойчивой к ОС, чем *M. galloprovincialis*, показаны более высокая активность АО-ферментов и существенно повышенный ресурс GSH (Гостюхина и Андреевко, 2018). Это даёт анадаре преимущество для обитания и выживания в гипоксических условиях среды.

3.2. Чувствительность отдельных компонентов антиоксидантного комплекса к недостатку кислорода. В ответе на недостаток кислорода отмечают и специфику реакций отдельных компонентов АО-комплекса. В первую очередь при гипоксии выявляют рост активности СОД и КАТ (Chen J. et al., 2007 ; Chen X. et al., 2014 ; Sui et al., 2017). Среди АО-систем первую и наиболее важную линию защиты обеспечивает СОД (Sui et al., 2017). В условиях дефицита кислорода нередко обнаруживают быстрое повышение активности СОД — в гемоцитах гребешков *Ch. farreri* (Chen J. et al., 2007), в гепатопанкреасе и жабрах анадары *S. inaequalis*, у устриц *Pteria penguin* (Röding, 1798) (Gu et al., 2020), у *S. sachalinensis* и *L. mandshurica* (Истомина и др., 2011), в жабрах и гемолимфе *M. coruscus* (Sui et al., 2017). Как правило, СОД реагирует одной из первых, но преимущественно на начальных этапах гипоксии. При дальнейшем дефиците кислорода наблюдают снижение активности фермента; так, у *Ch. farreri* уменьшение активности СОД произошло через 7, 14 и 21 день, что свидетельствует о том, что продолжительная гипоксия может привести к инактивации основных защитных ферментов (Chen J. et al., 2007). Примечательно, что у высокоустойчивого к гипоксии двустворчатого моллюска *A. borealis* реакция на кратковременную и продолжительную критическую гипоксию выражалась в активации не только СОД, но и КАТ, а также ГП (Abele-Oeschger & Oeschger, 1995). Это указывает на совместное действие разных звеньев АО-комплекса, в том числе при длительной гипоксии. Возможно, такая АО-стратегия и определяет высокую устойчивость *A. borealis* к гипоксии.

Повышенная активность СОД приводит к высокой скорости дисмутации супероксидного анион-радикала в H_2O_2 , что стимулирует активность КАТ, катализирующей расщепление H_2O_2 и гидропероксидов, а также защищает организм от высоких количеств гидроксильных радикалов (Hermes-Lima, 2004). Показано, что активность КАТ часто повышается в результате увеличения H_2O_2 при ОС (Hermes-Lima, 2004). Это согласуется с результатами (Sui et al., 2017): активность КАТ у *M. coruscus* увеличивается в ответ на низкий уровень кислорода и pH.

В ряде случаев активность КАТ уменьшается при дефиците кислорода в воде, например у мидии *M. galloprovincialis*. При этом в защите мидии от гипоксии более значительную роль, чем каталаза, могут играть другие АО-ферменты, в частности глутатионтрансфераза (далее — ГТ) (Woo et al., 2013). Такое разнообразие ответов отражает видоспецифичность реакций АО-комплекса при гипоксии, указывает на их сложность и изменчивость, а также на пластичность АО-системы в защите моллюсков от гипоксии/аноксии.

Показано и доминирование в АО-защите моллюсков низкомолекулярных антиоксидантов, в первую очередь GSH. Это наблюдают, как правило, у более чувствительных к ОС видов. Так, у стенооксильного вида — гребешка *P. yessoensis* — при гипоксии продемонстрировано снижение активности АО-ферментов (Истомина и др., 2011), что определяется, вероятно, меньшей их устойчивостью к недостатку кислорода. Однако на этом фоне у гребешка отмечают значительный рост ресурса GSH, что обеспечивает защиту моллюска от АФК в условиях пониженной активности ферментов. Подтверждением этому может служить способность GSH инактивировать супероксидный анион-радикал, отчасти дублируя таким образом функцию СОД (Hermes-Lima, 2004). В условиях гипоксии такая взаимная замена может способствовать эффективной защите и выживанию моллюска: она позволяет при нарастании уровня АФК обеспечить быстрый и эффективный АО-ответ с помощью низкомолекулярного глутатиона без активации СОД, что не требует затрат времени и энергии (Гостюхина и Андреевко, 2018).

Важную защитную роль GSH демонстрирует и сравнение АО-реакций моллюсков с разной устойчивостью к дефициту кислорода. В ряде тканей чувствительного к гипоксии японского гребешка *M. yessoensis* показана не только повышенная активность АО-ферментов, но и более высокий ресурс GSH, в то время как у мидии Грея, *S. grayanus*, обнаружен только рост активности СОД в жабрах. Это является видоспецифической реакцией и определяет устойчивость данных видов к гипоксии (Belcheva et al., 2016).

3.3. Тканеспецифические особенности антиоксидантного комплекса в условиях гипоксии. Реакции АО-системы моллюсков на гипоксию носят и тканеспецифический характер. Как правило, наибольшую активность АО-ферментов выявляют в гепатопанкреасе и жабрах (Гостюхина и Андреевко, 2018 ; Довженко, 2006), однако есть ряд исключений. Так, для *M. coruscus* показана более высокая активность КАТ, СОД и ГТ при гипоксии в гемоцитах, чем в жабрах (Sui et al., 2017). Это связывают с более важной ролью гемолимфы в иммунной защите. У других видов при гипоксии также обнаруживают подобные особенности — более высокие, чем в жабрах, значения активности КАТ в гемоцитах *M. galloprovincialis* (Katsumiti et al., 2015) и значения активности СОД и ГТ в гемоцитах *Venerupis philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) (Chen X. et al., 2014). У *A. kagoshimensis* максимальные значения уровня GSH и активности ГТ зарегистрированы в ноге. Это указывает на активное участие GSH в работе данного фермента как кофактора и одновременно — на его собственную активную АО-роль. Содержание других низкомолекулярных антиоксидантов (глюкозы, аминокислот и мочевины) было самым высоким в гепатопанкреасе и жабрах (таргетных органах), а наименьшим — в ноге (Gostyukhina & Andreenko, 2019). Вероятно, эти низкомолекулярные антиоксиданты вносят значительный вклад в АО-защиту моллюска в условиях гипоксии. К такому же заключению приходят другие авторы. Сделан вывод о ключевой роли низкомолекулярного звена АО-системы в детоксикации АФК у анадары при аноксии и реоксигенации, поскольку низкомолекулярные антиоксиданты в меньшей степени зависят от интенсивности метаболизма и источников энергии (Истомина и др., 2011).

3.4. Особенности функционирования антиоксидантной системы при нахождении в атмосфере. Ряд исследований посвящён влиянию на моллюсков аноксии при воздействии воздуха. Так, аноксия в сочетании с разной температурой у гребешка *Ch. farreri* приводила к комплексу реакций — увеличению продукции АФК, снижению активности кислой фосфатазы

и числа фагоцитарных гемоцитов, росту смертности гемоцитов. При этом активность СОД достоверно не зависела от температуры воздуха, но зависела от длительности аноксии (Chen J. et al., 2007).

В условиях аноксии на воздухе при +25 °С в течение 2 ч в лизате гемоцитов гребешков активность СОД значительно повышалась на фоне одновременного существенного увеличения продукции АФК (Chen J. et al., 2007). Это указывает на защитное действие СОД при росте окислительной нагрузки в таких условиях. У гребешков при температуре +5 °С продукция АФК была существенно выше исходных значений при этом режиме аноксии, однако активность СОД в лизате гемоцитов сохранялась на уровне контроля (Chen J. et al., 2007). Подобные реакции свидетельствуют о важной защитной роли СОД при разных режимах дефицита кислорода и при разной температуре. В то же время авторы считают, что при высокой температуре гребешки показали относительно низкую переносимость аноксии. Это согласуется с мнением ряда специалистов о том, что влияние аноксических и гипоксических нагрузок может изменять иммунные реакции моллюска и приводить к повышенной восприимчивости к заболеваниям (Matozzo et al., 2005 ; Monari et al., 2005 ; Pampanin et al., 2002). Возможно, такой тип АО-защиты больше свойственен стеноокисильным моллюскам.

Лидирующую роль СОД в защите моллюсков от гипоксии отмечают и у *P. penguin* при выдерживании на воздухе (Gu et al., 2020). Активность СОД увеличивалась после воздействия воздуха и затем стабилизировалась в гепатопанкреасе и гемолимфе устрицы, что выразилось в неизменном уровне МДА в течение 6 и 9 ч гипоксии. В отличие от активности СОД, активность КАТ и ГП, а также общая АО-способность быстро увеличивались, а затем постепенно снижались после 6 ч пребывания моллюска на воздухе. Возможно, причиной послужил рост уровня МДА в гемолимфе после 9 и 12 ч воздействия гипоксии.

3.5. Обратимость воздействия гипоксии на антиоксидантный комплекс при реоксигенации. Ряд исследований посвящён ответу АО-системы моллюсков на гипоксию и последующую реоксигенацию. В жабрах *M. galloprovincialis* в условиях 48-часового воздействия воздуха с последующей 48-часовой реоксигенацией наблюдали рост экспрессии генов и активности КАТ, СОД и ГТ. Возврат к нормоксическому уровню отмечали во время реоксигенации (Giannetto et al., 2017). Подобные реакции отражают превентивный рост АО-потенциала моллюска для борьбы с окислительным взрывом во время будущей реоксигенации.

При действии разных режимов гипоксии у *M. galloprovincialis* установили снижение активности КАТ, но неизменную активность СОД, а также рост активности ГТ и последующее её снижение на фоне роста уровня перекисного окисления липидов. Это отражает транскрипционную стабильность и избирательные изменения генов отдельных АО-ферментов, обеспечивающих защиту мидии при разных режимах дефицита кислорода (Woo et al., 2013). Кроме того, выявлены разные реакции у отдельных изоформ ферментов. Так, при влиянии аноксии на иммунный ответ гемоцитов *Ch. gallina* активность Cu/Zn-СОД снизилась, в то время как активность Mn-СОД значительно возросла. Особенно высока активность Mn-СОД во время реоксигенации, что обусловлено, вероятно, высокой индуцибельностью этой изоформы и её важной ролью в защите от АФК при возврате к нормоксии (Monari et al., 2005).

Заключение. Результаты исследований последних лет позволили существенно углубить и расширить знания о последствиях воздействия гипоксии на иммунную систему моллюсков на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях. Дальнейший анализ адаптационных механизмов гемоцитов моллюсков позволит оценить и предсказать возможные негативные последствия воздействия гипоксии на клеточный компонент иммунной системы, а молекулярно-генетические исследования дадут возможность оценить степень воздействия дефицита кислорода на гуморальный компонент. В свою очередь, степень влияния гипоксии на иммунитет двустворчатых

моллюсков будет зависеть от комбинации климатических изменений в среде (глобальное потепление, изменения ветровых характеристик, течений и т. д.), а также от перспектив использования прибрежных участков суши в хозяйственной деятельности. Реакции антиоксидантного комплекса двустворчатых моллюсков на гипоксию, как и иммунный ответ, видоспецифичны. В АО-ответ вовлекаются компоненты как ферментного, так и низкомолекулярного звена АО-системы в разных комбинациях. Изменения в АО-активности при гипоксии нередко вызваны подготовкой к последующей реоксигенации и часто носят обратимый характер. Это отражает функциональную пластичность АО-системы и её важную роль в защитных механизмах, а также в формировании неспецифических иммунных реакций организма двустворчатых моллюсков при дефиците кислорода в среде.

Влияние гипоксии на антиоксидантный комплекс двустворчатых моллюсков изучали в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Закономерности организации иммунной системы промысловых гидробионтов и исследование влияния факторов внешней среды на функционирование их защитных систем» (№ 121102500161-4). Исследование влияния дефицита кислорода на иммунную систему двустворчатых моллюсков проводили при финансовой поддержке гранта президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских учёных — кандидатов наук (проект МК609.2020.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гостюхина О. Л., Андреев Т. И. Ферментное и низкомолекулярное звенья антиоксидантного комплекса двух видов черноморских моллюсков с разной устойчивостью к окислительному стрессу: *Mytilus galloprovincialis* Lam. и *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) // *Журнал общей биологии*. 2018. Т. 79, № 6. С. 482–492. [Gostyukhina O. L., Andreenko T. I. Enzymatic and low-molecular weight units of antioxidant complex in two species of the Black Sea mollusks with different resistance to oxidative stress: *Mytilus galloprovincialis* Lam. and *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906). *Zhurnal obshchei biologii*, 2018, vol. 79, no. 6, pp. 482–492. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.1134/S0044459618060040>
2. Довженко Н. В. Реакция антиоксидантной системы двустворчатых моллюсков на воздействие повреждающих факторов среды : автореф. ... дис. канд. биол. наук : 03.00.16. Владивосток, 2006. 22 с. [Dovzhenko N. V. *Reaktsiya antioksidantnoi sistemy dvustvorchatykh mollyuskov na vozdeistvie povrezhdayushchikh faktorov sredy* : avtoref. ... dis. kand. biol. nauk : 03.00.16. Vladivostok, 2006, 22 p. (in Russ.)]
3. Истомина А. А. Реакция антиоксидантной системы у массовых видов моллюсков залива Петра Великого в условиях дефицита кислорода и действия ионов Cu^{2+} : автореф. ... дис. канд. биол. наук : 03.08.02. Владивосток, 2012. 18 с. [Istomina A. A. *Reaktsiya antioksidantnoi sistemy u massovykh vidov mollyuskov zaliva Petra Velikogo v usloviyakh defitsita kisloroda i deistviya ionov Cu^{2+}* : avtoref. ... dis. kand. biol. nauk : 03.08.02. Vladivostok, 2012, 18 p. (in Russ.)]
4. Истомина А. А., Довженко Н. В., Бельчева Н. Н., Челомин В. П. Активность антиоксидантных ферментов у разных видов моллюсков в условиях гипоксии/аноксии // *Известия Самарского НЦ РАН*. 2011. Т. 13, № 1 (5). С. 1106–1108. [Istomina A. A., Dovzhenko N. V., Belcheva N. N., Chelomin V. P. Activity of antioxidant enzymes at different kinds of molluscs in the hypoxia/anoxia condition. *Izvestiya Samarskogo NTs RAN*, 2011, vol. 131, no. 2, pp. 1106–1108. (in Russ.)]
5. Abele-Oeschger D., Oeschger R. Hypoxia-induced autoxidation of haemoglobin in the benthic invertebrates *Arenicola marina* (Polychaeta) and *Astarte borealis* (Bivalvia) and the possible effects of sulphide. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1995, vol. 187, iss. 1, pp. 63–80. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(94\)00172-A](https://doi.org/10.1016/0022-0981(94)00172-A)
6. Anderson R. S. Reactive oxygen species and antimicrobial defenses of invertebrates: A bivalve model. In: *Phylogenetic Perspectives on the Vertebrate Immune System* / G. Beck, M. Sugumaran, E. L. Cooper (Eds). Boston, MA : Springer, 2001, pp. 131–139. (Advances

- in *Experimental Medicine and Biology* ; vol. 484). https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1291-2_12
7. Andreyeva A. Y., Efremova E. S., Kukhareva T. A. Morphological and functional characterization of hemocytes in cultivated mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and effect of hypoxia on hemocyte parameters. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, vol. 89, pp. 361–367. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.04.017>
 8. Belcheva N. N., Dovzhenko N. V., Istomina A. A., Zhukovskaya A. F., Kukla S. P. The antioxidant system of the Gray's mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) and the Japanese scallop *Mizuhopecten yessoensis* (Jay, 1857) (Mollusca: Bivalvia). *Russian Journal of Marine Biology*, 2016, vol. 42, iss. 6, pp. 489–494. <http://dx.doi.org/10.1134/S106307401606002X>
 9. Canesi L., Gallo G., Gavioli M., Pruzzo C. Bacteria–hemocyte interactions and phagocytosis in marine bivalves. *Microscopy Research and Technique*, 2002, vol. 57, iss. 6, pp. 469–476. <https://doi.org/10.1002/jemt.10100>
 10. Chandel N. S., McClintock D. S., Feliciano C. E., Wood T. M., Melendez J. A., Rodriguez A. M., Schumacker P. T. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia: A mechanism of O₂ sensing. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, vol. 275, iss. 33, pp. 25130–25138. <https://doi.org/10.1074/jbc.m001914200>
 11. Charlet M., Chernysh S., Philippe H., Hetru C., Hoffmann J. A., Bulet P. Innate immunity: Isolation of several cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusc, *Mytilus edulis*. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, vol. 271, iss. 36, pp. 21808–21813. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.36.21808>
 12. Chen J., Mai K., Ma H., Wang X., Deng D., Liu X., Xu W., Liufu Z., Zhang W., Tan B., Ai Q. Effects of dissolved oxygen on survival and immune responses of scallop (*Chlamys farreri* Jones et Preston). *Fish & Shellfish Immunology*, 2007, vol. 22, iss. 3, pp. 272–281. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.06.003>
 13. Chen X., Zhang R., Li C., Bao Y. Mercury exposure modulates antioxidant enzymes in gill tissue and hemocytes of *Venerupis philippinarum*. *Invertebrate Survival Journal*, 2014, vol. 11, no. 1, pp. 298–308.
 14. De Zoysa M., Whang I., Lee Y., Lee S., Lee J. S., Lee J. Transcriptional analysis of antioxidant and immune defense genes in disk abalone (*Haliotis discus discus*) during thermal, low-salinity and hypoxic stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, vol. 154, iss. 4, pp. 387–395. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2009.08.002>
 15. Diaz R. J., Breitburg D. L. The hypoxic environment. In: *Hypoxia* / J. G. Richards, A. P. Farrell, C. J. Brauner (Eds). New York ; London ; Oxford ; Boston ; San Diego : Academic Press, 2009, chap. 1, pp. 1–23. (Fish Physiology ; vol. 27). [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)00001-0](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)00001-0)
 16. Donaghy L., Kraffe E., Le Goïc N., Lambert C., Volety A. K., Soudant P. Reactive oxygen species in unstimulated hemocytes of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: A mitochondrial involvement. *PLoS One*, 2012, vol. 7, iss. 10, art. no. e46594 (10 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046594>
 17. Donaghy L., Artigaud S., Sussarellu R., Lambert C., Le Goïc N., Hégaret H., Soudant P. Tolerance of bivalve mollusc hemocytes to variable oxygen availability: A mitochondrial origin? *Aquatic Living Resources*, 2013, vol. 26, no. 3, pp. 257–261. <https://doi.org/10.1051/alr/2013054>
 18. Dorrington T., Villamil L., Gómez-Chiarri M. Up-regulation in response to infection and antibacterial activity of oyster histone H4. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, vol. 30, iss. 1, pp. 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.09.006>
 19. Ellis R. P., Parry H., Spicer J. I., Hutchinson T. H., Pipe R. K., Widdicombe S. Immunological function in marine invertebrates: Responses to environmental perturbation. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, vol. 30, iss. 6, pp. 1209–1222. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.03.017>
 20. Gallo N. D., Levin L. A. Fish ecology and evolution in the world's oxygen minimum zones and implications of ocean deoxygenation. *Advances in Marine Biology*, 2016, vol. 74, pp. 117–198. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2016.04.001>
 21. Giannetto A., Maisano M., Cappello T., Oliva S., Parrino V., Natalotto A., De Marco G., Fasulo S. Effects of oxygen availability on oxidative stress biomarkers in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Biotechnology*, 2017, vol. 19, no. 6, pp. 614–626. <https://doi.org/10.1007/s10126-017-9780-6>

22. Gostyukhina O. L., Andreenko T. I. Tissue metabolism and the state of the antioxidant complex in the Black Sea mollusks *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) and *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 with different tolerances to oxidative stress. *Russian Journal of Marine Biology*, 2019, vol. 45, no. 3, pp. 211–220. <https://doi.org/10.1134/S1063074019030039>
23. Gu Z., Wei H., Cheng F., Wang A., Liu C. Effects of air exposure time and temperature on physiological energetics and oxidative stress of winged pearl oyster (*Pteria penguin*). *Aquaculture Reports*, 2020, vol. 17, art. no. 100384 (9 p.). <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100384>
24. Hartmann J. T., Beggel S., Auerswald K., Stoeckle B. C., Geist J. Establishing mussel behavior as a biomarker in ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 2016, vol. 170, pp. 279–288. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.06.014>
25. Hermes-Lima M. Oxygen in biology and biochemistry: Role of free radicals. In: *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation* / K. B. Storey (Ed.). Holoken, NJ : Wiley-Liss, 2004, chap. 12, pp. 319–368. <https://doi.org/10.1002/047167558X.ch12>
26. Hicks D. W., McMahon R. F. Effects of temperature on chronic hypoxia tolerance in the non-indigenous brown mussel, *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae) from the Texas Gulf of Mexico. *Journal of Molluscan Studies*, 2005, vol. 71, iss. 4, pp. 401–408. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyi042>
27. Hine P. M. The inter-relationships of bivalve haemocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 1999, vol. 9, iss. 5, pp. 367–385. <https://doi.org/10.1006/fsim.1998.0205>
28. Ikuta T., Tame A., Saito M., Aoki Y., Nagai Y., Sugimura M., Inoue K., Fujikura K., Ohishi K., Maruyama T., Yoshida T. Identification of cells expressing two peptidoglycan recognition proteins in the gill of the vent mussel, *Bathymodiolus septemdiarum*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, vol. 93, pp. 815–822. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.022>
29. Irato P., Piccinni E., Cassini A., Santovito G. Antioxidant responses to variations in dissolved oxygen of *Scapharca inaequivalvis* and *Tapes philippinarum*, two bivalve species from the lagoon of Venice. *Marine Pollution Bulletin*, 2007, vol. 54, iss. 7, pp. 1020–1030. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.01.020>
30. Katsumiti A., Gilliland D., Arostegui I., Ca-jaraville M. P. Mechanisms of toxicity of Ag nanoparticles in comparison to bulk and ionic Ag on mussel hemocytes and gill cells. *PLoS One*, 2015, vol. 10, iss. 6, art. no. e0129039 (30 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129039>
31. Lambert A. J., Brand M. D. Superoxide production by NADH: Ubiquinone oxidoreductase (complex I) depends on the pH gradient across the mitochondrial inner membrane. *Biochemical Journal*, 2004, vol. 382, iss. 2, pp. 511–517. <https://doi.org/10.1042/BJ20040485>
32. Liu S., Jiang X., Hu X., Gong J., Hwang H., Mai K. Effects of temperature on non-specific immune parameters in two scallop species: *Argopecten irradians* (Lamarck 1819) and *Chlamys farreri* (Jones & Preston 1904). *Aquaculture Research*, 2004, vol. 35, iss. 7, pp. 678–682. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01065.x>
33. Livingstone D. R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 2001, vol. 42, iss. 8, pp. 656–666. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00060-1)
34. Matozzo V., Monari M., Foschi J., Papi T., Cattani O., Marin M. G. Exposure to anoxia of the clam *Chamelea gallina*: I. Effects on immune responses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005, vol. 325, iss. 2, pp. 163–174. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.04.030>
35. Michiels C., Minet E., Mottet D., Raes M. Regulation of gene expression by oxygen: NF- κ B and HIF-1, two extremes. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002, vol. 33, iss. 9, pp. 1231–1242. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01045-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01045-6)
36. Mitta G., Hubert F., Dyrzynda E. A., Boudry P., Roch P. Mytilin B and MGD2, two antimicrobial peptides of marine mussels: Gene structure and expression analysis. *Developmental & Comparative Immunology*, 2000, vol. 24, iss. 4, pp. 381–393. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(99\)00084-1](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(99)00084-1)
37. Monari M., Matozzo V., Foschi J. M., Marin M. G., Cattani O. Exposure to anoxia of the clam, *Chamelea gallina*: II: Modulation of superoxide dismutase activity and expression in haemocytes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005,

- vol. 325, iss. 2, pp. 175–188. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.05.001>
38. Monari M., Matozzo V., Foschi J., Cattani O., Serazanetti G. P., Marin M. G. Effects of high temperatures on functional responses of haemocytes in the clam *Chamelea gallina*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2007, vol. 22, iss. 1–2, pp. 98–114. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.03.016>
 39. Mosca F., Narcisi V., Calzetta A., Gioia L., Finioia M. G., Latini M., Tiscar P. G. Effects of high temperature and exposure to air on mussel (*Mytilus galloprovincialis*, Lmk 1819) hemocyte phagocytosis: Modulation of spreading and oxidative response. *Tissue and Cell*, 2013, vol. 45, iss. 3, pp. 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2012.12.002>
 40. Mydlarz L. D., Jones L. E., Harvell C. D. Innate immunity, environmental drivers, and disease ecology of marine and freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2006, vol. 37, pp. 251–288. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110103>
 41. Nogueira L., Mello D. F., Trevisan R., Garcia D., da Silva Acosta D., Dafre A. L., de Almeida E. A. Hypoxia effects on oxidative stress and immunocompetence biomarkers in the mussel *Perna perna* (Mytilidae, Bivalvia). *Marine Environmental Research*, 2017, vol. 126, pp. 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.02.009>
 42. Pampanin D. M., Ballarin L., Carotenuto L., Marin M. G. Air exposure and functionality of *Chamelea gallina* haemocytes: Effects on haematocrit, adhesion, phagocytosis and enzyme contents. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2002, vol. 131, iss. 3, pp. 605–614. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(01\)00512-8](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(01)00512-8)
 43. Parisi M. G., Vizzini A., Toubiana M., Sarà G., Cammarata M. Identification, cloning and environmental factors modulation of a $\alpha\beta$ defensin from the Lessepsian invasive mussel *Brachidontes pharaonis* (Bivalvia: Mytilidae). *Invertebrate Survival Journal*, 2015, vol. 12, no. 1, pp. 264–273.
 44. Pauletto M., Milan M., Moreira R., Novoa B., Figueras A., Babbucci M., Patarnello T., Bargelloni L. Deep transcriptome sequencing of *Pecten maximus* hemocytes: A genomic resource for bivalve immunology. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, vol. 37, iss. 1, pp. 154–165. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.01.017>
 45. Rodrigues J., Brayner F. A., Alves L. C., Dixit R., Barillas-Mury C. Hemocyte differentiation mediates innate immune memory in *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Science*, 2010, vol. 329, iss. 5997, pp. 1353–1355. <https://doi.org/10.1126/science.1190689>
 46. Shen Y., Huang Z., Liu G., Ke C., You W. Hemolymph and transcriptome analysis to understand innate immune responses to hypoxia in *Pacific abalone*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2019, vol. 30, pp. 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2019.02.001>
 47. Sokolov E. P., Markert S., Hinzke T., Hirschfeld C., Becher D., Ponsuksili S., Sokolova I. M. Effects of hypoxia-reoxygenation stress on mitochondrial proteome and bioenergetics of the hypoxia-tolerant marine bivalve *Crassostrea gigas*. *Journal of Proteomics*, 2019, vol. 194, pp. 99–111. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.12.009>
 48. Soldatov A. A., Gostyukhina O. L., Golovina I. V. Functional states of antioxidant enzymatic complex of tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. under conditions of oxidative stress. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 2014, vol. 50, iss. 3, pp. 206–214. <https://doi.org/10.1134/S0022093014030028>
 49. Suárez-Ulloa V., Fernández-Tajes J., Manfrin C., Gerdol M., Venier P., Eirín-López J. M. Bivalve omics: State of the art and potential applications for the biomonitoring of harmful marine compounds. *Marine Drugs*, 2013, vol. 11, no. 11, pp. 4370–4389. <https://doi.org/10.3390/md11114370>
 50. Sui Y., Hu M., Shang Y., Wu F., Huang X., Dupont S., Storch D., Pörtner H.-O., Li J., Lu W., Wang Y. Antioxidant response of the hard shelled mussel *Mytilus coruscus* exposed to reduced pH and oxygen concentration. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, vol. 137, pp. 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.023>
 51. Sui Y., Kong H., Shang Y., Huang X., Wu F., Hu M., Lin D., Lu W., Wang Y. Effects of short-term hypoxia and seawater acidification on hemocyte responses of the mussel *Mytilus coruscus*. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, vol. 108, iss. 1–2, pp. 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.05.001>

52. Sun Y., Zhang X., Wang G., Lin S., Zeng X., Wang Y., Zhang Z. PI3K-AKT signaling pathway is involved in hypoxia/thermal-induced immunosuppression of small abalone *Haliotis diversicolor*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, vol. 59, pp. 492–508. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.011>
53. Tomanek L. Proteomic responses to environmentally induced oxidative stress. *Journal of Experimental Biology*, 2015, vol. 218, pt. 12, pp. 1867–1879. <https://doi.org/10.1242/jeb.116475>
54. Valko M., Rhodes C., Moncol J., Izakovic M. M., Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, vol. 160, iss. 1, pp. 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
55. Wang S., Peatman E., Liu H., Bushek D., Ford S. E., Kucuktas H., Quilang J., Li P., Wallace R., Wang Y., Guo X., Liu Z. Microarray analysis of gene expression in eastern oyster (*Crassostrea virginica*) reveals a novel combination of antimicrobial and oxidative stress host responses after dermo (*Perkinsus marinus*) challenge. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, vol. 29, iss. 6, pp. 921–929. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.07.035>
56. Wang Q., Wang C., Mu C., Wu H., Zhang L., Zhao J. A novel C-type lysozyme from *Mytilus galloprovincialis*: Insight into innate immunity and molecular evolution of invertebrate C-type lysozymes. *PLoS One*, 2013, vol. 8, iss. 6, art. no. e67469 (12 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067469>
57. Wang W., Li M., Wang L., Chen H., Liu Z., Jia Z., Qiu L., Song L. The granulocytes are the main immunocompetent hemocytes in *Crassostrea gigas*. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, vol. 67, pp. 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.09.017>
58. Wang Y., Hu M., Cheung S. G., Shin P. K. S., Lu W., Li J. Immune parameter changes of hemocytes in green-lipped mussel *Perna viridis* exposure to hypoxia and hyposalinity. *Aquaculture*, 2012, vols 356–357, pp. 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.06.001>
59. Wang Y., Hu M., Shin P. K., Cheung S. G. Immune responses to combined effect of hypoxia and high temperature in the green-lipped mussel *Perna viridis*. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, vol. 63, iss. 5–12, pp. 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.035>
60. Wijnsman J. W. M., Troost K., Fang J., Roncarati A. Global production of marine bivalves. Trends and challenges. In: *Goods and Services of Marine Bivalves* / A. Smaal, J. Ferreira, J. Grant, J. Petersen, Ø. Strand (Eds). Cham : Springer, 2019, pp. 7–26. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96776-9_2
61. Woo S., Denis V., Won H., Shin K., Lee G., Lee T.-K., Yum S. Expressions of oxidative stress-related genes and antioxidant enzyme activities in *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia, Mollusca) exposed to hypoxia. *Zoological Studies*, 2013, vol. 52, no. 1, art. no. 15 (8 p.). <https://doi.org/10.1186/1810-522X-52-15>
62. Wootton E. C., Dyrinda E. A., Ratcliffe N. A. Bivalve immunity: Comparisons between the marine mussel (*Mytilus edulis*), the edible cockle (*Cerastoderma edule*) and the razor-shell (*Ensis siliqua*). *Fish & Shellfish Immunology*, 2003, vol. 15, iss. 3, pp. 195–210. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(02\)00161-4](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(02)00161-4)
63. Zhang X., Shi J., Sun Y., Habib Y. J., Yang H., Zhang Z., Wang Y. Integrative transcriptome analysis and discovery of genes involving in immune response of hypoxia/thermal challenges in the small abalone *Haliotis diversicolor*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, vol. 84, pp. 609–626. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.044>

EFFECT OF HYPOXIA ON IMMUNE SYSTEM OF BIVALVE MOLLUSCS

A. Y. Andreyeva, E. S. Kladchenko, and O. L. Gostyukhina

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

Over the past decades, research on bivalve immune system is focused on studying the effect of environmental factors on the basal status of defense systems. The immune system of bivalves is greatly affected by abiotic factors, and the most significant ones are water temperature, salinity, and level

of dissolved oxygen. Hypoxia is widespread in the coastal waters of the World Ocean since the 1950s. Hypoxic zones (with dissolved oxygen concentration $< 0.5 \text{ mL O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) occur in shelf areas for a long time corresponding to the life cycle of many hydrobionts. Being benthic organisms, bivalve molluscs often experience reduced dissolved oxygen concentrations. This group of aquatic invertebrates both plays an important role in aquatic ecosystem functioning and is actively used in aquaculture. The efficiency of bivalve cultivation directly depends on its immune status determining resistance to diseases. The immune system of bivalve molluscs is based on a complex of nonspecific reactions of cellular and humoral components. Hemocytes circulating in the hemolymph are the key effectors of the cellular immune response which, along with the barrier tissues of molluscs, synthesize humoral factors with a wide spectrum of antimicrobial activity. The hemolymph of various bivalve species contains different cell types differing by size, morphology, and granulation of cytoplasm. Most bivalve species have 2 types of hemocytes – granular and agranular ones; those can be subdivided into morphotypes depending on number and color of granules, size of the nucleus, and presence of organelles in the cytoplasm. Granulocytes are considered the main immune cells that perform phagocytosis and (or) encapsulation of infectious agents, as well as their subsequent neutralization by releasing reactive oxygen species, lysing enzymes, and humoral antimicrobial proteins. Moreover, the complex of defense systems includes an antioxidant system which is closely related to mollusc immunity since it neutralizes reactive oxygen species releasing during cellular immune mechanism activation. An excess of these compounds damages mollusc cells by oxidizing proteins, cytoplasmic membrane lipids, and DNA. This article provides data on an oxygen deficiency effect on the cellular and humoral components of the immune system, as well as the tissue antioxidant complex of bivalve molluscs.

Keywords: bivalve molluscs, immunity, hemocytes, hypoxia, antimicrobial proteins, antioxidant enzymes



СОСТОЯНИЕ ПОПУЛЯЦИИ *CALANUS EUXINUS* (COPEPODA) В ОТКРЫТОЙ ПЕЛАГИАЛИ И ЗОНЕ КРЫМСКОГО ШЕЛЬФА ЧЁРНОГО МОРЯ ОСЕНЬЮ 2016 Г.

© 2022 г. Е. С. Губарева, Б. Е. Аннинский

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: ehubareva@mail.ru

Поступила в редакцию 05.03.2020; после доработки 30.09.2020;
принята к публикации 19.08.2022; опубликована онлайн 13.09.2022.

Копепода *Calanus euxinus* Hulsemann, 1991 — один из наиболее массовых видов мезозоопланктона Чёрного моря, образующий в глубоководных районах 60–80 % биомассы планктонных ракообразных и составляющий здесь основу рациона мелких пелагических рыб. Данные о численности, биомассе, возрастной структуре и жировых запасах *C. euxinus* необходимы для оценки состояния его популяции в открытой пелагиали и шельфовой зоне Чёрного моря. С этой целью в 89-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» (30 сентября — 9 октября 2016 г.) проведены исследования в северо-западных, центральных и северо-восточных районах моря (62 станции). Пробы мезозоопланктона отбирали сетью Богорова — Расса (площадь входного отверстия — 0,5 м²; ячей — 300 мкм) методом тотальных вертикальных ловов от дна до поверхности моря в области мелководного шельфа и от нижней границы кислородной зоны до поверхности моря в глубоководной части. Пробы фиксировали 4%-ным раствором формалина, численность и биомассу всех копеподитных стадий *C. euxinus* определяли в лабораторных условиях. Содержание восков в теле старших копеподитов и половозрелых особей *C. euxinus* оценивали по удельному объёму жирового мешка (относительно объёма тела). Выявлена зависимость количественного распределения вида от глубины биотопа и макромасштабной циркуляции водных масс в море. В глубоководной части моря средняя численность *C. euxinus* составляла $(8,3 \pm 0,8)$ тыс. экз.·м⁻², биомасса — $(7,1 \pm 0,7)$ г·м⁻². На внешнем шельфе численность и биомасса вида снижались вдвое — до $(4,2 \pm 1,4)$ тыс. экз.·м⁻² и $(3,3 \pm 1,2)$ г·м⁻² соответственно. В глубоководных районах копеподиты V стадии вместе с самками и самцами составляли 91 % численности и 96 % биомассы популяции. На внешнем шельфе доля этих возрастных стадий сокращалась до 67 % численности и 86 % биомассы. В районах глубоководной пелагиали удельный объём жирового мешка у V копеподитов, самок и самцов $[(17,1 \pm 0,6), (11,2 \pm 0,8)$ и $(11,9 \pm 0,5)$ % соответственно] был вдвое выше, чем у этих же возрастных стадий на внешнем шельфе $[(8,1 \pm 0,8), (4,7 \pm 0,8)$ и $(6,0 \pm 0,5)$ % соответственно], что указывает на зависимость между накоплением липидных резервов у данного вида и гипоксическими условиями в биотопе. Сравнительно высокие величины численности, биомассы и содержания восков у *C. euxinus* свидетельствуют о том, что его популяция практически вернулась к прежнему состоянию (наблюдавшемуся до экспансии гребневиков-вселенцев в конце 1980-х гг. и последних климатических изменений, которые привели к потеплению в бассейне Чёрного моря).

Ключевые слова: *Calanus euxinus*, численность, биомасса, резервные липиды, Чёрное море

Calanus euxinus Hulsemann, 1991 — самый массовый представитель холодноводных копепод Чёрного моря, образующий в открытых районах 60–80 % биомассы планктонных ракообразных (Аннинский и Тимофте, 2009 ; Yuneva et al., 1999) и являющийся ключевым источником пищи мелких пелагических рыб (Yuneva et al., 2016). Хотя основные закономерности вертикального распределения популяции *C. euxinus* в Чёрном море были известны ещё в начале XX в. (Никитин, 1926), многие вопросы, касающиеся её ежегодного обновления, пространственной неоднородности расселения особей в биотопах и межгодовой динамики биомассы, требуют дальнейшего изучения.

Количественные показатели состояния популяции *C. euxinus* в разных районах Чёрного моря рассмотрены в ряде работ (Виноградов и др., 1992 ; Загородняя и др., 2001 ; Светличный и Губарева, 2011 ; Niermann et al., 1998). В 1980–1990 гг. биомасса этого вида в центральной части моря составляла в среднем 7–11 г·м⁻² (Ковалев, 1996). Однако экспансия гребневика *Mnemiopsis leidyi* (A. Agassiz, 1860) в конце 1980-х гг. резко сократила биомассу *C. euxinus*: она снизилась в центральных районах моря в 1991 и 1992 гг. до 0,5 и 1,1 г·м⁻² соответственно (Vinogradov et al., 1999), а в 1993 г. в северной части моря — до 4,3 г·м⁻² (Виноградов и др., 1995). После проникновения в море в конце 1990-х гг. гребневика *Beroe ovata* Bruguère, 1789, питающегося исключительно гребневиками-планктофагами, трофический пресс на мезозoopланктон со стороны *M. leidyi* значительно снизился (Vinogradov et al., 1999), в результате чего биомасса *C. euxinus* восстановилась почти до уровня 1980-х гг. (Аннинский и Тимофте, 2009). Неясно, в какой мере на популяцию этой копеподы могли повлиять последние изменения в экосистеме, связанные с воздействием климатических факторов (Полонский и др., 2013), фенологическими отклонениями в экологии и измельчанием такого массового планктонофага, как черноморский шпрот *Sprattus sprattus phalericus* (Risso, 1827) (Yuneva et al., 2016), а также с постепенным увеличением в море биомассы сцифомедузы *Aurelia aurita* (Linnaeus, 1758) (Аннинский и др., 2019) и структурной трансформацией всего сообщества планктонных желтелых хищников (Аннинский и др., 2020).

Для популяции *C. euxinus* осенний гидрологический сезон — это период, характеризующий успешность её весеннего генеративного обновления, результативность выживания и взросления новых поколений в летние месяцы, а также степень развития новой генерации производителей (осенние V копеподиты, самцы и самки) для весны следующего года. Биомасса *C. euxinus* осенью лишь немного ниже своих весенних максимальных значений (Vinogradov et al., 1999).

Цель настоящей работы — оценка современного состояния популяции *C. euxinus* в открытой пелагиали и шельфовой зоне северо-восточных, центральных и северо-западных районов Чёрного моря, что особенно актуально в связи с ежегодным обновлением её состава, численности и биомассы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пробы мезозoopланктона, включающие ювенильных и взрослых особей *C. euxinus*, отобраны на 62 станциях в северо-восточных, центральных и западных районах Чёрного моря в зоне глубоководной эпипелагиали, внешнего (глубины 50–200 м) и внутреннего (глубины < 50 м) шельфа в 89-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» (30 сентября — 9 октября 2016 г.) (рис. 1). Отбор проб производили сетью Богорова — Расса (далее — БР) (площадь входного отверстия — 0,5 м²; ячея — 300 мкм) методом тотальных вертикальных ловов от дна или нижней границы кислородной зоны (по данным STD-зонда Sea-Bird 911plus, $\sigma_t = 16,2$) до поверхности моря. Для сопоставления уловистости всех размерно-возрастных стадий *C. euxinus* на двух станциях проведены параллельные ловы сетью БР и сетью Джеди (площадь входного отверстия — 0,1 м²; ячея — 112 мкм). Состав и численность копепод в пробах, фиксированных 4%-ным раствором

формалина, определяли в лабораторных условиях, просматривая зоопланктон в камере Богорова под микроскопом. Индивидуальную сырую массу копеподитов и половозрелых особей *C. euxinus* (WW, мг) рассчитывали по формуле:

$$WW = 0,58 \times l \times d^2 \times \rho,$$

где l и d — длина и ширина просомы соответственно, мм;

ρ — средняя плотность тела, $\text{г}\cdot\text{см}^{-3}$ (Светличный и Губарева, 2011).

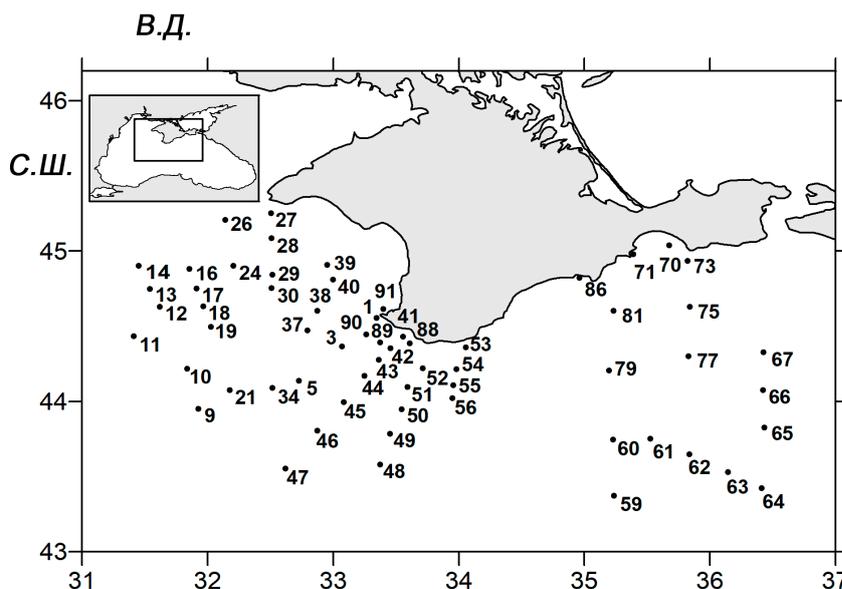


Рис. 1. Карта-схема районов отбора проб зоопланктона в 89-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» в Чёрном море (сентябрь — октябрь 2016 г.). Цифрами обозначены номера станций

Fig. 1. Map of sampling survey (with station numbers identified) during the 89th cruise of the RV “Professor Vodyanitsky” in the Black Sea (September–October 2016)

Количество резервного жира, накапливаемого старшими возрастными стадиями *C. euxinus*, оценивали по удельному объёму жирового мешка (Светличный и Губарева, 2011). Объём жирового мешка (V_{sac}) определяли в соответствии с формулой:

$$V_{sac} = \pi \times l_{sac} \times d_{sac}^2 / 6,$$

где l_{sac} и d_{sac} — длина и ширина жирового мешка соответственно, мм.

Объём тела копеподитов, самцов и самок (V_b , мм^3) рассчитывали по формуле:

$$V_b = k \times l_{pr} \times d_{pr}^2,$$

где l_{pr} и d_{pr} — длина и ширина просомы соответственно, мм;

k — эмпирический коэффициент, равный 0,64 у самцов и 0,58 у копеподитов и самок (Svetlichny et al., 2009).

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием стандартного программного обеспечения Grapher 3 и Surfer 8 для Microsoft Windows. Достоверность различий средних оценивали по t -критерию Стьюдента. Средние величины представлены с учётом их стандартной ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты 10 параллельных ловов сетью БР и сетью Джеди в разных районах моря, дополненные аналогичными данными прошлых лет (Аннинский и Тимофте, 2009), представлены на рис. 2. Анализ материала свидетельствует о том, что две сети улавливали ранние и средние копепоидные стадии развития (I–IV) *C. euxinus* практически с одинаковой эффективностью, тогда как сеть БР оказалась более результативной при отлове копепоидов V стадии. Это может быть связано с более низким фильтрационным сопротивлением сети БР, а также с меньшей вероятностью её избегания старшими возрастными стадиями и взрослыми копеподами.

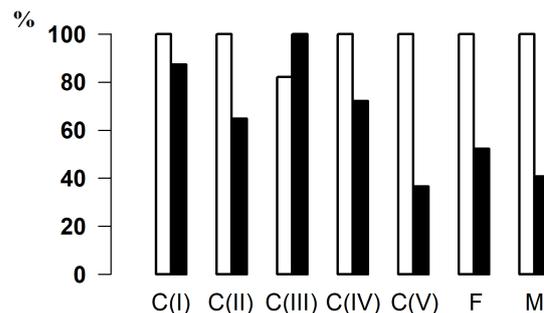


Рис. 2. Сравнительная уловистость (%) копеподы *Calanus euxinus* сетями Джеди (чёрные столбцы) и Богорова — Расса (белые столбцы) в 10 параллельных вертикальных ловах в Чёрном море в сентябре — октябре 2005 и 2016 гг.

Fig. 2. Comparative catching efficiency for *Calanus euxinus* by the Juday net (black bars) and the Bogorov-Rass net (white bars) in 10 parallel vertical hauls in the Black Sea in September–October 2005 and 2016

В распределении численности и биомассы *C. euxinus* в сентябре — октябре 2016 г. (рис. 3) явно прослеживается зависимость от макромасштабной циркуляции водных масс. Наиболее плотные скопления особей этого вида (до 21 тыс. экз. \cdot м⁻² и 18,9 г \cdot м⁻² на станциях 29, 63, 79) обнаружены на периферии Восточного циклонического круговорота и в ядре антициклонического вихря западнее Крыма (Севастопольский антициклон). В центральной зоне Восточного круговорота копепоидов было меньше. Средняя численность и биомасса *C. euxinus* в глубоководной части моря составляли (8,3 ± 0,8) тыс. экз. \cdot м⁻² и (7,1 ± 0,7) г \cdot м⁻² соответственно. При удалении от открытых участков моря к районам внешнего шельфа численность вида достоверно снижалась с (8,3 ± 0,8) до (4,2 ± 1,4) тыс. экз. \cdot м⁻², а биомасса — с (7,1 ± 0,7) до (3,3 ± 1,2) г \cdot м⁻². На внутреннем шельфе из-за единичной встречаемости старших возрастных стадий численность *C. euxinus* составляла лишь (0,10 ± 0,04) тыс. экз. \cdot м⁻², а биомасса — (0,09 ± 0,03) г \cdot м⁻².

В глубоководной части моря с опусканием нижней границы кислородной зоны (далее — НГКЗ) ($\sigma_t = 16,2$) с 100–125 до 151–180 м численность *C. euxinus* сначала возрастала ($p < 0,05$) с (7,3 ± 0,9) до (10,5 ± 1,1) тыс. экз. \cdot м⁻² (при достижении глубины 126–150 м), а затем снижалась ($p > 0,05$) до (8,6 ± 2,1) тыс. экз. \cdot м⁻² (при положении НГКЗ на глубине 151–180 м) (рис. 4). Аналогичным образом изменялась биомасса вида: при заглублении НГКЗ значение первоначально повышалось ($p < 0,05$) с (6,2 ± 0,8) до (9,02 ± 1,02) г \cdot м⁻² (при промежуточных значениях НГКЗ), а затем сокращалось ($p > 0,05$) до (7,3 ± 1,9) г \cdot м⁻² (при опускании нижней границы биотопа копепоиды до 151–180 м). Из полученных данных следует, что численность и биомасса *C. euxinus* достоверно увеличиваются ($p < 0,05$) в направлении от центральных областей циклонических круговоротов к их границам, однако количественные изменения численности и биомассы этого вида из районов циклонической и антициклонической циркуляции в целом незначительны.

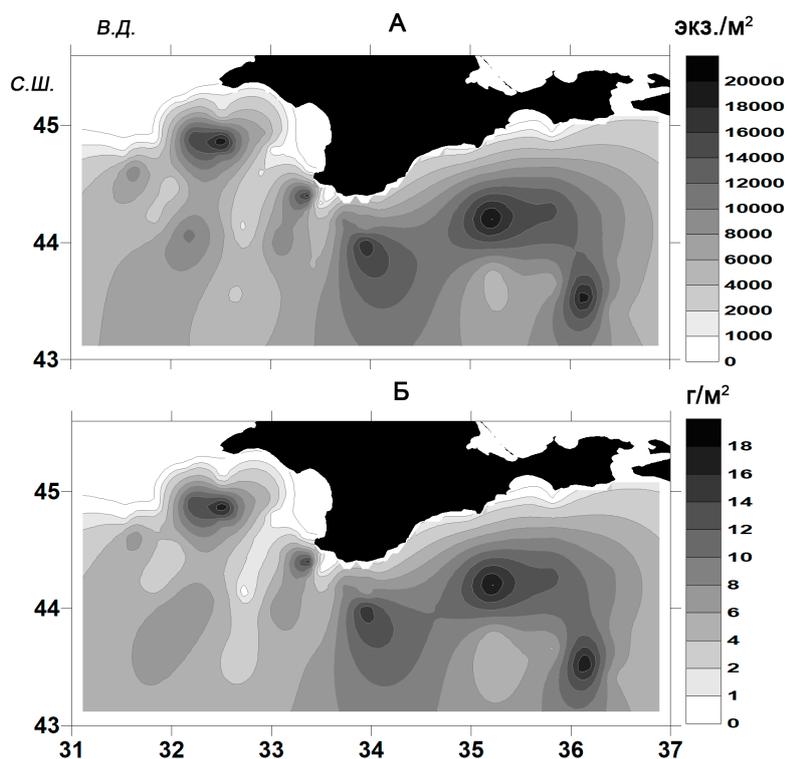


Рис. 3. Численность (А) и биомасса (Б) *Calanus euxinus* в северо-восточных, центральных и западных районах Чёрного моря в сентябре — октябре 2016 г.

Fig. 3. *Calanus euxinus* abundance (A) and biomass (B) in the northeastern, central, and western Black Sea in September–October 2016

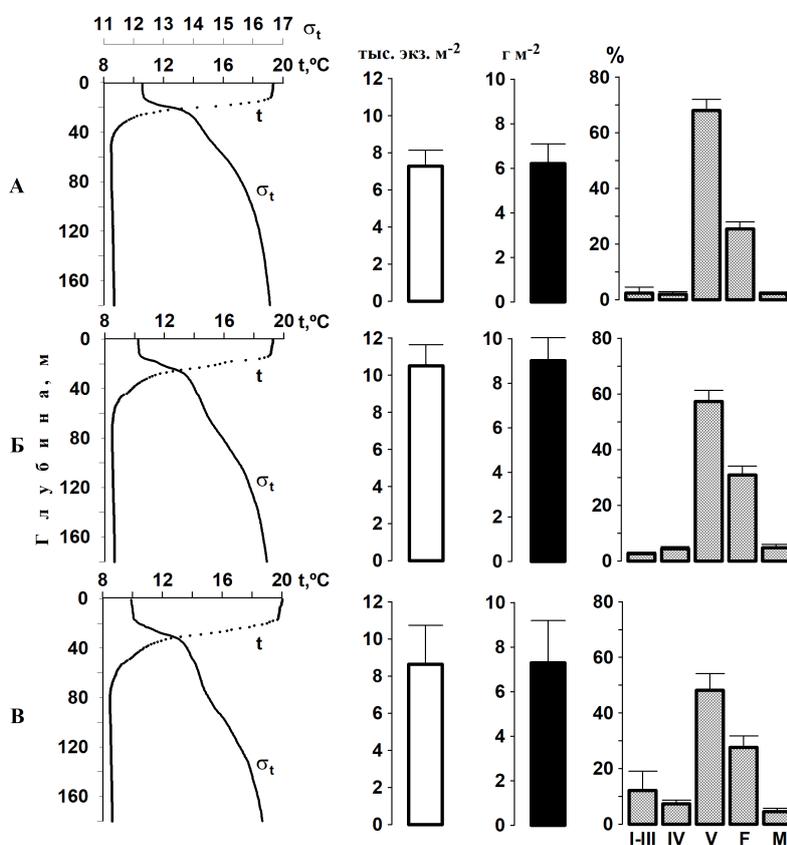


Рис. 4. Зависимость общей численности (тыс. экз.·м⁻²), биомассы (г·м⁻²) и возрастной структуры (% общей численности) популяции *Calanus euxinus* от температуры (t, °С) и условной плотности (σ_t) воды в верхней эпипелагиали Чёрного моря (0–180 м). Положение нижней границы кислородной зоны (σ_t = 16,2): 100–125 м (А); 126–150 м (Б); 151–180 м (В)

Fig. 4. Total abundance (thousand ind.·m⁻²), biomass (g·m⁻²), and age structure (% of total abundance) in the *Calanus euxinus* population in relation to seawater temperature (t, °С) and density (σ_t) in the upper epipelagial of the Black Sea (0–180 m). The lower border of the oxygen zone (σ_t = 16.2) is as follows: 100–125 m (A); 126–150 m (B); 151–180 m (B)

Специфические изменения структуры популяции *C. euxinus* в зависимости от положения НГКЗ указывают на то, что такие вариации численности и биомассы рачков вызваны перераспределением возрастных стадий с водными массами поверхностной эпипелагиали. Центробежные потоки в зоне циклонических круговоротов вытесняют к периферии прежде всего I–IV копеподитов, обитающих в поверхностных слоях, и взрослых особей; V копеподитов, населяющих гипоксический биотоп, это затрагивает в меньшей степени. В районах антициклонических вихрей, наоборот, центростремительные потоки в большей мере захватывают обитающих ближе к поверхности младших копеподитов, а также самок и самцов. При этом V копеподиты либо рассеиваются, либо частично гибнут. При заглублинии НГКЗ с 100–125 до 126–150 и 151–180 м доля I–III копеподитов возрастала с $(2,4 \pm 1,9)$ до $(2,6 \pm 0,4)$ и $(12,2 \pm 6,8)$ % соответственно, а доля IV копеподитов — с $(1,9 \pm 0,9)$ до $(4,3 \pm 0,6)$ и $(7,4 \pm 1,2)$ % соответственно. Доля V копеподитов при опускании НГКЗ снижалась с $(67,9 \pm 3,9)$ до $(57,4 \pm 3,7)$ и $(48,2 \pm 5,8)$ % соответственно, а доля взрослых особей сохранялась почти на одном уровне — $(25,5 \pm 2,3)$, $(30,9 \pm 3,0)$ и $(27,6 \pm 4,0)$ % для самок и $(2,2 \pm 0,4)$, $(4,8 \pm 1,0)$ и $(4,6 \pm 1,0)$ % для самцов.

Похожим образом изменялась структура популяции *C. euxinus* в направлении от глубоководной зоны моря к районам внешнего и внутреннего шельфа (рис. 5). Абсолютное численное доминирование в открытом море V копеподитов [$(58,0 \pm 2,8)$ %] и самок [$(28,0 \pm 1,8)$ %] на шельфе ослабевало [36–40 и 18–23 % соответственно], а доля младших возрастных стадий, напротив, становилась выше. У I–III копеподитов в районах шельфа она достигала в среднем 14–15 %, а у IV копеподитов — 24–25 %. Вместе с тем не обнаружено значительных различий между структурой популяций *C. euxinus* из районов внешнего и внутреннего шельфа моря.

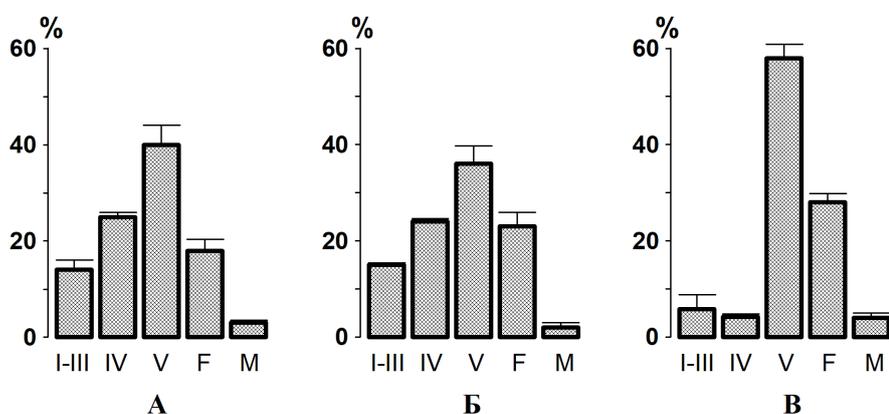


Рис. 5. Возрастная структура популяции *Calanus euxinus* (% общей численности) в районах внутреннего (А) и внешнего (Б) шельфа и глубоководной пелагиали (В) Чёрного моря

Fig. 5. Age structure of the *Calanus euxinus* population (% of total abundance) on the inner (A) and outer (B) shelf and in the deeper pelagial (B) of the Black Sea

Удельный объём жирового мешка у V копеподитов, самок и самцов *C. euxinus* в глубоководных районах моря составлял в среднем $(17,1 \pm 0,6)$, $(11,2 \pm 0,8)$ и $(11,9 \pm 0,5)$ % соответственно (рис. 6). В зоне внешнего шельфа количество накопленных копеподами восков снижалось в 2 раза — до $(8,1 \pm 0,8)$ % объёма тела у V копеподитов, $(4,7 \pm 0,8)$ % у самок и $(6,0 \pm 0,5)$ % у самцов.

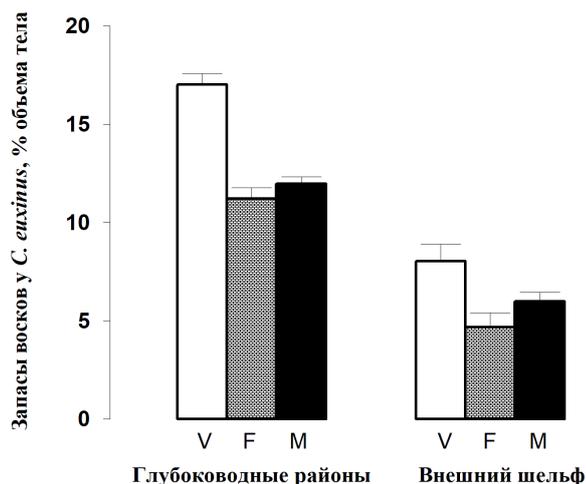


Рис. 6. Средний удельный объём жирового мешка (% объёма тела) у *Calanus euxinus* в глубоководной пелагиали и зоне внешнего шельфа Чёрного моря в сентябре — октябре 2016 г. (V — V копеподиты; F — самки; M — самцы)

Fig. 6. Mean specific oil sac volume (% of the body volume) of *Calanus euxinus* in the deeper pelagial and on the outer shelf of the Black Sea in September–October 2016 (V denotes copepodites V; F, females; M, males)

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ количественных характеристик состояния популяции *C. euxinus* в 2016 г., а также аналогичных данных прошлых лет (Аннинский и Тимофте, 2009 ; Арашкевич и др., 2002 ; Виноградов и др., 1995 ; Загородняя и др., 2001 ; Ковалев, 1996 ; Светличный и Губарева, 2014 ; Arashkevich et al., 2014 ; Vinogradov et al., 1999) не выявил какой-либо межгодовой изменчивости численности и биомассы этого вида в море за последние десятилетия. При существующей вероятности такой динамики размах межгодовых колебаний численности и биомассы копеподы (под прессом хищников и влиянием климатических факторов), по-видимому, значительно превышает возможные пределы долговременных изменений в популяции.

Так, средняя биомасса вида в глубоководных центральных [(6,5 ± 1,1) г·м⁻²] и северо-восточных [(8,9 ± 1,3) г·м⁻²] областях в 2016 г. оказалась сопоставимой с соответствующими данными 1999 г. [9,7 г·м⁻²] (Арашкевич и др., 2002). В западных глубоководных районах биомасса *C. euxinus* [(5,9 ± 1,2) г·м⁻²] была такой же [$p > 0,05$], как в октябре 2005 г. [(6,2 ± 1,1) г·м⁻²] (Аннинский и Тимофте, 2009). Вместе с тем в октябре 2010 г. биомасса копеподы в этих же районах (2,8 г·м⁻²) (Светличный и Губарева, 2014) была по меньшей мере вдвое ниже, чем в 2005 и 2016 гг. Аналогичным образом изменялась средняя численность *C. euxinus*: она достигала (9,9 ± 1,8) тыс. экз·м⁻² в 2005 г. (Аннинский и Тимофте, 2009) и составляла (7,3 ± 1,3) тыс. экз·м⁻² в 2016 г., но равнялась лишь 3,9 тыс. экз·м⁻² в 2010 г. (Светличный и Губарева, 2014). В зоне внешнего шельфа центральных районов численность *C. euxinus* осенью 2016 г. [(4,3 ± 1,9) тыс. экз·м⁻²] в среднем превышала соответствующую величину для октября 2005 г. [(2,5 ± 0,49) тыс. экз·м⁻²], однако различие не было статистически значимым [$p > 0,05$]. Если подобные изменения в популяции копеподы всё же произошли, они не могли быть связаны с межгодовой динамикой суммарной биомассы желетелого макропланктона или его отдельных представителей. Так, несмотря на то, что в море биомасса гребневика *M. leidy* сократилась (с (76 ± 22) г·м⁻² в 2005 г. до (48 ± 11) г·м⁻² в 2016 г.), биомасса другого гребневика-планктофага, *Pleurobrachia pileus* (O. F. Müller, 1776), за эти годы выросла (с (22 ± 4) до (45 ± 4) г·м⁻² соответственно). Кроме того, не менее чем в 5 раз увеличилась за это время

биомасса медузы *A. aurita* — от (44 ± 15) до (260 ± 72) г·м⁻² (Аннинский и др., 2019). Возможно, на ежегодное воспроизводство популяции *C. euxinus* в море не столько влияют хищники, сколько воздействуют климатические факторы. В частности, обнаружено наличие связи между биомассой *C. euxinus* и повышением температуры воды в апреле ($r^2 = 0,61$; $p < 0,01$) и мае ($r^2 = 0,51$; $p < 0,01$) (Аннинский и др., 2020). Стоит отметить, что температура воды в апреле и мае 2016 г. была выше в среднем на 0,5 и 2,2 °С соответственно, чем в те же месяцы 2005 г. Следовательно, более вероятно, что некоторое увеличение численности и биомассы копеподы также произошло в период с 2005 по 2016 г.

Тотальное доминирование V копеподитов и взрослых особей в глубоководных районах моря большую часть года (Arashkevich et al., 2014 ; Besiktepe, 2001 ; Svetlichny et al., 2009) указывает на то, что для развития популяции *C. euxinus* важен глубоководный гипоксический биотоп, который определённым образом регулирует накопление жира в теле особей (Isinibilir et al., 2009 ; Yuneva et al., 1999). В 2016 г. все старшие стадии вида в районах глубоководной пелагиали имели значительные запасы восков, необходимых для завершения метаморфоза, полового созревания и генеративной продукции. Снижение содержания резервных липидов у самок, самцов и V копеподитов в направлении от открытого моря к районам внешнего и внутреннего шельфа отражает общие закономерности формирования жировых запасов у черноморской популяции *C. euxinus*. Суточные вертикальные миграции старших копеподитных стадий вида в глубинные гипоксические слои позволяют значительно снизить энергетические траты и повысить эффективность аккумуляции липидов (Svetlichny et al., 2006). В мелководной зоне в условиях отсутствия гипоксии копеподы накапливают меньше резервного жира, однако из-за более высокой температуры в биотопе могут развиваться быстрее (Светличный и Губарева, 2014).

Формирование жировых запасов у *C. euxinus* начинается с III и IV копеподитных стадий развития, когда средний объём жирового мешка не превышает 1–2 % объёма тела; после он постепенно увеличивается и достигает у V копеподитов в среднем 16–17 % объёма тела (Светличный и Губарева, 2011). Осенью 2016 г. удельный объём резервного жира у этой возрастной стадии составлял в среднем $(17,1 \pm 0,6)$ %, а в отдельных случаях на глубоководных станциях находился на уровне 20 % от объёма тела. Такое высокое для *C. euxinus* содержание резервных липидов сопоставимо с показателями жирности, отмеченными в апреле 2003 г. в юго-западном районе моря во время цветения водоросли *Proboscia alata* (Brightwell) Sundström, 1986 (16–22 %) (Svetlichny et al., 2009). Близкие значения удельного объёма жирового мешка у V копеподитов *C. euxinus* [$(16,1 \pm 7,6)$ %] были получены в октябре 2005 г. в западном секторе моря (Светличный и Губарева, 2014). Таким образом, и по количественным показателям, и по содержанию резервных липидов в теле особей популяция *C. euxinus* в Чёрном море осенью 2016 г. находилась в более развитом состоянии, чем в годы восстановления пелагической экосистемы (начало 2000-х гг.) после неконтролируемого воздействия на неё гребневика *M. leidy* в конце XX в.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что пространственное распределение копеподы *Calanus euxinus* в северо-восточных, центральных и западных районах Чёрного моря в сентябре — октябре 2016 г. было неоднородным и зависело от глубины биотопа и макромасштабной циркуляции водных масс. В глубоководной части моря численность и биомасса *C. euxinus* почти в два раза превышали значения для этого вида в зоне внешнего шельфа, что обусловлено особенностями гидродинамики Основного черноморского течения, циклонических круговоротов и антициклонических вихрей. В популяции *C. euxinus* глубоководной пелагиали преобладали копеподиты V стадии развития, которые совместно с самками и самцами составляли до 91 % общей численности и 96 % общей биомассы вида, тогда как в зоне внешнего и внутреннего шельфа доля старших возрастных стадий закономерно сокращалась. При этом V копеподиты, самки и самцы, обитающие в глубоководных районах, содержали в 2 раза больше

резервных липидов, чем старшие возрастные стадии в зоне шельфа, что обусловлено специфической жиронакоплением у этого вида. Сравнительно высокие значения численности, биомассы и содержания восков у *C. euxinus* осенью 2016 г. свидетельствуют о том, что его популяция практически вернулась к прежнему состоянию (наблюдавшемуся до экспансии гребневиков-вселенцев в конце 1980-х гг. и последних климатических изменений, приведших к потеплению бассейна Чёрного моря).

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 121041400077-1) и при частичной поддержке проекта РФФИ и г. Севастополя «Отклик черноморской пелагической экосистемы на изменение климата в регионе (на примере медуз, гребневиков и мелких пелагических рыб)» (р_а 18-44-920022).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Аннинский Б. Е., Игнатьев С. М., Финенко Г. А., Дацьк Н. А. Желетельный макропланктон открытой пелагиали и шельфа Чёрного моря: распределение осенью 2016 г. и межгодовые изменения биомассы и численности // *Морской биологический журнал*. 2019. Т. 4, № 3. С. 3–14. [Anninsky B. E., Ignatyev S. M., Finenko G. A., Datsyk N. A. Gelatinous macroplankton of the open pelagial and shelf of the Black Sea: Distribution in autumn 2016 and interannual changes in biomass and abundance. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2019, vol. 4, no. 3, pp. 3–14. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2019.04.3.01>
2. Аннинский Б. Е., Тимофте Ф. Распределение зоопланктона в западном секторе Чёрного моря в октябре 2005 г. // *Морской экологический журнал*. 2009. Т. 8, № 1. С. 17–31. [Anninsky B. E., Timofte F. The distribution of zooplankton in the western Black Sea in October 2005. *Morskoy ekologicheskij zhurnal*, 2009, vol. 8, no. 1, pp. 17–31. (in Russ.)]
3. Аннинский Б. Е., Финенко Г. А., Дацьк Н. А. Альтернативные векторы массового появления сцифоидной медузы *Aurelia aurita* (Linnaeus, 1758) и гребневика *Pleurobrachia pileus* (O. F. Muller, 1776) в планктоне Чёрного моря // *Юг России: экология, развитие*. 2020. Т. 15, № 2. С. 35–47. [Anninsky B. E., Finenko G. A., Datsyk N. A. Alternative conditions of mass appearance of the scyphozoan jellyfish, *Aurelia aurita* (Linnaeus, 1758), and the ctenophore, *Pleurobrachia pileus* (O. F. Muller, 1776), in plankton of the Black Sea. *South of Russia: Ecology, Development*, 2020, vol. 15, no. 2, pp. 35–47. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2020-2-35-47>
4. Арашкевич Е. Г., Дриц А. В., Мусаева Э. И., Гагарин В. И., Сорокин П. Ю. Распределение мезопланктона в связи с особенностями циркуляции в северо-восточной части Чёрного моря // *Комплексные исследования северо-восточной части Чёрного моря* / под ред. А. Г. Зацепина, М. В. Флинта. Москва : Наука, 2002. С. 257–272. [Arashkevich E. G., Drits A. V., Musaeva E. I., Gagarin V. I., Sorokin P. Yu. Mesoplankton spatial distribution in relation to circulation pattern in the north-eastern part of the Black Sea. In: *Multi-Disciplinary Investigations of the North-Eastern Part of the Black Sea* / A. G. Zatsepin, M. V. Flint (Eds). Moscow : Nauka, 2002, pp. 257–272. (in Russ.)]
5. Виноградов М. Е., Сапожников В. В., Шушкина Э. А. *Экосистема Чёрного моря*. Москва : Наука, 1992. 112 с. [Vinogradov M. E., Sapozhnikov V. V., Shushkina E. A. *The Black Sea Ecosystem*. Moscow : Nauka, 1992, 112 p. (in Russ.)]
6. Виноградов М. Е., Шиганова Т. А., Хорошилов В. С. Состояние основных элементов планктонного сообщества Чёрного моря // *Океанология*. 1995. Т. 35, вып. 3. С. 418–422. [Vinogradov M. E., Shiganova T. A., Khoroshilov V. S. The state of the main organisms in a plankton community in the Black Sea in 1993. *Okeanologiya*, 1995, vol. 35, iss. 3, pp. 418–422. (in Russ.)]
7. Загородняя Ю. А., Ковалев А. В., Островская Н. А. Количественные показатели и сезонная динамика черноморского зоопланктона у берегов Крыма по результатам исследований в 1994–1995 гг. // *Экология моря*. 2001. Вып. 55.

- C. 17–22. [Zagorodnyaya Yu. A., Kovalev A. V., Ostrovskaya N. A. Quantitative data and seasonal dynamics of Black Sea zooplankton near the Crimean coast in 1994–1995. *Ekologiya morya*, 2001, iss. 55, pp. 17–22. (in Russ.)]
8. Ковалев А. В. Изменение состава и количественных показателей зоопланктона в период интенсивного антропогенного воздействия на экосистему моря // *Современное состояние ихтиофауны Чёрного моря* / под ред. С. М. Коновалова. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 1996. С. 134–138. [Kovalev A. V. Changes in species composition and quantitative characteristics of zooplankton during the period of intensive anthropogenic impact on marine ecosystem. In: *The Modern State of Black Sea Ichthyofauna* / S. M. Kononov (Ed.). Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 1996, pp. 134–138. (in Russ.)]
 9. Никитин В. Н. Вертикальное распределение планктона в Чёрном море // *Труды Особой зоологической лаборатории и Севастопольской биологической станции*. 1926. Серия II, № 5–10. С. 93–140. [Nikinin V. N. Vertikal'noe raspredelenie planktona v Chernom more. *Trudy Osoboi zoologicheskoi laboratorii i Sevastopolskoi biologicheskoi stantsii*, 1926, series II, no. 5–10, pp. 93–140. (in Russ.)]
 10. Полонский А. Б., Шокурова И. Г., Белокопытов В. Н. Десятилетняя изменчивость температуры и солёности в Чёрном 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, no. 6, pp. 27–41. (in Russ.)]
 11. Светличный Л. С., Губарева Е. С. Продукционные характеристики *Calanus euxinus* – важного компонента кормовой базы планктоноядных рыб Чёрного моря // *Промысловые биоресурсы Чёрного и Азовского морей* / под ред. В. Н. Еремеева, А. В. Гаевской, Г. Е. Шульмана, Ю. А. Загородней. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. С. 283–293. [Svetlichny L. S., Hubareva E. S. Produktsionnye kharakteristiki *Calanus euxinus* – vazhnogo komponenta kormovoi bazy planktonoyadnykh ryb Chernogo morya. In: *Biological Resources of the Black Sea and Sea of Azov* / V. N. Eremeev, A. V. Gaevskaya, G. E. Shulman, Yu. A. Zagorodnyaya (Eds). Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2011, pp. 283–293. (in Russ.)]
 12. Светличный Л. С., Губарева Е. С. Состояние популяции *Calanus euxinus* (Copepoda) в северо-западной части Чёрного моря в октябре 2010 г. // *Морской экологический журнал*. 2014. Т. 13, № 1. С. 69–71. [Svetlichny L. S., Hubareva E. S. State of *Calanus euxinus* (Copepoda) population in the north-western Black Sea in October 2010. *Morskoyekologicheskij zhurnal*, 2014, vol. 13, no. 1, pp. 69–71. (in Russ.)]
 13. Arashkevich E. G., Stefanova K., Bandelj V., Siokou I., Terbiyik Kurt T., Ak-Orek Y., Timofte F., Timonin A., Solidoro C. Mesozooplankton in the open Black Sea: Regional and seasonal characteristics. *Journal of Marine Systems*, 2014, vol. 135, pp. 81–96. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jmarsys.2013.07.011>
 14. Besiktepe S. Diel vertical distribution, and herbivory of copepods in the south-western part of the Black Sea. *Journal of Marine Systems*, 2001, vol. 28, iss. 3–4, pp. 281–301. [https://doi.org/10.1016/S0924-7963\(01\)00029-X](https://doi.org/10.1016/S0924-7963(01)00029-X)
 15. Isinibilir M., Svetlichny L., Hubareva E., Ustun F., Yilmaz I. N., Kideys A. E., Bat L. Population dynamics and morphological variability of *Calanus euxinus* in the Black and Marmara seas. *Italian Journal of Zoology*, 2009, vol. 76, iss. 4, pp. 403–414. <https://doi.org/10.1080/11250000902751720>
 16. Niermann U., Bingel F., Ergun G. Fluctuation of dominant mesozooplankton species in the Black Sea, North Sea and the Baltic Sea: Is a general trend recognizable? *Turkish Journal of Zoology*, 1998, vol. 22, pp. 63–81. URL: <https://journals.tubitak.gov.tr/zoology/vol22/iss1/8>
 17. Svetlichny L. S., Kideys A., Hubareva E., Besiktepe S., Isinibilir M. Development and lipid storage in *Calanus euxinus* from the Black and Marmara seas: Variabilities due to habitat conditions. *Journal of Marine Systems*, 2006, vol. 59, iss. 1–2, pp. 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2005.09.003>
 18. Svetlichny L., Yuneva T., Hubareva E., Schepkina A., Besiktepe S., Kideys A., Bat L., Sahin F. Development of *Calanus euxinus* during spring cold homothermy in the Black Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 2009, vol. 374, pp. 199–213. <https://doi.org/10.3354/meps07740>

19. Vinogradov M. E., Shushkina E. A., Mikaelyan A. S., Nezlin N. P. Temporal (seasonal and interannual) changes of ecosystem of the open waters of the Black Sea. In: *Environmental Degradation of the Black Sea: Challenges and Remedies* / S. Besiktepe, U. Unluata, A. S. Bologa (Eds). Dordrecht ; Boston ; London : Kluwer Academic Publishers, 1999, vol. 56, pp. 109–129.
20. Yuneva T. V., Zabelinskii S. A., Datsyk N. A., Shchepkina A. M., Nikolsky V. N., Shulman G. E. Influence of food quality on lipids and essential fatty acids in the body of the Black Sea sprat *Sprattus sprattus phalericus* (Clupeidae). *Journal of Ichthyology*, 2016, vol. 56, no. 3, pp. 397–405. <https://doi.org/10.1134/S0032945216030188>
21. Yuneva T. V., Svetlichny L. S., Yunev O. A., Romanova Z. A., Kideys A. E., Bingel F., Yilmaz A., Uysal Z., Shulman G. E. Nutritional condition of female *Calanus euxinus* from cyclonic and anticyclonic regions of the Black Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 1999, vol. 189, pp. 195–204. <http://dx.doi.org/10.3354/meps189195>

**STATE OF POPULATION OF *CALANUS EUXINUS* (COPEPODA)
IN THE OPEN PELAGIAL AND ON THE SHELF OF THE BLACK SEA NEAR CRIMEA
IN AUTUMN 2016**

E. S. Hubareva and B. E. Anninsky

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

A copepod *Calanus euxinus* Hulsemann, 1991 is one of the most abundant mesozooplankton species constituting up to 60–80 % of planktonic crustacean biomass in the deeper Black Sea and being the main food component for small pelagic fish. Data on abundance, biomass, age structure, and lipid reserves of *C. euxinus* are required to estimate the state of its population in the open pelagial and on the shelf of the Black Sea. The data were obtained during the 89th cruise of the RV “Professor Vodyanitsky” (30.09.2016–09.10.2016) in the northwestern, central, and northeastern sea (62 stations). Zooplankton was sampled with a Bogorov–Rass net (mouth area of 0.5 m²; mesh size of 300 μm) by vertical net hauls from the seabed to the surface on the shelf and from the lower border of the oxygen zone to the surface in the deep-sea area. The samples were fixed with 4 % formaldehyde; in the laboratory, the abundance and biomass of all copepodite stages of *C. euxinus* were determined. Wax ester content in the bodies of late copepodite stages and adult specimens was estimated based on the specific oil sac volume (% of the body volume). The relationship between the quantitative species distribution and the habitat depth and macroscale hydrological circulation was revealed. In the deep-sea area, the mean abundance and biomass of *C. euxinus* amounted to (8.3 ± 0.8) thousand ind.·m⁻² and (7.1 ± 0.7) g·m⁻², respectively. On the outer shelf, the abundance and biomass of this species decreased twofold – down to (4.2 ± 1.4) thousand ind.·m⁻² and (3.3 ± 1.2) g·m⁻², respectively. In the deep-sea area, copepodites V, females, and males constituted 91 % of the total abundance and 96 % of the total biomass of the population. On the outer shelf, the ratio of these developmental stages reduced to 67 % and 86 % of the total abundance and biomass, respectively. In the deeper pelagial, the specific oil sac volumes in copepodites V, females, and males [(17.1 ± 0.6), (11.2 ± 0.8), and (11.9 ± 0.5) %, respectively] were twice as high as in the same developmental stages from the outer shelf [(8.1 ± 0.8), (4.7 ± 0.8), and (6.0 ± 0.5) %, respectively] indicating a relation between lipid accumulation in this species and hypoxic conditions of the biotope. Relatively high values of the abundance, biomass, and wax ester content in *C. euxinus* indicate that the population returned to its previous state – the one observed prior to expansion of alien ctenophores in the late 1980s and recent climatic changes resulting in a warming of the Black Sea basin.

Keywords: *Calanus euxinus*, abundance, biomass, lipid reserves, Black Sea



**NEW REPORTS
OF SUCTORIAN CILIATES (CILIOPHORA, SUCTOREA) EPIBIONT
ON HALACARID MITES AND A HARPACTICOID COPEPOD
FROM TÜRKIYE**

© 2022 **F. Durucan^{1,2} and I. Dövgal³**

¹German Centre for Marine Biodiversity Research (DZMB), Senckenberg am Meer, Wilhelmshaven, Germany

²Department of Aquaculture, Isparta University of Applied Sciences, Isparta, Türkiye

³A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: f_durucan@hotmail.com

Received by the Editor 16.10.2020; after reviewing 15.12.2020;
accepted for publication 19.08.2022; published online 13.09.2022.

Suctorian ciliates are common epibionts on marine and freshwater invertebrates. In the present study, three epibiont suctorian ciliate species, viz. *Praethecacinetta halacari* Schulz, 1933, *Thecacinetta calix* (Schroder, 1907), and *Thecacinetta cothurnioides* Collin, 1909, are reported. Hence, *P. halacari* was observed on the ventral side of the idiosoma and legs of halacarid mite *Copidognathus brachystomus* Viets, 1940 and ventral side of *Copidognathus tabellio* (Trouessart, 1894). *T. calix* was reported on halacarid mite *Maracarus gracilipes* (Trouessart, 1889) – a new host species for the ciliate. *T. cothurnioides* was found on two different harpacticoid copepod specimens. The species *T. cothurnioides* is recorded from Turkish coast for the first time. *T. calix* is reported from Antalya for the first time. Finding of *P. halacari* is the first record for Izmir area. The data on distribution of all registered suctorian species are provided as well.

Keywords: epibiont, suctorian ciliate, halacarid mite, harpacticoid copepod, host, Mediterranean Sea, Türkiye

Suctorian ciliates are common epibionts on marine and freshwater invertebrates such as copepods, cladocerans, nematodes, kinorhynchs, tanaids, and halacarid and hydrachnid mites (Dövgal et al., 2009a ; Durucan, 2019). In Türkiye, the first epibiont marine suctorian ciliate was reported by Durucan and Boyacı (2019) who registered *Praethecacinetta halacari* Schulz, 1933 on *Copidognathus venustus* Bartsch, 1977 collected from Antalya. After that, Durucan et al. (2019) reported *Paracineta irregularis* Dons, 1927 on a halacarid mite (*Rhombognathus* sp.) from the Sea of Marmara. Recently, *Thecacinetta calix* (Schroder, 1907) was recorded as epibiont on a harpacticoid copepod from the Aegean Sea of Türkiye (Fethiye-Muğla) for the first time from this country (Durucan, 2019).

The paper presents the first report of *Thecacinetta cothurnioides* Collin, 1909 from Türkiye. *T. calix* is reported for the first time from a halacarid mite *Maracarus gracilipes* (Trouessart, 1889), and at the same time this record is the first for Antalya. Previously found *P. halacari* is reported here for different halacarid hosts – *Copidognathus brachystomus* Viets, 1940 and *Copidognathus tabellio* (Trouessart, 1894) – and location of Izmir.

MATERIAL AND METHODS

Sediment was sampled by snorkeling at locality from Antalya (Kundu) (36.848686°N, 30.831607°E) (fine sand, 2-m depth) (22 July, 2020) and Izmir (Urla–Karantina Island) (*Pinctada radiata* (Leach, 1814), 0–1-m depth) (Fig. 1). Then, sediment samples were sieved in 100 µm in the laboratory under a binocular microscope (Nikon SMZ-10). The light microscopy (Nikon Eclipse E400) micrographs were taken with a camera phone. Halacarid mites and harpacticoid specimens inhabited by ciliates were placed in Hoyer's medium and kept in the collection of the first author (F. Durucan).

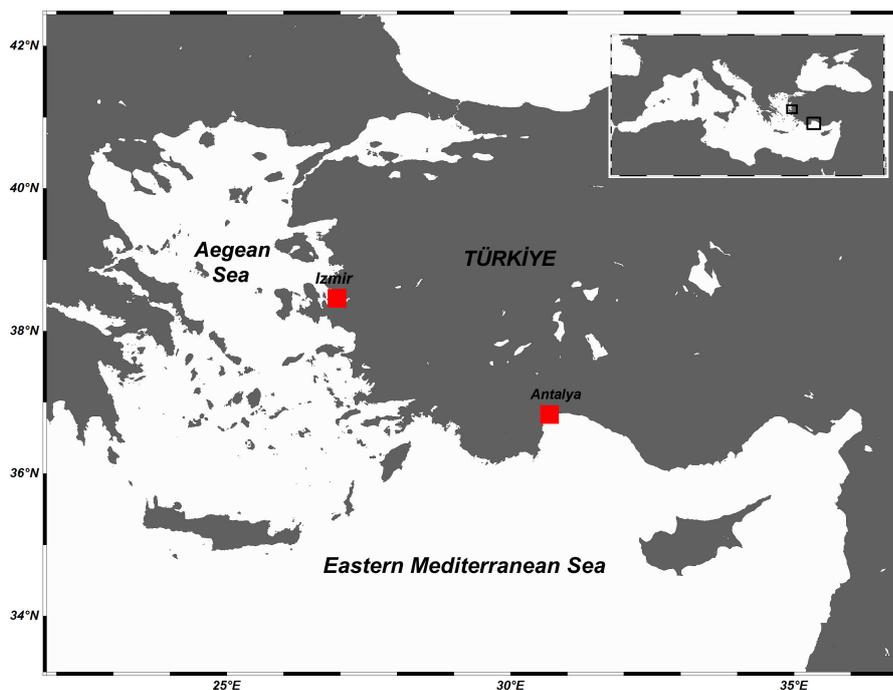


Fig. 1. Studied areas in Türkiye with the sampling stations indicated [source of the map is (Schlitzer, 2022)]

Рис. 1. Станции отбора проб в Турции [источник карты — (Schlitzer, 2022)]

RESULTS AND DISCUSSION

Class Suctorea Claparede & Lachmann, 1859

Subclass Exogenia Collin, 1912

Order Metacinetida Jankowski, 1978

Family Praethecacinetidae Dovgal, 1996

***Praethecacineta halacari* Schulz, 1933**

Material examined. Numerous epibiont ciliates were observed on *C. brachystomus*. Mostly, those were found as attached ventral side of the idiosoma and legs (Fig. 2A). Four ciliates were registered as attached ventral side of another *C. brachystomus* (Fig. 2B). More than ten *P. halacari* were observed on ventral side of *C. tabellio* (Fig. 2C). Length of *P. halacari* lorica was approximately 50–60 µm; width of lorica was 20–25 µm.

Distribution. *P. halacari* is widely distributed species, specific to halacarid mites. *P. halacari* was previously recorded from various species of halacarid mites and different areas worldwide (Chatterjee et al., 2018 ; Durucan & Boyacı, 2019). The species was firstly reported near the Norwegian coast (Tromsø, type locality) from unidentified halacarids. Subsequent finds were in the Atlantic coast

of Brazil, Caspian Sea, Pulau Bedukang (Brunei), Bulgaria, Nova Scotia (Canada), Norfolk (England), Tromsø (Norway), Kiel (Germany), Goa (India), Western Australia, He-Ping-Dao (Taiwan), Matemwe and Zanzibar (Tanzania), Gdańsk (Poland), Singapore, Albufeira (Portugal), Crimea (Russia) (Chatterjee et al., 2018 ; Dovgal et al., 2009a ; Dovgal, 2013), and Antalya and Izmir (Türkiye) (present report).

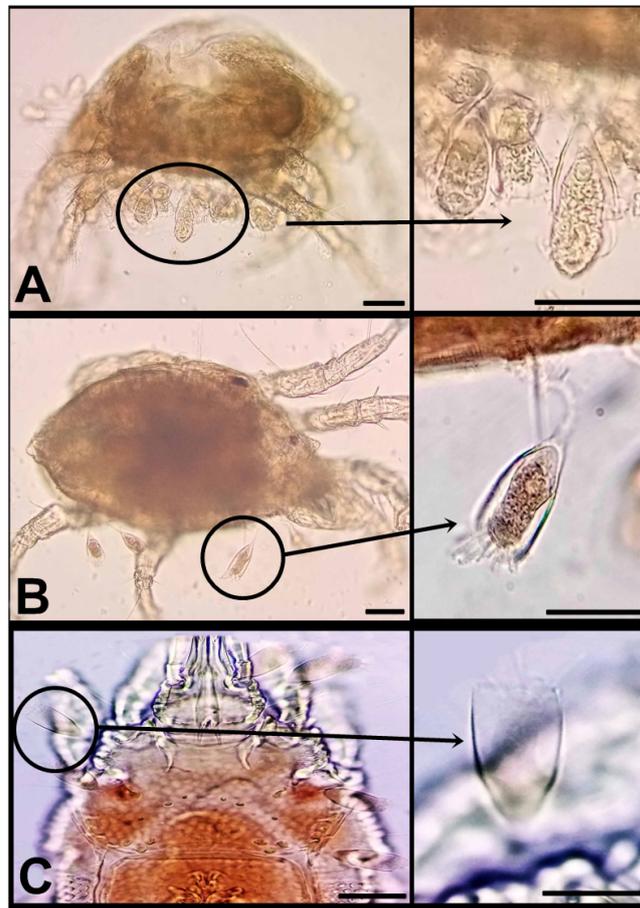


Fig. 2. Ventral views of three different *Copidognathus* specimens infected with *Praethecacineta halacari*: A, B, *Copidognathus brachystomus*; C, *Copidognathus tabellio* (scale bars are 50 μm)

Рис. 2. Вентральная поверхность трёх различных видов рода *Copidognathus*, инфицированных *Praethecacineta halacari*: A, B — *Copidognathus brachystomus*; C — *Copidognathus tabellio* (масштабные линейки — 50 μm)

Order Vermigemmida Jankowski, 1973
 Family Thecacinetidae Matthes, 1956
 Genus *Thecacineta* Collin, 1909
Thecacineta calix (Schroder, 1907)

Material examined. In total, 27 halacarid specimens (14 females and 13 males) were identified as *M. gracilipes*. Out of them, 18 individuals (9 females and 9 males) were found as inhabited by numerous individuals of the species *T. calix* from the sampling area of Antalya. Those were attached to ventral side of idiosoma and gnathosoma. The ciliates were also attached to legs laterally and ventrally (Fig. 3). The suctorian lorica surface was covered with characteristic for the species annular ridges (7–8). Length of lorica was 50–60 μm ; width of lorica was 20–25 μm .

Distribution. The worldwide distribution is characteristic for *T. calix* which is reported as an epibiont on nematodes, copepods, and halacarid mites from the Atlantic, Pacific, Antarctic, and Indian oceans, from the intertidal area to the deep sea (Chatterjee et al., 2019b). The species was firstly reported

on the coast of Kerguelen Islands and Island of Heard (Antarctica, type locality), Kiel Bay (Germany), Tarva (Norway), Koprino Harbor and Quatsino Sound (Pacific coast of Canada), Tierra Del Fuego, Falkland Islands, the Adriatic Sea, the Mediterranean Sea, Veracruz (Mexico), Odesa, Sevastopol (the Black Sea), Siladeu and Nias islands (Indonesia), North Sea, Hokkaido (Japan), Near Andaman & Nicobar Islands, He-Ping-Dao (Taiwan), Piran Bay (Slovenia), East Saint John (U. S. Virgin Islands), Caja de Muertos Island, Buoy, La Parguera (Puerto Rico), Pulau Bedukang (Brunei), Southwest Bay of Bengal, Tamil Nadu (India), Brittany (France), Suvadiva Atoll (Maldives), Northern Caspian Sea, Angria Bank, Arabian Sea (Chatterjee et al., 2019a, b, 2020a, b; Dovgal, 2013; Panigrahi et al., 2015), Muğla (Türkiye) (Durucan, 2019), and Antalya (Türkiye) (present report).

Other hosts. *T. calix* was observed on many different halacarid mites. But in this study, we report for the first time the ciliate species on many specimens of *M. gracilipes*. The latter is a new host species for *T. calix*. The ciliate species were also reported from several species of nematodes, copepods, etc. (Chatterjee et al., 2019b, 2020a; Dovgal, 2013).

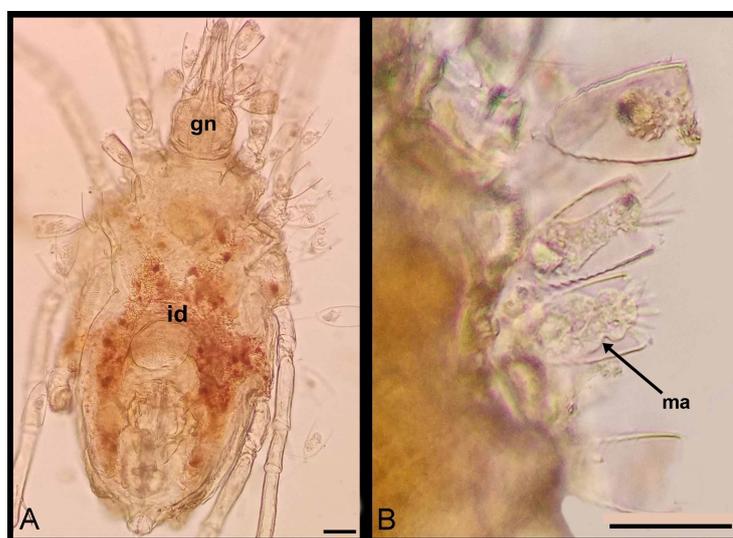


Fig. 3. Specimen of *Maracarus gracilipes* infected by *Thecacineta calix*: A, total view; B, magnificated view (gn, gnathosoma; id, idiosoma; ma, macronucleus) (scale bars are 50 μ m)

Рис. 3. Вентральная поверхность *Maracarus gracilipes*, инфицированного *Thecacineta calix*: А — общий вид; В — вид с большим увеличением (gn — гнатосома; id — идиосома; ма — макронуклеус) (масштабные линейки — 50 μ m)

Thecacineta cothurnioides Collin, 1909

Material examined. In total, two harpacticoid copepod specimens were observed inhabited by *T. cothurnioides* (Fig. 4A, B). Out of them, one was infected with single individual, while another one was inhabited with eleven individuals (Fig. 4C, D).

Distribution. The species was firstly reported on harpacticoid copepod from Banyuls-sur-Mer at the Mediterranean coast of France (type locality) (Dovgal et al., 2009b). Next, *T. cothurnioides* was reported on nematodes from Ratnagiri, Rushikulya, and Sundarbans (India) (Chatterjee et al., 2019a), as well as on nematodes from the Maldivian Archipelago (Baldrighi et al., 2020). Finally, it was registered in the Mediterranean Sea near Antalya (Türkiye) (present report).

Other hosts. Besides harpacticoid copepods [*Cletodes longicaudatus* (Boeck, 1872)], this species was reported from nematodes – *Tricomma* sp., *Chromaspirina* sp., *Chromaspirina parapontica* Luc & De Coninck, 1959, and *Paradesmodora* sp. (Baldrighi et al., 2020; Chatterjee et al., 2019a; Dovgal et al., 2009a).

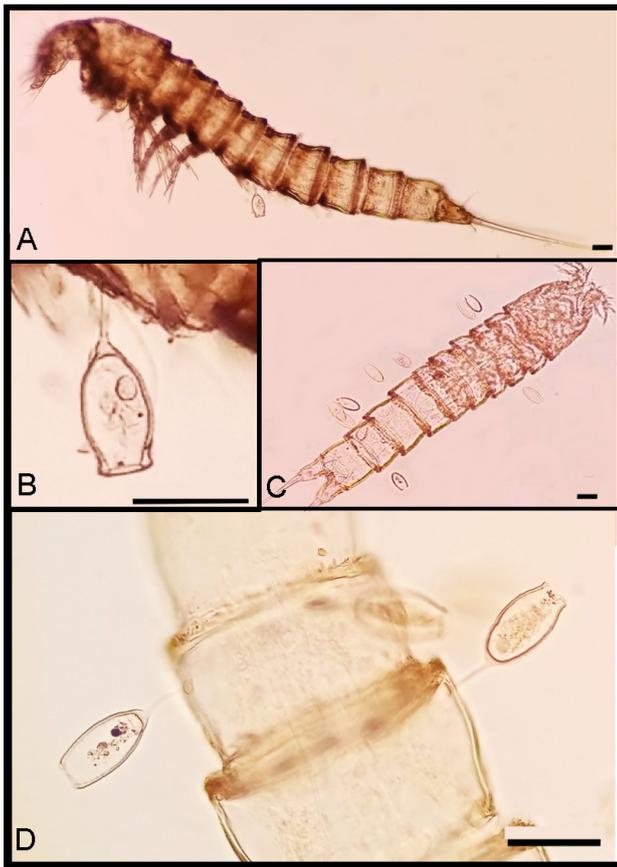


Fig. 4. Distribution of *Thecacineteta cothurnioides* on harpacticoid copepod body: A, B, lateral view; C, D, ventral view (scale bars are 50 μm)

Рис. 4. Распределение *Thecacineteta cothurnioides* на теле гарпактикоиды: А, В — вид сбоку; С, D — вид снизу (масштабные линейки — 50 μm)

Second author's (Igor Dovgal's) work was carried out within the framework of IBSS state research assignment "Fundamental studies of population biology of marine animals, their morphological and genetic diversity" (No. 121040500247-0).

Acknowledgement. The authors are very grateful to Dr. Selçuk Yiğitkurt (Ege University, Fisheries Faculty) for providing the halacarid materials from Izmir.

REFERENCES

- Baldrighi E., Dovgal I., Zeppilli D., Abibulaeva A., Michelet C., Michaud E., Franzo A., Grassi E., Cesaroni L., Guidi L., Balsamo M., Sandulli R., Semprucci F. The cost for biodiversity: Records of ciliate–nematode epibiosis with the description of three new suctorian species. *Diversity*, 2020, vol. 12, iss. 6, art. no. 224 (25 p.). <https://doi.org/10.3390/d12060224>
- Chatterjee T., Dovgal I., Pešić V., Zawal A. A checklist of epibiont suctorian and peritrich ciliates (Ciliophora) on halacarid and hydrachnid mites (Acari: Halacaridae & Hydrachnidia). *Zootaxa*, 2018, vol. 4457, no. 3, pp. 415–430. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4457.3.4>
- Chatterjee T., Dovgal I., Fernandez-Leborans G. A checklist of suctorian epibiont ciliates (Ciliophora) found on meiobenthic marine nematodes. *Journal of Natural History*, 2019a, vol. 53, no. 33–34, pp. 2133–2143. <https://doi.org/10.1080/00222933.2019.1692085>
- Chatterjee T., Nanajkar M., Dovgal I., Sergeeva N., Bhave S. New records of epibiont *Thecacineteta calix* (Ciliophora: Suctorea) from the Caspian Sea and Angriya Bank, Arabian Sea. *Cahiers de Biologie Marine*, 2019b, vol. 60, no. 5, pp. 445–451. <https://doi.org/10.21411/CBM.A.C75BCBEA>
- Chatterjee T., Dovgal I., Nanajkar M. Report of ciliate epibionts (Ciliophora, Suctorea) on meiobenthic invertebrates from the Indian coast near Karwar, Karnataka. *Protistology*, 2020a, vol. 14, no. 2, pp. 84–88. <https://doi.org/10.21685/1680-0826-2020-14-2-5>

6. Chatterjee T., Dovgal I., Schizas N. V. Report of epibiont ciliates (Ciliophora) on harpacticoid copepods from Caribbean mesophotic reefs. *Cahiers de Biologie Marine*, 2020b, vol. 61, no. 1, pp. 131–136. <https://doi.org/10.21411/CBM.A.E1C0E61>
7. Dovgal I. V., Chatterjee T., Subba Rao D. V., Chan B. K. K., De Troch M. New records of *Praethecacineta halacari* (Schulz) (Suctorea: Ciliophora) from Taiwan, Tanzania and Canada. *Marine Biodiversity Records*, 2009a, vol. 2, art. no. e136 (3 p.). <https://doi.org/10.1017/S175526720999056X>
8. Dovgal I., Chatterjee T., Ingole B. New records of *Thecacineteta cothurnioides* and *Trematosoma rotunda* (Ciliophora, Suctorea) as epibionts on nematodes from the Indian Ocean. *Protistology*, 2009b, vol. 6, no. 1, pp. 19–23.
9. Dovgal I. V. *Fauna of Ukraine* : in 40 vols. Vol. 36. *Ciliates – Ciliophora*. Issue 1. *Class Suctorea*. Kyiv : Naukova dumka, 2013, 267 p. (in Russ. with Eng. summary).
10. Durucan F., Artüz M. L., Dovgal I. V. The first record of *Paracineta irregularis* (Ciliophora, Suctorea) as epibiont on *Rhombognathus halacarid* mite (Acari, Halacaridae) from the Sea of Marmara, Turkey. *Protistology*, 2019, vol. 13, no. 2, pp. 67–70. <https://doi.org/10.21685/1680-0826-2019-13-2-4>
11. Durucan F., Boyacı Y. Ö. First record of *Praethecacineta halacari* (Suctorea: Ciliophora) from Antalya, Turkey. *Acta Aquatica Turcica*, 2019, vol. 15, iss. 2, pp. 135–138. <http://dx.doi.org/10.22392/actaquat.577448>
12. Durucan F. First record of *Thecacineteta calix* (Ciliophora: Suctoria) on harpacticoid copepod from Aegean Sea, Turkey. *Acta Biologica*, 2019, no. 26, pp. 31–34. <https://doi.org/10.18276/ab.2019.26-03>
13. Panigrahi S., Bindu V. K., Bramha S. N., Mohanty A. K., Satpathy K. K., Dovgal I. Report of *Thecacineteta calix* (Ciliophora: Suctoria) on nematode *Desmodora* from the intertidal sediments of Southwest Bay of Bengal. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 2015, vol. 43, no. 12, pp. 1840–1843.
14. Schlitzer R. *Ocean Data View* : [site]. 2022. URL: <https://odv.awi.de> [accessed: 13.08.2022].

НОВЫЕ НАХОДКИ ЭПИБИОНТНЫХ СУКТОРИЙ (CILIOPHORA, SUCTOREA) НА КЛЕЩАХ-ГАЛАКАРИДАХ И ГАРПАКТИКОИДАХ С ТУРЕЦКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ

Ф. Дурукан^{1,2}, И. Довгаль³

¹Немецкий научно-исследовательский центр морского разнообразия (DZMB),
Зекенберг-ам-Меер, Вильгельмсхафен, Германия

²Кафедра аквакультуры, Университет прикладных наук, Ёспарта, Турция

³ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: f_durucan@hotmail.com

Суктории — широко распространённая группа эпibiонтных инфузурий, обитающих на представителях многих таксонов морских и пресноводных беспозвоночных. В статье приведены данные о новых находках трёх видов эпibiонтных сукторий. *Praethecacineta halacari* Schulz, 1933 обнаружена на вентральной поверхности идиосомы и на ногах галакаридного клеща *Copidognathus brachystomus* Viets, 1940, а также на вентральной стороне тела *Copidognathus tabellio* (Trouessart, 1894). *Thecacineteta calix* (Schroder, 1907) отмечена на поверхности клеща *Maracarus gracilipes* (Trouessart, 1889) — нового хозяина для этой инфузурии. *Thecacineteta cothurnioides* Collin, 1909 зарегистрирована на поверхности тела двух особей гарпактикоид. Это первая находка *T. cothurnioides* у побережья Турции. *T. calix* впервые отмечена в окрестностях Анталы, а *P. halacari* впервые зарегистрирована в окрестностях Измира. В статье приведены данные о распространении всех найденных видов.

Ключевые слова: эпibiонт, суктория, галакаридный клещ, гарпактикоида, хозяин, Средиземное море, Турция



**ИСТОРИЯ ОСВОЕНИЯ СЕВЕРОАМЕРИКАНСКОЙ ПОЛИХЕТОЙ
MARENZELLERIA NEGLECTA SIKORSKI & BICK, 2004 (ANNELIDA: SPIONIDAE)
СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ АЗОВСКОГО МОРЯ**

© 2022 г. Л. А. Живоглядова, Н. С. Елфимова, В. Г. Карманов

Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Российская Федерация

E-mail: zhivoglyadova_l_a@azniirkh.ru

Поступила в редакцию 30.09.2021; после доработки 07.12.2021;
принята к публикации 19.08.2022; опубликована онлайн 13.09.2022.

В начале 2010-х гг. чужеродная полихета *Marenzelleria neglecta* Sikorski & Bick, 2004 вторглась в бассейн Азовского моря. За несколько лет вид широко расселился по опреснённой акватории моря, а также был отмечен в дельте Дона и в азово-кубанских лиманах. История формирования чужеродным видом устойчивого и многочисленного поселения, локализованного в северо-восточной части моря, прослежена по материалам комплексных гидробиологических и гидрологических съёмок 2010–2020 гг. Развитие популяции вселенца в водоём-реципиенте происходило на фоне увеличения его солёности. Очевидно, этот фактор оказал решающее влияние на инвазионный процесс. За вспышкой численности, наблюдавшейся в западной части Таганрогского залива в 2012 и 2013 гг., последовало резкое уменьшение показателей обилия, вплоть до полного отсутствия полихет в пробах. Снижение численности червей сопровождалось сокращением ареала и смещением ядра плотности в наиболее распреснённые районы моря. В настоящее время постоянное поселение *M. neglecta* существует в границах центрального и восточного районов Таганрогского залива. Проанализировано изменение структуры доминирования в донных сообществах в ходе инвазии. Показано, что доля чужеродных полихет в периоды их массового развития на отдельных станциях достигала 92 % общей численности бентоса.

Ключевые слова: Polychaeta, чужеродные виды, донные сообщества, макрозообентос, эстуарии, Азовское море

Marenzelleria neglecta Sikorski & Bick, 2004 — полихета, в нативном ареале известная для прибрежных и эстуарных экосистем Северной Америки (Sikorski & Bick, 2004). С середины 1980-х гг. она активно расселяется в северных морях Евразии — Балтийском и Северном (*Marenzelleria neglecta*, 2021). Виды рода *Marenzelleria* по морфологическим признакам достаточно сложно диагностируются. В Балтийском море изначально *M. neglecta* не учитывали, а первых полихет определяли как *Marenzelleria viridis* (Verrill, 1873). После ревизии рода их выделили в новый вид — *M. neglecta*. Позднее в Балтике были обнаружены ещё два представителя рода *Marenzelleria* — *M. viridis* и *M. arctia* (Chamberlin, 1920) (Michalek, 2012). В настоящее время группа *Marenzelleria* spp. рассматривается как наиболее успешная среди вселенцев в Балтику (Maximov, 2011 ; Zettler et al., 2002). Инвазия этих червей оказала значительное влияние на структуру донных и планктонных биоценозов (Ezhova et al., 2005 ; Kotta et al., 2006 ; Maximov, 2011 ; Zmudzinski et al., 1993); в Финском заливе их биотурбационная и биоирригационная деятельность привела к изменениям всей экосистемы (Максимов, 2018).

Балтика, связанная с Азовским морем сетью каналов в единую транспортную систему, могла стать вторичным регионом-донором инвазии *M. neglecta* в Азовский бассейн (Болтачева и Лисицкая, 2019), где первая регистрация *Marenzelleria* spp. датируется 2014 г. (Syomin et al., 2016b). Тогда взрослые черви были обнаружены на нескольких станциях в Таганрогском заливе и в дельте реки Дон, а личинки — в планктоне залива (Сёмин и др., 2016а ; Syomin et al., 2016b). В одном из первых сообщений уже отмечали широкое распространение вселенца в верхней части Таганрогского залива: встречаемость червей достигала 90–100 % (Сёмин и др., 2016а). По найденным образцам описано два морфотипа, которые соответствовали характеристикам двух видов — *M. arctia* и *M. neglecta*. Дальнейшие исследования с применением методов генетического анализа показали, что в Азовском море присутствует только один вид — *M. neglecta* (Syomin et al., 2017).

В сборах АзНИИРХ неизвестные для Азовского моря представители семейства Spionidae отмечены в 2010 г. Найденные спиониды отличались по морфологическим признакам от прочих, известных представителей семейства, однако идентифицированы не были. Последующая обработка материалов показала соответствие обнаруженных полихет описанным морфотипам рода *Marenzelleria*. С 2016 г. чужеродных спионид уверенно диагностировали как *Marenzelleria* sp., а позднее — как *M. neglecta*. Таким образом, имеющиеся материалы съёмок позволяют проследить инвазию *M. neglecta* в Азовском море начиная с 2010 г. Собственные данные, а также информация по встречаемости вселенца в Азовском море (Болтачева и Лисицкая, 2019 ; Булышева и др., 2020 ; Сёмин и др., 2016а ; Фроленко и Мальцева, 2017 ; Syomin et al., 2016b, 2017) показывают, что вид сформировал устойчивое поселение в акватории с динамичным режимом солёности.

В среднем значение солёности для Азовского моря составляет 11–12 ‰. В Таганрогском заливе, где наблюдается максимальная пространственная неоднородность, связанная с влиянием стока реки Дон и характером циркуляции вод, солёность составляет от 1 до 9 ‰ (Экологический атлас Азовского моря, 2011). Межгодовые изменения солёности в море имеют нерегулярный характер: разные по продолжительности периоды опреснения сменяются периодами осолонения. Межгодовые изменения солёности в море могут достигать 1 ‰; в Таганрогском заливе размах межгодовых колебаний ещё выше — до 3,6 ‰ (Гидрометеорология, 1991). С 2007 г. в море наблюдается устойчивый рост солёности. За 2010–2020 гг. средняя солёность в открытой части моря возросла с 11,5 до 15,0 ‰, в Таганрогском заливе — с 8,5 до 11,0 ‰.

Цель работы — описать историю формирования поселения *M. neglecta* в северо-восточной части Азовского моря, определить роль в этом процессе абиотических факторов среды, а также дать оценку современного состояния популяции вселенца в бассейне Азовского моря.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Комплексные съёмки в Азовском море проводили по стандартной сетке станций, принятой в АзНИИРХ с 1952 г. (Методы рыбохозяйственных, 2005). Ежегодно выполняли 1–4 рейса на НИС. В работе приведены результаты летней съёмки 2010 г., когда чужеродные спиониды в Азовском море были обнаружены впервые, а также результаты осенних съёмок 2012–2020 гг., по материалам которых представлен анализ межгодовой динамики показателей обилия *M. neglecta* (табл. 1). Пробы отбирали дночерпателем Петерсена с площадью захвата 0,1 м² в двух повторностях. Материал обрабатывали согласно методическим рекомендациям (Методы рыбохозяйственных, 2005). Промывку бентоса проводили через сита с диаметром ячеей фильтрации 5,0 и 0,3 мм (верхнее и нижнее сито соответственно). В качестве фиксатора использовали 4%-ный нейтрализованный формалин или 76%-ный этиловый спирт с добавлением формалина для предотвращения мацерации тканей червей.

Таблица 1. Количество станций отбора проб, выполненных в северо-восточной части Азовского моря**Table 1.** Number of sampling stations carried out in the northeastern Sea of Azov

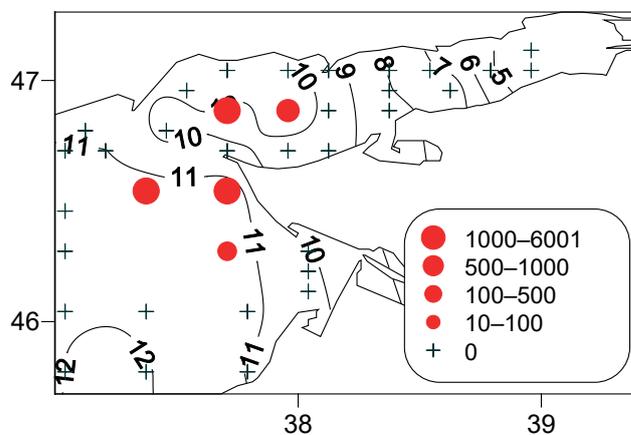
Месяц и год	Количество станций	Месяц и год	Количество станций
Июль 2010 г.	21	Октябрь 2016 г.	17
Октябрь 2011 г.	25	Сентябрь — октябрь 2017 г.	17
Октябрь 2012 г.	21	Сентябрь — октябрь 2018 г.	17
Октябрь 2013 г.	16	Октябрь 2019 г.	17
Октябрь 2014 г.	21	Октябрь 2020 г.	18
Октябрь 2015 г.	17	Всего	207

Разбор бентосных проб проводили под бинокляром. При высокой плотности молоди червей брали навеску, подсчёт организмов вели в камере Богорова. При анализе популяционной структуры вида использовали такие показатели удельной численности, как средняя плотность и экологическая плотность. Среднюю плотность (общая плотность червей на единицу площади) рассчитывали с учётом всех станций. Экологическую плотность (плотность в поселении) определяли как количество червей на единицу обитаемого пространства, то есть без учёта станций с нулевыми значениями.

Для определения солёности пробы отобраны на 18 стандартных станциях батометром Нискина: в заливе и море при глубинах менее 7 м — на двух горизонтах (поверхность и придонный слой); при глубинах более 7 м — на трёх горизонтах (поверхностный слой, 5 м и придонный). Карты построены в геоинформационном пакете Surfer v15. Статистическая обработка данных выполнена в программе PAST (Hammer, 2012).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пространственное распределение. Впервые в пробах чужеродные полихеты зарегистрированы в июле 2010 г. Поселение червей занимало восточный район Азовского моря и западную часть Таганрогского залива (рис. 1). Ядро популяции, плотность в котором достигала $6000 \text{ экз.}\cdot\text{м}^{-2}$, приходилось на заиленные ракушечники Еленинских банок. Солёность в этом районе составляла 11,5 ‰.

**Рис. 1.** Плотность *Marenzelleria neglecta*, $\text{экз.}\cdot\text{м}^{-2}$, в северо-восточной части Азовского моря в июле 2010 г. (изолиниями указана солёность, ‰)**Fig. 1.** *Marenzelleria neglecta* abundance, $\text{ind.}\cdot\text{m}^{-2}$, in the northeastern Sea of Azov in July 2010 (isolines indicate salinity, ‰)

С 2012 г. *M. neglecta* стали регулярно встречаться практически во всех съёмках, поселение полихет занимало приустьевую часть открытого моря и большую часть Таганрогского залива (рис. 2). Восточная граница ареала в сравнении с таковой летом 2010 г. сместилась в восточном направлении и проходила по линии, соединяющей косу Беглицкую и Порт-Катон. Ядро популяции, плотность червей в котором достигла 55 175 экз.·м⁻², локализовалось в западной части залива. Средняя по западному району залива солёность воды составляла 9,9 ‰. На входе в Ясенский залив плотность червей достигала 250 экз.·м⁻².

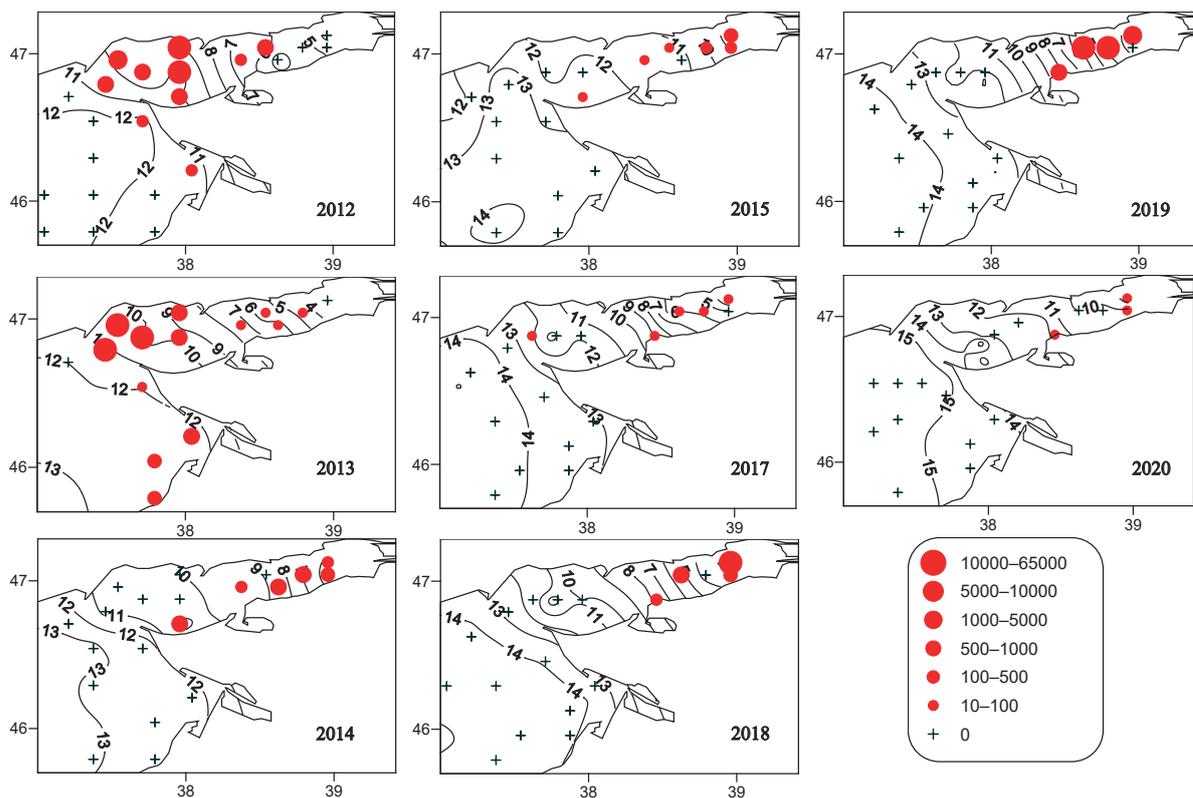


Рис. 2. Плотность *Marenzelleria neglecta*, экз.·м⁻², в северо-восточной части Азовского моря в 2012–2020 гг. в осенний период (изолиниями указана солёность, ‰)

Fig. 2. *Marenzelleria neglecta* abundance, ind.·m⁻², in the northeastern Sea of Azov in 2012–2020 in autumn (isolines indicate salinity, ‰)

В 2013 г. существенных изменений в пространственном распределении полихет не наблюдали. Основное поселение по-прежнему занимало приустьевую часть моря и залив, ядро находилось в западном районе залива (солёность воды составляла 10,2 ‰), численность популяции сохранялась на высоком уровне — до 61 500 экз.·м⁻². Восточная граница ареала сместилась ещё дальше: черви были отмечены на разрезе Таганрог — село Семибалки. Увеличилась площадь акватории, занятой восточным скоплением, которое продвинулось на юг; его максимальная плотность достигла 482 экз.·м⁻². С 2014 г. стали регистрировать изменения пространственной структуры и снижение показателей обилия популяции. Область распространения полихет начала сокращаться, в рассматриваемой части моря вид уже не находили (солёность составляла 12,3–12,9 ‰). Ядро поселения сместилось в центральный район залива (9,1 ‰), максимальная плотность снизилась на порядок — до 4620 экз.·м⁻².

В 2015 г. ядро скопления полихет сместилось ещё дальше — в восточный район залива (9,1 ‰), а максимальная плотность сократилась до 640 экз.·м⁻². Солёность в центральной части залива достигла 11,3 ‰, в западной — 12,5 ‰, а в открытом море — 13,3 ‰. В 2016 г. полихет

в Азовском море не обнаружили. Солёность в восточной части залива, где ранее локализовалось ядро скопления, снизилась до 3,5 ‰; в центральной его части значение составляло 6,9 ‰, в западной — 12,6 ‰, в открытом море — 13,8 ‰. В 2017 г. черви единично были зарегистрированы в западном районе Таганрогского залива (12,1 ‰); основное поселение с плотностью до 640 экз.·м⁻² отмечено на границе восточного (4,7 ‰) и центрального районов залива (7,5 ‰).

В 2018–2020 гг. черви полностью исчезли из западного района залива (11,2–13,7 ‰). Область распространения вселенца была ограничена центральным и восточным районами залива. В 2018 г. ядро скопления с плотностью до 1890 экз.·м⁻² зарегистрировано в восточном районе залива при 3,2 ‰. В 2019 г. максимум (11 000 экз.·м⁻²) приходился на центральный район, где солёность составляла 7,0 ‰. В 2020 г. плотность червей резко сократилась: максимум составлял 235 экз.·м⁻²; вид преимущественно занимал восточный район залива, где солёность достигала 9,7 ‰.

Динамика количественных показателей. В 2012 и 2013 гг. плотность *M. neglecta* находилась на высоком уровне и в среднем составляла 4628 и 7084 экз.·м⁻² соответственно. Высокие значения отмечены и для экологической плотности — 9719 и 8720 экз.·м⁻² соответственно. Следующие два года, 2014 и 2015 гг., характеризовались снижением обоих показателей на порядок (рис. 3). В 2017 г. средняя и экологическая плотность полихет сохранялась на низком уровне — 98 и 334 экз.·м⁻² соответственно. Затем популяция постепенно начала наращивать свою численность. К 2018 г. средняя плотность червей составляла 274 экз.·м⁻², а к 2019 г. достигла 1050 экз.·м⁻². Ещё более заметный рост наблюдали внутри поселения: экологическая плотность в 2018 г. составляла 933 экз.·м⁻², а к 2019 г. — уже 4464 экз.·м⁻². В 2020 г. отмечены минимальные за весь период показатели обилия: средняя плотность — 16 экз.·м⁻², экологическая плотность — 98 экз.·м⁻².

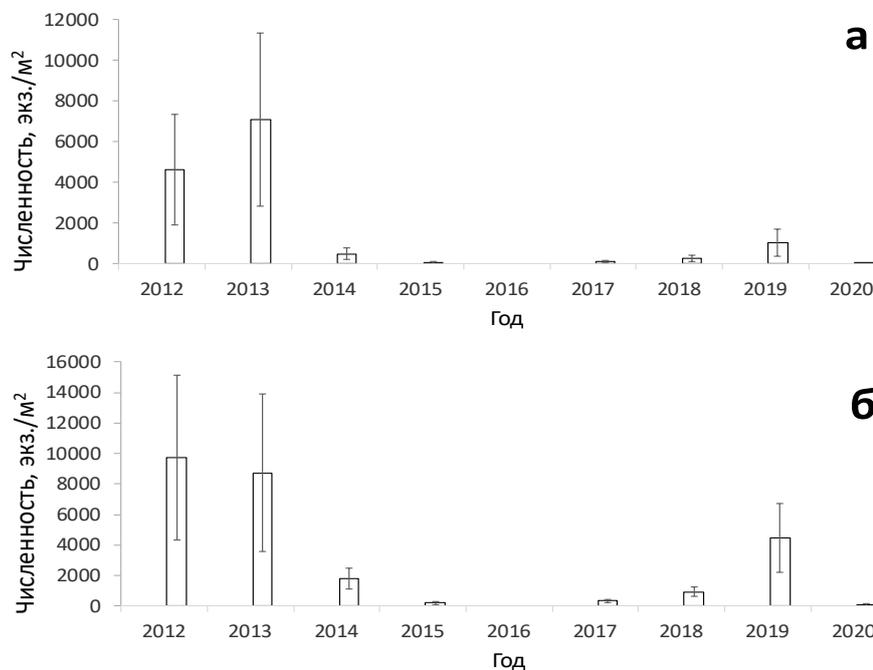


Рис. 3. Динамика средней плотности (количество особей на единицу площади) (а) и экологической плотности (количество особей на единицу обитаемого пространства) (б) *Marenzelleria neglecta* в северо-восточной части Азовского моря в 2010–2020 г. Планки погрешности — стандартная ошибка

Fig. 3. Dynamics of mean abundance (number of individuals per unit area) (a) and ecological abundance (number of individuals per unit of habitat) (b) of *Marenzelleria neglecta* in the northeastern Sea of Azov in 2010–2020. Error bars indicate standard error

Структура доминирования в сообществах. В западном районе Таганрогского залива, где была зарегистрирована основная вспышка численности вселенца, до её начала (2010 и 2011 гг.) массовыми и обычными видами бентоса (частота встречаемости $\geq 50\%$) являлись малощетинковые черви, два вида полихет (*Alitta succinea* (Leuckart, 1847) и *Polydora cornuta* Bosc, 1802), брюхоногие моллюски *Hydrobia* spp. и двустворчатый моллюск *Cerastoderma glaucum* (Bruguière, 1789). Общая численность макробентоса в среднем по району составляла в 2010 г. 8953 экз. \cdot м⁻², в 2011 г. — 13 358 экз. \cdot м⁻². Перечисленные виды и группы формировали более 90 % общей численности сообщества. В 2012 и 2013 гг. полихет *M. neglecta* регистрировали на всех станциях. Из прочих представителей донной фауны высокую частоту встречаемости сохраняли *A. succinea*, *Hydrobia* spp. и малощетинковые черви. Численность бентоса увеличилась в три раза и составляла в 2012 и 2013 гг. 33 848 и 38 944 экз. \cdot м⁻² соответственно. На долю *M. neglecta* в 2012 г. в среднем по западному району приходилось 38 % общей численности, в 2013 г. — 58 %. В этот период на отдельных станциях доля вселенца в сообществах достигла 92 % общей численности (рис. 4).

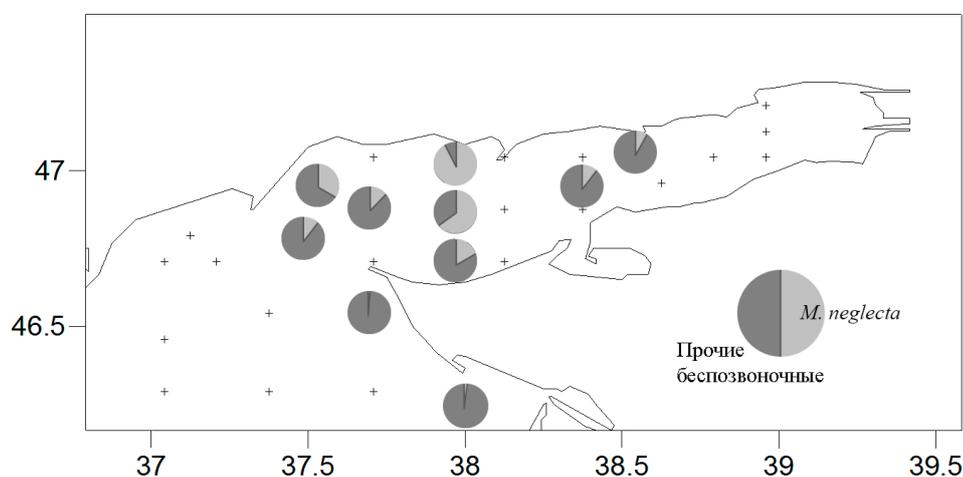


Рис. 4. Доля *Marenzelleria neglecta* в общей численности зообентоса в Азовском море осенью 2012 г.

Fig. 4. *Marenzelleria neglecta* ratio in the total abundance of zoobenthos in the Sea of Azov in autumn 2012

В центральной и восточной частях Таганрогского залива *M. neglecta* в массе стали находить с 2014 г. Характерными доминантами донных сообществ этих акваторий до вселения полихеты являлись олигохеты, *A. succinea* и полихета *Hediste diversicolor* (O. F. Müller, 1776). В восточной части высокую встречаемость также имели реликтовые полихеты *Hypniola kowalewskii* (Grimm in Appenkova, 1927), кумовые раки *Pterocuma pectinatum* (Sowinsky, 1893) и личинки насекомых семейства Chironomidae. Перечисленные группы суммарно формировали 88 % общей численности донной фауны в центральном районе залива и 97 % — в восточном. В центральной части средняя по району численность бентоса в 2010–2013 гг. варьировала от 2591 до 8825 экз. \cdot м⁻². В 2014 г. показатель существенно не изменился (3320 экз. \cdot м⁻²). При этом доля *M. neglecta* в сообществе в среднем составляла 31 %. В восточном районе залива в 2010–2013 гг. средняя численность варьировала от 5310 до 26 995 экз. \cdot м⁻². В 2014 г. она сократилась до 2393 экз. \cdot м⁻², что было обусловлено снижением численности олигохет. Доля *M. neglecta* достигала 36 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

Экспансия *M. neglecta* в прибрежные воды континентальной Европы достаточно хорошо изучена (Ezhova et al., 2005; Maximov, 2011; Norkko et al., 1993; Zettler et al., 2002; Zmudzinski et al., 1993). Проникнув в южные районы Балтики примерно в середине 1980-х гг., полихета быстро

заселила побережье моря, была зарегистрирована в Нидерландах, Германии, Польше, России, Литве, Латвии и Эстонии (*Marenzelleria neglecta*, 2021). В начале 1990-х гг. вид достиг побережья Швеции, где был отмечен в устье Финского залива; в 1990–1993 гг. он проник в восточную часть Финского залива и южную часть Ботнического залива, а к 2000 г. распространился по всей акватории Финского залива до пресноводной Невской губы.

Высокая скорость расселения червей обеспечивается продолжительной личиночной стадией. Показано, что продолжительность пелагической фазы *M. neglecta* при +20 °C составляет 4–5 недель; при более низкой температуре (+5 °C) этот процесс может длиться 2,5–3 месяца (Bochert, 1997). Также известно, что высокой подвижностью и способностью находиться в планктоне обладают ювенильные особи полихет (Dauer et al., 1980, 1982, цит. по: Bochert et al., 1996), что обеспечивает виду дополнительные возможности при колонизации новых акваторий.

В бассейне Азовского моря расселение червей происходило также стремительно. Через 3–4 года после первой находки полихет на входе в Таганрогский залив скопления *M. neglecta* с высокой плотностью регистрировали по всей северо-восточной части моря, включая акваторию залива. По литературным данным и собственным наблюдениям, *M. neglecta* встречалась и в других частях моря, вплоть до Керченского пролива (Болтачева и Лисицкая, 2019; Булышева и др., 2020; Фроленко и Мальцева, 2017). В 2014 г. состоялась регистрация вселенца в дельте реки Дон. В 2016 и 2017 гг. червей стали регулярно отмечать на значительном расстоянии от устья — в верхней части протоки Мокрая Каланча (Zhivoglyadova & Elfimova, 2021). Поселения *M. neglecta* наблюдали в азовских лиманах Краснодарского края. В 2015 г. в лимане Ахтарский обнаружено скопление полихет плотностью 160 экз.·м⁻².

Показано, что при отсутствии ограничений по пищевому ресурсу, что характерно для эвтрофированных акваторий, полихеты способны быстро наращивать численность. Этому способствуют высокая плодовитость *M. neglecta* (10–40 тыс. яиц на особь) и ранняя половозрелость, которой черви способны достигнуть уже на первом году жизни (Bochert & Bick, 1995).

В Азовском море высокая плотность популяции (5–7 тыс. экз.·м⁻²) отмечена в 2012 и 2013 гг. Сравнимые показатели обилия были зарегистрированы в некоторых районах Балтики. Так, в лагунах Дарс-Цингст (Германия) через несколько лет после обнаружения популяция *M. neglecta* дала вспышку, увеличив плотность с нескольких сотен до 5 тыс. экз.·м⁻², а затем достигла максимума — 10 тыс. экз.·м⁻² (Zettler et al., 2002). Экспоненциальный рост численности *M. neglecta* и высокие показатели обилия наблюдали и в Вислинском заливе, где за период с 1988 по 1994 г. плотность полихет достигла 5–7 тыс. экз.·м⁻² (Ezhova & Spirido, 2005).

Таким образом, на начальном этапе инвазии популяция *M. neglecta* в Азовском море активно развивалась, чему способствовали, очевидно, высокий трофический статус водоёма и благоприятные условия по солёности. В 2010–2013 гг. в западном районе Таганрогского залива, где отмечали наиболее плотные скопления полихет, солёность в среднем составляла 9,7–10,0 ‰, а в северо-восточной части моря — 11,4–12,2 ‰. Дальнейшее развитие популяции, по-видимому, определялось динамикой этого фактора.

Верхняя граница оптимума для полихеты составляет 10 ‰ (Sikorski & Bick, 2004). Червей перестали находить в северо-восточной части моря при средней солёности 12,9 ‰ (2014 г.), в западной части Таганрогского залива плотность скоплений сократилась почти на порядок при повышении солёности до 12,5 ‰ (2015 г.). Затем популяция практически полностью сместилась в распреснённые районы залива — центральный и восточный, где средняя солёность на тот момент составляла 10,2 и 7,6 ‰ соответственно. Вместе с тем восточный район залива, по-видимому, является неблагоприятным для воспроизводства вида. В эксперименте показано, что при солёности менее 5 ‰ выживание личинок проблематично: они не могут завершить своё развитие и перейти к донному образу жизни (Bochert, 1997). По нашим данным, солёность воды в восточном районе

в разные годы варьировала от 1,4 до 9,1 ‰. За весь период наблюдений только в 2014 и 2015 гг. солёность в восточной части залива была выше изогадины в 5 ‰, что должно было обеспечивать успешное воспроизводство вида.

Заключение. Высокая солёность, наблюдаемая в настоящее время в Азовском море, по-видимому, ограничивает расселение и сдерживает крупномасштабную инвазию *Marenzelleria neglecta* в этом водоёме. Несмотря на имеющиеся факты регистрации червей по всей его акватории, поселения с высокой плотностью *M. neglecta* формирует только в распреснённых частях моря. Для этого вида оптимум по солёности воды находится в диапазоне 7–12 ‰. С 2017 г. устойчивое поселение полихет существует в пределах центрального и восточного районов Таганрогского залива. При этом в поселении продолжают наблюдаться значительные флуктуации количественных показателей; их основной причиной является, видимо, нестабильный режим солёности, при котором воспроизводство вида зависит от гидрологической ситуации. Вероятно, и дальнейшее развитие *M. neglecta* в Азовском море будет контролироваться солёностью воды, многолетний положительный тренд значений которой позволяет оценивать ситуацию для развития вида как неблагоприятную.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Болтачева Н. А., Лисицкая Е. В. Полихеты юго-западной части Азовского моря // *Экосистемы*. 2019. Вып. 19 (49). С. 133–141. [Boltachova N. A., Lisitskaya E. V. Polychaetes of the southwest of the Sea of Azov. *Ekosistemy*, 2019, vol. 19 (49), pp. 133–141. (in Russ.)]
2. Булышева Н. И., Сёмин В. Л., Шохин И. В., Савикин А. И., Коваленко Е. П., Бирюкова С. В. Чужеродные виды зообентоса в экосистемах Нижнего Дона и Азовского моря на рубеже XX–XXI вв. // *Труды Южного научного центра Российской академии наук*. 2020. Т. 8. С. 256–273. [Bulysheva N. I., Syomin V. L., Shokhin I. V., Savikin A. I., Kovalenko E. P., Biryukova S. V. Non-native species of zoobenthos in the ecosystems of the Lower Don and the Sea of Azov at the turn of the 20th–21st centuries. *Trudy Yuzhnogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk*, 2020, vol. 8, pp. 256–273. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.23885/1993-6621-2020-8-256-273>
3. *Гидрометеорология и гидрохимия морей СССР. Азовское море*. Санкт-Петербург : Гидрометеоиздат, 1991. 235 с. [*Gidrometeorologiya i gidrokhimiya morei SSSR. Azovskoe more*. Saint Petersburg : Gidrometeoizdat, 1991, 235 p. (in Russ.)]
4. Максимов А. А. *Межгодовая и многолетняя динамика макрозообентоса на примере вершины Финского залива*. Санкт-Петербург : Нестор-История, 2018. 254 с. [Maksimov A. A. *Mezhgodovaya i mnogoletnyaya dinamika makrozoobentosa na primere verшины Finskogo zaliva*. Saint Petersburg : Nestor-Istoriya, 2018, 254 p. (in Russ.)]
5. *Методы рыбохозяйственных и природоохранных исследований в Азово-Черноморском бассейне* : сб. науч.-метод. работ. Краснодар : Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, 2005. 352 с. [*Metody rybokhozyaistvennykh i prirodookhrannykh issledovaniy v Azovo-Chernomorskom basseine* : sb. nauch.-metod. rabot. Krasnodar : Azovskii nauchno-issledovatel'skii institut rybnogo khozyaistva, 2005, 352 p. (in Russ.)]
6. Сёмин В. Л., Булышева Н. И., Савикин А. И., Коваленко Е. П. Чужеродные виды полихет в донных сообществах Азовского моря в начале XXI века // *Научный журнал КубГАУ*. 2016а. № 117 (03). С. 1–13. [Syomin V. L., Bulysheva N. I., Savikin A. I., Kovalenko E. P. Alien polychaete species in the bottom communities of the Azov Sea in the beginning of the XXI century. *Nauchnyi zhurnal KubGAU*, 2016a, no. 117 (03), pp. 1–13. (in Russ.)]. <http://ej.kubagro.ru/2016/03/pdf/89.pdf>
7. Фроленко Л. Н., Мальцева О. С. О сообществе *Anadara* в Азовском море // *Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона* : материалы IX Международной научно-практической конференции, Керчь, 6 октября 2017 г. Керчь :

- Керченский филиал ФГБНУ «Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства», 2017. С. 99–103. [Frolenko L. N., Maltseva O. S. On the *Anadara* community in the Azov Sea. In: *Current Fishery and Environmental Problems of the Azov and Black Seas Region* : materials of the IX International Scientific and Practical Conference, Kerch, 6 October, 2017. Kerch : Kerchenskii filial FGBNU “Azovskii nauchno-issledovatel’skii institut rybnogo khozyaistva”, 2017, pp. 99–103. (in Russ.)]
8. *Экологический атлас Азовского моря* / под ред. Г. Г. Матишова, Н. И. Голубевой, В. В. Сорокиной. Ростов-на-Дону : Изд-во ЮНЦ РАН, 2011. 328 с. [*Ekologicheskii atlas Azovskogo morya* / G. G. Matishov, N. I. Golubeva, V. V. Sorokina (Eds). Rostov-on-Don : Izd-vo YuNTs RAN, 2011, 328 p. (in Russ.)]
 9. Bochert R. *Marenzelleria viridis* (Polychaeta: Spionidae): A review of its reproduction. *Aquatic Ecology*, 1997, vol. 31, iss. 2, pp. 163–175. <https://doi.org/10.1023/A:1009951404343>
 10. Bochert R., Bick A. Reproduction and larval development of *Marenzelleria viridis* (Polychaeta: Spionidae). *Marine Biology*, 1995, vol. 123, iss. 4, pp. 763–773. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00349119>
 11. Bochert R., Bick A., Zettler M., Arndt E. A. *Marenzelleria viridis* (Verrill, 1873) (Polychaeta: Spionidae), an invader in the benthic community in Baltic coastal inlets – Investigation of reproduction. In: *Proceedings of the 13th Symposium of the Baltic Marine Biologists*, Jūrmala, Latvia, 31 August – 4 September, 1993. Riga, 1996, pp. 131–139.
 12. Ezhova E., Spirido O. Patterns of spatial and temporal distribution of the *Marenzelleria* cf. *viridis* population in the lagoon and marine environment in the southeastern Baltic Sea. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 2005, vol. 34, iss. 1, pp. 209–226.
 13. Ezhova E., Żmudziński L., Maciejewska K. Long-term trends in the macrozoobenthos of the Vistula Lagoon, southeastern Baltic Sea. Species composition and biomass distribution. *Bulletin of the Sea Fisheries Institute*, 2005, vol. 1, no. 164, pp. 55–73.
 14. Hammer Ø. *Paleontological Statistics, Version 2.17* : Reference Manual / Natural History Museum, University of Oslo. [Oslo], [2012], 229 p. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.467.2438&rep=rep1&type=pdf>
 15. Kotta J., Kotta I., Simm M., Lankov A., Lauringson V., Põllumäe A., Ojaveer H. Ecological consequences of biological invasions: Three invertebrate case studies in the north-eastern Baltic Sea. *Helgoland Marine Research*, 2006, vol. 60, iss. 2, pp. 106–112. <https://doi.org/10.1007/s10152-006-0027-6>
 16. *Marenzelleria neglecta* (red gilled mud worm) : datasheet. In: *Invasive Species Compendium* : [site]. Wallingford, UK : CAB International, [2021]. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/108340#C553B2A8-2CE2-4B99-80B0-847BA752A654> [accessed: 10.02.2021].
 17. Maximov A. A. Large-scale invasion of *Marenzelleria* spp. (Polychaeta; Spionidae) in the eastern Gulf of Finland, Baltic Sea. *Russian Journal of Biological Invasions*, 2011, vol. 2, iss. 1, pp. 11–19. <https://doi.org/10.1134/S2075111711010036>
 18. Michalek M. Abundance and distribution of *Marenzelleria* species in the Baltic Sea. In: *HELCOM Baltic Sea Environment Fact Sheet*. [Helsinki], 2012. URL: <https://helcom.fi/wp-content/uploads/2020/06/BSEFS-Abundance-and-distribution-of-marenzelleria-species-in-the-Baltic-Sea.pdf> [accessed: 28.07.2021].
 19. Norkko A., Bonsdorff E., Boström C. Observations of the polychaete *Marenzelleria viridis* (Verrill) on a shallow sandy bottom on the South coast of Finland. *Memoranda Societatis pro Fauna et Flora Fennica*, 1993, vol. 69, pp. 112–113.
 20. Sikorski A. V., Bick A. Revision of *Marenzelleria* Mesnil, 1896 (Spionidae, Polychaeta). *Sarsia*, 2004, vol. 89, iss. 4, pp. 253–275. <https://doi.org/10.1080/00364820410002460>
 21. Syomin V. L., Sikorski A. V., Kovalenko E. P., Bulysheva N. I. Introduction of species of genus *Marenzelleria* Mensil, 1896 (Polychaeta: Spionidae) in the Don River delta and Taganrog Bay. *Russian Journal of Biological Invasions*, 2016b, vol. 7, iss. 2, pp. 174–181. <https://doi.org/10.1134/S2075111716020107>
 22. Syomin V., Sikorski A., Bastrop R., Köhler N., Stradomsky B., Fomina E., Matishov D. The invasion of the genus *Marenzelleria* (Polychaeta: Spionidae) into the Don River mouth and the Taganrog Bay: Morphological and genetic study. *Journal of the Marine Biological Association*

- of the United Kingdom, 2017, vol. 97, iss. 5, pp. 975–984. <https://doi.org/10.1017/S0025315417001114>
23. Zettler M. L., Daunys D., Kotta J., Bick A. History and success of an invasion into the Baltic Sea: The polychaete *Marenzelleria* cf. *viridis*, development and strategies. In: *Invasive Aquatic Species of Europe. Distribution, Impacts and Management*. Dordrecht : Springer, 2002, pp. 66–75. https://doi.org/10.1007/978-94-015-9956-6_8
24. Zhivoglyadova L. A., Elfimova N. S. Invasion of the polychaeta *Marenzelleria neglecta* Sikorski & Bick, 2004 (Polychaeta: Spionidae) in the Azov Sea basin. In: *Invasion of Alien Species in Holarctic. Borok-VI* : book of abstracts of the 6th International Symposium, Borok–Uglich, 11–15 Oct., 2021. Kazan : Buk, 2021, pp. 248.
25. Zmudzinski L., Chubarova-Solovjeva S., Dobrovolski Z., Gruszka P., Olenin S., Wolnomiejski N. Expansion of the spionid polychaete *Marenzelleria viridis* in the southern part of the Baltic Sea. In: *Proceedings of the 13th Symposium of Baltic Marine Biologists*, Jūrmala, Latvia, 31 Aug. – 4 Sept., 1993. Riga, 1993, pp. 127–129.

HISTORY OF DISPERSION OF THE NORTH AMERICAN POLYCHAETE *MARENZELLERIA NEGLECTA* SIKORSKI & BICK, 2004 (ANNELIDA: SPIONIDAE) IN THE NORTHEASTERN SEA OF AZOV

L. A. Zhivoglyadova, N. S. Elfimova, and V. G. Karmanov

Azov–Black Sea branch of the FSBSI “VNIRO” (“AzNIIRKh”), Rostov-on-Don, Russian Federation
E-mail: zhivoglyadova_l_a@azniirkh.ru

In the early 2010s, the alien polychaete worm *Marenzelleria neglecta* Sikorski & Bick, 2004 invaded the Sea of Azov. In few years, the species has widely spread over the desalinated sea area. Moreover, it was recorded in the Don delta and in the Sea of Azov–Kuban estuaries. This alien species formed a stable and numerous colony localized in the northeastern Sea of Azov; the history of this formation is traced based on material of complex hydrobiological and hydrological surveys of 2010–2020. The colony of this species developed against the backdrop of an increase in water salinity. Obviously, this factor had a decisive effect on the invasive process. An outbreak of abundance observed in the western Taganrog Bay in 2012 and 2013 was followed by a sharp decrease in abundance – down to complete absence of this polychaete worm in the samples. A drop in abundance was accompanied by a reduction of its range and a shift in the core of abundance towards sea areas with the lowest salinity. To date, there is a stable *M. neglecta* population in the central and eastern Taganrog Bay. Changes in the structure of prevalence in benthic communities during invasion were analyzed. As shown, the ratio of alien polychaetes in the periods of their mass development reached 92 % of the total abundance of benthos at individual stations.

Keywords: Polychaeta, alien species, benthic communities, macrozoobenthos, estuaries, Sea of Azov



ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В БУРОЙ ВОДОРΟΣЛИ *FUCUS VESICULOSUS* LINNAEUS, 1753 БАРЕНЦЕВА МОРЯ В ТЕЧЕНИЕ ГОДА

© 2022 г. М. П. Клиндух

Мурманский морской биологический институт Российской академии наук,
Мурманск, Российская Федерация
E-mail: klindukh.maria@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.04.2021; после доработки 06.10.2021;
принята к публикации 19.08.2022; опубликована онлайн 13.09.2022.

Свободные аминокислоты (САК) являются важными биохимическими соединениями любой клетки. Их состав и содержание зависят от физиологического состояния, абиотических факторов среды и фазы развития организма. Функции САК в растениях очень разнообразны и включают участие не только в синтезе белков и других соединений, но и в адаптации водорослей к неблагоприятным условиям среды. Сведения о динамике САК важны для понимания их роли в формировании устойчивости водорослей к меняющимся факторам среды. Цель данного исследования — определить содержание САК в бурой водоросли *Fucus vesiculosus* и их сезонные изменения и выявить зависимости от факторов среды и фазы развития фукуса. Водоросли для изучения собирали на литорали Кольского залива Баренцева моря в период отлива раз в месяц с декабря 2015 г. по декабрь 2016 г. Для исследования использовали среднюю часть таллома. Качественный и количественный состав САК определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Качественный состав САК в течение года не изменялся; доминирующими в пуле САК были глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аланин и пролин. Содержание САК изменялось в течение года; максимальное количество отмечено в весенне-летний период. Содержание САК зависело от внешних факторов среды. Определены корреляционные зависимости между концентрациями отдельных САК и температурой воздуха, температурой и солёностью воды. Динамика САК в разные фазы развития фукуса связана с происходящими в водорослях процессами; на неё влияют скорость роста, клеточная метаболическая активность, скорость фотосинтеза и генеративное развитие. Для каждой из фаз развития характерна своя динамика содержания САК. На основании динамики концентрации САК у фукуса найдены соответствия с фазами развития (покоя, активации роста, роста, накопления запасных веществ). В качестве одного из резервных источников органического азота у фукуса, возможно, выступают свободный глутамат и аспартат. Транспорт органических форм азота в талломе фукуса, вероятно, осуществляется за счёт глутамата, аспартата, аланина и пролина.

Ключевые слова: *Fucus vesiculosus*, свободные аминокислоты, сезонные изменения, фазы развития, температура, солёность, Баренцево море

Аминокислоты являются необходимыми для жизни любого организма биохимическими соединениями. В организме они находятся в двух состояниях — связанном и свободном. Свободные аминокислоты (далее — САК) принимают участие в построении молекул белков и пептидов, в синтезе азотистых и безазотистых соединений, таких как нуклеотиды, фитогормоны, витамины, алкалоиды, бетаины, пигменты, полифенолы и др. (Hildebrandt et al., 2015 ; Parthasarathy et al., 2018 ; Rhodes & Hanson, 1993 ; Zrenner et al., 2006). Кроме того, САК выполняют роль

сигнальных молекул (Lam et al., 1998 ; Oliveira & Coruzzi, 1999), принимают участие в процессах адаптации растений к изменяющимся условиям окружающей среды (Galili & Höfgen, 2002 ; Stewart & Larher, 1980), служат антиоксидантами, осморегуляторами, криопротекторами (Harris & Logan, 2018 ; Jackson & Seppelt, 1995 ; Stewart & Larher, 1980 ; Trovato et al., 2008). У водорослей, как и у высших растений, САК участвуют в транспорте органического азота по таллому, а также могут выступать в роли запасных источников азота и накапливаться для использования в процессах роста и развития в период низкого содержания в среде данного биогенного элемента (Diouris, 1989 ; Naldi & Wheeler, 1999 ; Schmitz & Srivastava, 1979). САК участвуют во многих метаболических процессах в растениях и отражают физиологическое состояние организма.

Fucus vesiculosus Linnaeus, 1753 является одним из наиболее распространённых видов водорослей побережья Баренцева моря. В последнее время много внимания уделяют изучению физиологических особенностей фукуса как модельного объекта для исследования механизмов адаптации водорослей к условиям высоких широт (Makarov et al., 2010 ; Ryzhik, 2016 ; Ryzhik et al., 2021 ; Tropin et al., 2003). Между тем данные по содержанию САК единичны и в основном получены в результате однократных или двукратных сборов водорослей с целью определения возможности их использования в качестве сырья для различных отраслей перерабатывающей промышленности (Репина, 2005 ; Klindukh & Obluchinskaya, 2018 ; Maehre et al., 2014 ; Mouritsen et al., 2019 ; Peinado et al., 2014). При этом изменение состава и содержания САК в зависимости от внешних факторов среды и фазы развития растений, а также их значение и роль для самих водорослей практически не описаны. Эти данные важны для понимания роли САК в формировании адаптации и в сохранении устойчивости организма в изменяющихся условиях среды обитания.

Цель работы — определить содержание САК в бурой водоросли *F. vesiculosus*, выявить сезонные изменения и зависимости накопления САК от факторов среды и фазы развития водоросли.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения сезонной динамики состава и содержания САК у бурой водоросли *F. vesiculosus* материал собирали ежемесячно с декабря 2015 г. по декабрь 2016 г. на литорали Кольского залива Баренцева моря в период отлива (район Абрам-мыса; 68°58'N, 33°01'E). Образцы водорослей были фертильными, с 7–10 дихотомическими ветвлениями. Одновременно проводили измерения температуры воды и воздуха ртутным термометром (ТЛ-4, Россия) и солёности воды рефрактометрическим солемером (RHS-10АТС, Китай). Для исследования использовали средний участок таллома (4-е и 5-е дихотомические ветвления), как наиболее физиологически зрелую и активную часть. У водорослей (5–6 талломов) отделяли часть таллома, измельчали и фиксировали 96%-ным этиловым спиртом. Фиксированные пробы хранили в тёмном прохладном месте в герметичных пробирках.

Экстракцию САК из образцов проводили 70%-ным этанолом, нагретым до +60...+70 °С: спиртовую настойку сливали, водоросли измельчали в ступке со стеклянным песком и заливали 7 мл горячего 70%-ного этанола; водоросли настаивали при постоянном перемешивании в течение 1 ч, затем смесь центрифугировали 5 мин при 3000 об·мин⁻¹ для отделения осадка; экстракт сливали в выпарительную чашку, а осадок повторно заливали горячим этанолом. Процесс экстракции повторяли 3 раза. Полученные экстракты объединяли и упаривали на водяной бане досуха. Осадок растворяли в 10 мл дистиллированной воды, центрифугировали 10 мин при 5000 об·мин⁻¹; очистку проводили методом ионообменной хроматографии на катионите КУ-2-8 (Методы, 1975). Сухой осадок, полученный после очистки, растворяли в небольшом количестве дистиллированной воды и использовали для определения САК.

Состав и содержание САК анализировали по стандартной методике на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20AD Prominence (Япония) с детектором на фотодиодной матрице Shimadzu SPD-M20A Prominence и с хроматографической колонкой 250 × 4,6 мм Supelco C18, 5 мкм (США) (Руденко и др., 2010). Измерение осуществляли в двух параллельных пробах в двукратной повторности ($n = 4$). Данные по содержанию САК представлены в виде средних значений с указанием стандартного отклонения.

Содержание сухих веществ в образцах определяли в двукратной повторности по стандартной методике: навеску исследуемого образца сырой массой около 1 г высушивали до постоянной массы в течение суток при температуре +100...+105 °С (ГОСТ 26185-84, 2004).

С помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) рассчитывали влияния сезона, температуры воздуха, температуры и солёности воды на содержание САК в водорослях. С помощью коэффициента корреляции Пирсона устанавливали зависимость между содержанием САК и солёностью, температурой воздуха и воды. Для выявления значимых отличий в содержании САК у водоросли в разные сезоны года использовали метод множественного сравнения Тьюки — Крамера. Статистическую обработку данных проводили при уровне значимости $p \leq 0,05$. Обработку данных и вычисления выполняли в программах Microsoft Excel 2010, NCSS 2004 и PAST v3.22.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В месте отбора проб *F. vesiculosus* получены данные по изменению параметров среды (табл. 1). С весны до начала осени солёность воды не превышала 20 ‰, наименьшие значения зафиксированы в мае и июне 2016 г. В зимние месяцы и в октябре она изменялась от 20 до 30 ‰. Полученные данные по динамике солёности прибрежных вод характерны для вод южного колена Кольского залива (Кольский залив, 2009). Наибольшие температуры воды и воздуха зафиксированы с июня по август в районе Абрам-мыса. Минимальные значения температуры воды отмечены с января по март, а воздуха — с ноября по апрель.

Таблица 1. Значения некоторых факторов среды во время сбора проб водорослей

Table 1. Values of some environmental factors during alga sampling

Месяц и год	Солёность воды, ‰	Температура воды, °С	Температура воздуха, °С
Декабрь 2015 г.	19,5	+3,1	-1,2
Январь 2016 г.	30	-1,5	-30
Февраль 2016 г.	25	-0,6	-4,4
Март 2016 г.	18,5	-0,1	-3,8
Апрель 2016 г.	17	+1,3	-1,6
Май 2016 г.	7	+7,6	+15,3
Июнь 2016 г.	7,5	+14,2	+18,9
Июль 2016 г.	12,5	+12,4	+13,8
Август 2016 г.	15	+11,1	+11,7
Сентябрь 2016 г.	17	+9,5	+10,7
Октябрь 2016 г.	25	+4,9	+3,2
Ноябрь 2016 г.	17	+2,4	-1,6
Декабрь 2016 г.	20	+2,3	+0,5

В течение года в талломе *F. vesiculosus* идентифицировано 20 САК (рис. 1, табл. 2). Основная часть пула САК представлена аспарагиновой кислотой (аспартат), глутаминовой кислотой (глутамат), аланином и пролином. Смены доминирующих аминокислот в течение года не происходило. Преобладающей в составе САК оставалась глутаминовая кислота (от 33,9 до 70,6 % суммы САК), поэтому именно она определяла характер изменения суммы САК в течение года. За ней следовали аспарагиновая кислота, аланин и пролин. Концентрации остальных САК в течение года в основном не превышали 2 %. Метионин и гидроксипролин содержались в пуле САК фукуса в наименьшем количестве (не более 0,009 мг·г⁻¹ сухой массы).

Средняя концентрация 12 САК у фукуса значительно изменялась в зависимости от календарного сезона (весна, лето, зима, осень). При этом концентрация валина, глицина, лейцина, изолейцина, серина, тирозина и фенилаланина между сезонами года существенно не отличалась, несмотря на значительные различия в содержании в каждый месяц года (табл. 2 и 3). В весенний и/или летний сезоны концентрация аспартата, гидроксипролина, гистидина, глутамата, метионина и цистина с цистеином была выше, чем в осенний и зимний периоды. У других САК наибольшие средние концентрации за сезон определены не только весной и летом, но и осенью или зимой.

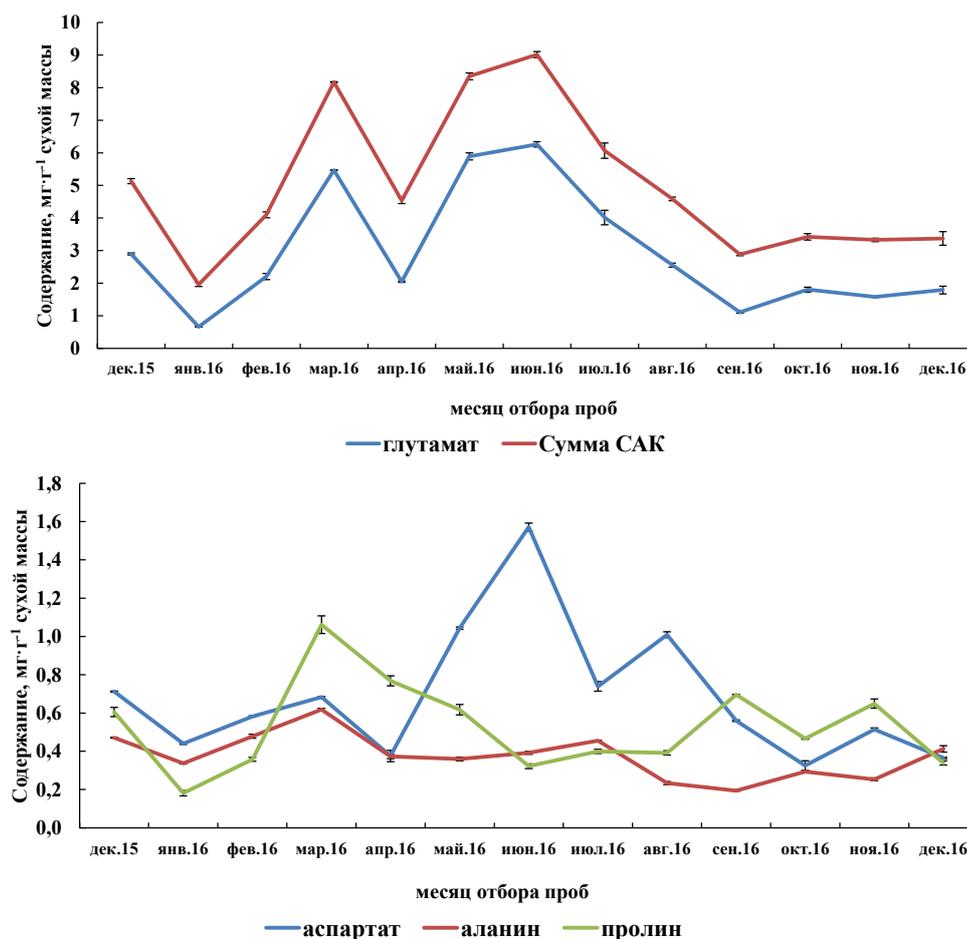


Рис. 1. Динамика концентрации доминирующих свободных аминокислот и их суммы у *Fucus vesiculosus* (среднее значение \pm стандартное отклонение; $n = 4$) в течение года

Fig. 1. Dynamics of concentration of dominant free amino acids and their sum in *Fucus vesiculosus* (mean value \pm standard deviation; $n = 4$) throughout the year

Таблица 2. Концентрация свободных аминокислот в *Fucus vesiculosus* (среднее значение \pm стандартное отклонение; $n = 4$), мг·г⁻¹ сухой массы**Table 2.** Concentration of free amino acids in *Fucus vesiculosus* (mean value \pm standard deviation; $n = 4$), mg·g⁻¹ dry weight

Аминокислота	2015 г.	2016 г.											
	Декабрь	Январь	Февраль	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь
Аргинин	0,027 \pm 0,001	0,016 \pm 0,001	0,023 \pm 0,0005	0,037 \pm 0,001	0,013 \pm 0,001	0,040 \pm 0,002	0,049 \pm 0,002	0,027 \pm 0,0003	0,043 \pm 0,004	0,066 \pm 0,001	0,030 \pm 0,001	0,041 \pm 0,002	0,034 \pm 0,002
Валин	0,042 \pm 0,0005	0,020 \pm 0,0001	0,024 \pm 0,0003	0,031 \pm 0,001	0,034 \pm 0,003	0,034 \pm 0,002	0,041 \pm 0,0004	0,030 \pm 0,002	0,026 \pm 0,001	0,022 \pm 0,001	0,032 \pm 0,002	0,024 \pm 0,001	0,025 \pm 0,002
Гидроксипролин	0,002 \pm 0,0002	0,002 \pm 0,0001	0,003 \pm 0,0002	0,005 \pm 0,001	0,007 \pm 0,0001	0,009 \pm 0,0004	0,007 \pm 0,00004	0,002 \pm 0,0001	0,005 \pm 0,0003	0,003 \pm 0,00004	0,003 \pm 0,00004	0,005 \pm 0,00005	0,004 \pm 0,0001
Гистидин	0,028 \pm 0,002	0,033 \pm 0,0004	0,052 \pm 0,002	0,062 \pm 0,001	0,020 \pm 0,001	0,064 \pm 0,002	0,077 \pm 0,001	0,041 \pm 0,002	0,058 \pm 0,002	0,045 \pm 0,002	0,011 \pm 0,001	0,052 \pm 0,002	0,048 \pm 0,006
Глицин	0,048 \pm 0,001	0,017 \pm 0,001	0,023 \pm 0,001	0,020 \pm 0,001	0,041 \pm 0,003	0,027 \pm 0,002	0,033 \pm 0,002	0,033 \pm 0,001	0,024 \pm 0,002	0,021 \pm 0,0002	0,031 \pm 0,003	0,021 \pm 0,001	0,025 \pm 0,001
Изолейцин	0,021 \pm 0,001	0,009 \pm 0,0001	0,008 \pm 0,0001	0,008 \pm 0,0003	0,013 \pm 0,0003	0,010 \pm 0,0005	0,012 \pm 0,0004	0,012 \pm 0,001	0,013 \pm 0,0001	0,009 \pm 0,0002	0,014 \pm 0,001	0,009 \pm 0,0005	0,011 \pm 0,0001
Лейцин	0,019 \pm 0,001	0,008 \pm 0,0002	0,009 \pm 0,0001	0,006 \pm 0,0003	0,022 \pm 0,001	0,008 \pm 0,0001	0,009 \pm 0,0003	0,014 \pm 0,0001	0,014 \pm 0,002	0,006 \pm 0,0003	0,020 \pm 0,001	0,008 \pm 0,0005	0,015 \pm 0,0001
Лизин	0,023 \pm 0,0003	0,015 \pm 0,0001	0,011 \pm 0,0003	0,006 \pm 0,0002	0,007 \pm 0,001	0,012 \pm 0,001	0,014 \pm 0,0003	0,010 \pm 0,001	0,020 \pm 0,001	0,005 \pm 0,00001	0,019 \pm 0,0001	0,008 \pm 0,001	0,011 \pm 0,0001
Метионин	0,002 \pm 0,0002	0,002 \pm 0,0002	0,003 \pm 0,0005	0,001 \pm 0,0002	0,004 \pm 0,00004	0,003 \pm 0,001	0,005 \pm 0,0002	0,003 \pm 0,0001	0,004 \pm 0,00003	0,002 \pm 0,000002	0,003 \pm 0,0002	0,002 \pm 0,00003	0,002 \pm 0,0001
Серин	0,081 \pm 0,0002	0,052 \pm 0,001	0,052 \pm 0,003	0,054 \pm 0,002	0,056 \pm 0,003	0,056 \pm 0,003	0,066 \pm 0,002	0,058 \pm 0,0005	0,048 \pm 0,001	0,048 \pm 0,002	0,056 \pm 0,002	0,059 \pm 0,001	0,057 \pm 0,002
Треонин	0,045 \pm 0,001	0,022 \pm 0,001	0,022 \pm 0,0002	0,021 \pm 0,002	0,049 \pm 0,001	0,025 \pm 0,002	0,039 \pm 0,0003	0,043 \pm 0,002	0,031 \pm 0,001	0,033 \pm 0,0002	0,044 \pm 0,002	0,036 \pm 0,001	0,026 \pm 0,001
Тирозин	0,024 \pm 0,001	0,015 \pm 0,0001	0,017 \pm 0,0001	0,005 \pm 0,0001	0,064 \pm 0,003	0,008 \pm 0,0003	0,009 \pm 0,001	0,022 \pm 0,001	0,017 \pm 0,001	0,007 \pm 0,0001	0,035 \pm 0,0005	0,006 \pm 0,0002	0,018 \pm 0,003
Триптофан	0,017 \pm 0,001	0,014 \pm 0,001	0,014 \pm 0,001	0,013 \pm 0,001	0,004 \pm 0,0003	0,008 \pm 0,0003	0,013 \pm 0,0001	0,009 \pm 0,0001	0,017 \pm 0,0001	0,013 \pm 0,0001	0,014 \pm 0,0001	0,012 \pm 0,0001	0,012 \pm 0,0003
Фенилаланин	0,039 \pm 0,001	0,081 \pm 0,002	0,153 \pm 0,003	0,024 \pm 0,001	0,370 \pm 0,032	0,040 \pm 0,0005	0,020 \pm 0,001	0,101 \pm 0,009	0,036 \pm 0,003	0,016 \pm 0,001	0,149 \pm 0,005	0,015 \pm 0,001	0,124 \pm 0,019
Цистин + цистеин	0,025 \pm 0,002	0,031 \pm 0,002	0,060 \pm 0,004	0,043 \pm 0,004	0,265 \pm 0,015	0,090 \pm 0,004	0,072 \pm 0,001	0,051 \pm 0,005	0,040 \pm 0,002	0,032 \pm 0,001	0,070 \pm 0,005	0,030 \pm 0,004	0,057 \pm 0,010

Таблица 3. Средняя концентрация свободных аминокислот в разные сезоны года и результаты однофакторного дисперсионного анализа влияния сезона года на содержания САК ($n = 44$)**Table 3.** Mean concentration of free amino acids in different seasons and results of ANOVA of the influence of the sampling season on the FAA content ($n = 44$)

Аминокислота	$F_{(3, 40)}$	p	Средняя концентрация, мг·г ⁻¹ сухой массы			
			Зима	Весна	Лето	Осень
Аланин	10,92	≤ 0,0001	0,425*	0,450*	0,361*	0,247
Аргинин	7,69	0,0004	0,025	0,030	0,040*	0,046*
Аспарагиновая кислота	11,40	≤ 0,0001	0,525	0,701	1,106*	0,467
Валин	2,26	0,096	0,028	0,033	0,032	0,026
Гистидин	3,40	0,027	0,040	0,049*	0,059*	0,036
Глицин	0,57	0,639	0,028	0,029	0,030	0,024
Глутаминовая кислота	16,71	≤ 0,0001	1,889	4,468*	4,278*	1,499
Изолейцин	1,24	0,309	0,012	0,010	0,012	0,011
Лейцин	0,20	0,898	0,013	0,012	0,012	0,011
Лизин	4,82	0,006	0,015*	0,008	0,015*	0,011
Метионин	9,30	≤ 0,0001	0,002	0,003	0,004*	0,002
Пролин	23,61	≤ 0,0001	0,371	0,816*	0,371	0,604*
Серин	0,73	0,538	0,060	0,055	0,057	0,054
Треонин	2,95	0,040	0,029	0,032	0,038*	0,038*
Тирозин	0,39	0,764	0,019	0,026	0,016	0,016
Триптофан	6,49	0,001	0,014*	0,008	0,013*	0,013*
Фенилаланин	1,29	0,291	0,099	0,144	0,053	0,060
Цистин + цистеин	5,93	0,002	0,043	0,133*	0,054	0,044
Гидроксипролин	15,60	≤ 0,0001	0,003	0,007*	0,005	0,004
Сумма САК	19,03	≤ 0,0001	3,640	7,015*	6,556*	3,212

Примечание: * — наибольшие значения. Отличия по средней концентрации САК за сезон определяли согласно критерию Тьюки — Крамера ($n = 44$; $DF = 40$; $\alpha = 0,05$).

Note: * denotes the highest values. Differences in the mean FAA concentration for the season were determined according to the Tukey–Kramer multiple comparisons test ($n = 44$; $DF = 40$; $\alpha = 0.05$).

Анализируя годовую динамику концентрации САК у фукуса, можно выделить зимне-весенний, весенне-летний, летне-осенний и осенне-зимний периоды. В зимне-весенний период (с января по март) происходило постепенное увеличение концентрации САК в талломах водорослей (рис. 1). Возрастало содержание всех доминирующих аминокислот: глутамата — в 8,2 раза, аспартата — в 1,6 раза, аланина — в 1,8 раза, пролина — в 5,9 раза. Концентрации аланина и пролина имели максимальные значения за весь период наблюдений.

В весенне-летний период (с апреля по июнь) у фукуса наблюдали значительные изменения концентрации САК. В апреле снизилось содержание доминирующих аминокислот (глутаминовой кислоты, аланина, аспартата, пролина), а также аргинина, гистидина и триптофана. Концентрация фенилаланина, треонина, цистина с цистеином, глицина, тирозина, лейцина, изолейцина и метионина повысилась (рис. 1, табл. 2). В мае и июне происходило накопление САК. Концентрации глутамата и аспартата в исследуемых образцах фукуса в этот период возросли и достигли наибольших значений — $(6,261 \pm 0,083)$ и $(1,571 \pm 0,021)$ мг·г⁻¹ сухой массы соответственно. Концентрации аланина и пролина снижались, к июню значения сравнялись с зимними.

Для летне-осеннего периода (с июля по сентябрь) характерно уменьшение содержания суммы и большинства отдельных САК. Так, по сравнению со значениями в начале лета, концентрация глутамата, аспартата и аланина снизилась в 2–5,6 раза, а содержание пролина, наоборот, увеличилось в 2,2 раза.

В осенне-зимний период (с октября по декабрь) концентрация САК у фукуса была низкой. Суммарное содержание САК в октябре возросло по сравнению с таковым в сентябре, а затем оставалось без изменений — в пределах от $(3,327 \pm 0,056)$ до $(3,421 \pm 0,098)$ мг·г⁻¹ сухой массы — до декабря. В январе сумма САК в талломе фукуса снизилась и достигла наименьших значений — $(1,959 \pm 0,061)$ мг·г⁻¹ сухой массы. Подобным образом изменялось в этот период и содержание глутамата, достигая минимальных значений в течение года — $(0,664 \pm 0,013)$ мг·г⁻¹ сухой массы (рис. 1). Концентрация аланина повышалась к декабрю в 2,1 раза по сравнению со значением в сентябре, а в январе снижалась в 1,2 раза. В декабре и январе происходило постепенное уменьшение содержания как аспарагиновой кислоты, так и пролина.

ОБСУЖДЕНИЕ

У *F. vesiculosus* в течение года выделяют три фазы развития: фазу покоя (осень — зима), фазу роста (весна — начало лета) и фазу накопления запасных веществ (лето) (Кузнецов и Шошина, 2003 ; Ryzhik, 2016). По характеру изменения содержания САК в средней части таллома фукуса, полученной в данной работе, можно выделить четвёртую фазу развития, разделив фазу роста на две — фазу активации роста (зима — весна) и собственно фазу роста (весна — лето). Остальные фазы по времени наступления совпадают с выделенными ранее. Фазы развития у фукуса отличаются по метаболической активности клеток (далее — МАК), интенсивности фотосинтеза, скорости роста, генеративному развитию. Эти изменения направлены на выполнение определённых процессов в разные сезоны: летом и осенью — на размножение и подготовку к зимнему периоду; весной — на рост таллома; зимой — на покой и адаптацию к неблагоприятным условиям среды.

Фаза покоя у *F. vesiculosus* приходится на осенне-зимний период. В это время для фукуса характерны минимальная скорость роста (сентябрь — февраль), формирование, закладка и медленное развитие репродуктивных структур (октябрь — февраль) (Кузнецов и Шошина, 2003 ; Makarov et al., 1995). Осенью МАК постепенно уменьшается, зимой является минимальной, но уже в конце января и начале февраля физиологические процессы активизируются, а интенсивность фотосинтеза повышается (Кузнецов и Шошина, 2003 ; Рыжик, 2007 ; Ryzhik, 2016). Что касается изменения содержания САК с сентября по январь, то для него характерны низкие концентрации глутаминовой кислоты, аспартата и аланина, что связано с низкой интенсивностью метаболизма и фотосинтеза, а также с отсутствием необходимости в САК как структурных элементах. По изменению САК этот период также можно охарактеризовать как фазу покоя.

С января концентрация глутамата, аланина, аспартата и пролина возрастает. В это же время выявлено повышение интенсивности МАК и фотосинтеза у фукуса (Кузнецов и Шошина, 2003 ; Ryzhik, 2016). Увеличение концентрации САК в талломе связано, возможно, с подготовкой к периоду интенсивного роста, ведь они являются необходимым компонентом для построения белков. Запас САК на начало периода роста, вероятно, будет способствовать более интенсивному росту площади таллома водорослей в период низких температур среды. Характер изменения САК с января по март совпадает с подготовкой водорослей к периоду роста и с переходом от фазы покоя к росту. Этот период можно обозначить как **фазу активации роста**.

Фаза роста у *F. vesiculosus* длится с марта по июнь и характеризуется максимальной скоростью роста таллома водоросли, интенсивным развитием рецептакул и максимальными значениями интенсивности фотосинтеза (апрель — май) (Кузнецов и Шошина, 2003 ; Makarov et al., 1995). В этот период происходит существенное увеличение МАК, что свидетельствует об активных ростовых процессах (Ryzhik, 2016). Рост растений связан со значительной потребностью в азоте, который входит в состав аминокислот, а впоследствии и белков, необходимых для построения новых клеток. У фукуса меристематическая ткань располагается в апикальных участках таллома.

Для видов рода *Fucus* показано, что фотоассимиляты, в том числе САК, транспортируются в апикальные участки таллома из средней его части (Diouris, 1989 ; Diouris & Floch, 1984). Скорость оттока фотоассимилятов в зону роста у бурых водорослей зависит от интенсивности роста таллома (Lüning et al., 1973). Выявлено, что период начала интенсивного роста и, как следствие, отток САК из средней части таллома в апикальные участки зависят от температуры среды и могут сдвигаться ближе к лету у водорослей, произрастающих при более низких температурах (Klindukh & Obluchinskaya, 2018). Резкое снижение содержания САК в апреле связано, вероятно, с началом периода интенсивного роста и оттоком накопленных САК из средней части таллома в апикальные участки. Основное участие в перераспределении и транспорте азота по таллому у фукуса, скорее всего, будут принимать глутаминовая и аспарагиновая кислоты, а также пролин и аланин. Известно, что у бурых водорослей в качестве транспортной формы азота по таллому выступают глутамат, аспартат, аланин, серин и глицин (Diouris, 1989 ; Schmitz et al., 1972 ; Schmitz & Srivastava, 1979). В мае и июне содержание глутамата и аспартата значительно возросло после апрельского снижения, несмотря на продолжающийся рост талломов водорослей. Это может свидетельствовать о постепенном снижении скорости роста и уменьшении потребности в аминокислотах, а также может рассматриваться как адаптация к периоду дефицита азота в окружающей среде, который приходится на лето.

Несмотря на то, что водоросли южного колена Кольского залива не испытывают недостатка в азоте в течение года, в конце весны и летом конкуренция за азот сильно возрастает, что приводит к снижению его концентрации в воде (Кольский залив, 1997). Основная часть азота в талломе *F. vesiculosus* Баренцева моря представлена органическими соединениями белковой природы (Барашков и др., 1966). Показано, что водоросли способны накапливать САК при высоких концентрациях неорганических форм азота в воде и использовать их в качестве запасных форм азота в период низких концентраций биогена (Angell et al., 2014 ; Naldi & Wheeler, 1999 ; Park et al., 2013). Это обеспечивает высокие скорости роста и возможность формирования большего количества репродуктивных клеток (спор, гамет).

Фаза накопления запасных веществ у *F. vesiculosus* начинается в июле и продолжается до сентября. У фукуса в этот период завершается вегетационное развитие, происходят выход репродуктивных клеток и перестройка метаболизма и ростовых процессов на подготовку к зиме (Кузнецов и Шошина, 2003 ; Ryzhik, 2016). В августе в динамике МАК отмечен второй пик (Ryzhik, 2016), увеличивается содержание сухого вещества, альгинатов и фукоидана (Obluchinskaya et al., 2002). Содержание САК у фукуса в фазу накопления запасных веществ уменьшается. Среди доминантных аминокислот снижение происходит у глутамата, аспартата и аланина. Концентрация пролина, наоборот, немного повышается. САК в этот период, вероятно, могут расходоваться на процессы роста и созревания репродуктивных клеток. Возможно, что в рассматриваемую фазу развития у фукуса происходит замедление синтеза САК и образования белка, что может быть связано с необходимостью накопления запасных веществ и направленностью метаболизма на синтез углеводов, а не азотсодержащих веществ. Снижение содержания САК также обусловлено использованием в этот период внутренних резервов аминокислот, поскольку в среде концентрация неорганических форм азота снижается (Кольский залив, 1997). Небольшое повышение пролина в фазу накопления запасных веществ может быть связано с перепадами температур и периодическим опреснением за счёт выпадения осадков во время отливов. Известно, что пролин участвует в процессах осморегуляции и способствует повышению устойчивости растений к низким температурам (Munns, 2005 ; Naidu et al., 1991 ; Trovato et al., 2008). В эксперименте с зелёной водорослью *Ulva pertusa* Kjellman, 1897 показано, что значительные температурные колебания стимулируют повышение содержания свободного пролина и замедляют рост растения (Wang Q. et al., 2007).

Сезонная динамика содержания САК у *F. vesiculosus* схожа с таковой у фукусовых водорослей Белого моря, у дальневосточной *Laminaria japonica* Areschoug, 1851, красной водоросли *Gracilaria vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss, 1967 с побережья Франции, антарктической бурой водоросли *Ascoseira mirabilis* Skottsberg, 1907 и зелёной водоросли *Prasiola crispa* (Lightfoot) Kützing, 1843 (Крупнова, 2002 ; Репина, 2005 ; Gomez & Wiencke, 1998 ; Jackson & Seppelt, 1995 ; Surget et al., 2017). Для перечисленных водорослей также характерно преобладание в пуле САК глутамата, аспартата, аланина, пролина, треонина, глицина и таурина. У шотландской *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber & D. Mohr, 1805, водорослей с южного побережья Средиземного моря и бурой водоросли *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell, 1931 из Японского моря наблюдалась обратная тенденция накопления САК — высокое содержание в осенне-зимний период и низкое в весенне-летний (Khaleafa et al., 1982 ; Mohsen et al., 1975 ; Morgan et al., 1980 ; Nagahisa et al., 1994). Сезонные различия в накоплении и снижении САК связаны как с внешними факторами среды, так и с направленностью метаболических процессов в разные фазы развития водорослей. Аккумуляция САК в осенне-зимний сезон может быть обусловлена прохождением вегетативного или генеративного цикла развития водорослей в этот период, а также участием аминокислот в защите клеточных структур при воздействии отрицательных температур (Jackson & Seppelt, 1995 ; Morgan et al., 1980 ; Nagahisa et al., 1994).

Наступление фаз развития в значительной степени определяется внешними факторами. Низкая температура воды и воздуха, а также облачность, снижающая интенсивность света, задерживают наступление вегетационного периода весной. А задержка начала интенсивной вегетации из-за низких температур воды приводит к смещению сроков выхода репродуктивных клеток летом (Кузнецов и Шошина, 2003).

На изменения в содержании САК в талломе фукуса оказывали влияние не только общая направленность метаболических процессов в определённую фазу развития, но и условия среды. Однофакторный дисперсионный анализ показал наличие влияния солёности морской воды, температур воздуха и воды на содержание САК в талломе фукуса. Коэффициенты корреляции имеют положительную линейную зависимость между температурами воды и воздуха и содержанием аргинина, аспартата, глутамата и метионина, а также отрицательную линейную зависимость между солёностью морской воды и содержанием аргинина, аспартата, гистидина, глутамата и гидроксипролина. Суммарное содержание САК также находится в линейной зависимости от температуры воздуха и солёности воды (табл. 4).

Таблица 4. Значения коэффициента корреляции Пирсона между концентрацией свободных аминокислот и внешними условиями среды ($n = 44$; $p \leq 0,05$)

Table 4. Values of the Pearson correlation coefficient between the concentration of free amino acids and external environmental conditions ($n = 44$; $p \leq 0.05$)

Аминокислота	Температура воды, °С	Температура воздуха, °С	Солёность воды, ‰
Аргинин	0,60	0,62	-0,52
Аспарагиновая кислота	0,66	0,58	-0,71
Гистидин	0,33	0,39	-0,55
Глутаминовая кислота	0,41	0,56	-0,73
Метионин	0,56	0,49	-0,41
Гидроксипролин	0,26	0,46	-0,71
Сумма САК	0,40	0,57	-0,74

Примечание: жирным шрифтом выделены значения, указывающие на среднюю и высокую корреляцию между переменными.

Note: values in bold indicate medium to high correlation between variables.

Для большинства водорослей, произрастающих в Баренцевом море, оптимальной для роста является температура +10...+15 °С (Воскобойников и др., 2015). У фукуса содержание большинства САК и их суммы в основном выше при температурах, благоприятных для роста (табл. 2 и 4, рис. 1). Исключение составляет март, когда при низких температурах содержание САК является высоким. Это связано, вероятно, с накоплением САК в средней части таллома до начала роста и использованием их в качестве структурных веществ в период интенсивного роста. Повышение содержания САК в определённом диапазоне температур свидетельствует о большей интенсивности процессов синтеза данных соединений по сравнению со скоростями их катаболизма. Для разных видов водорослей эти диапазоны отличаются. Так, у зелёной водоросли *Ulva fasciata* Delile, 1813 выявлено наибольшее содержание САК при оптимальной для роста температуре +25 °С (Mohsen et al., 1973). У *U. pertusa* повышение температуры воды, оптимальной для роста, на 10 °С приводило к увеличению содержания САК в 2,2 раза (Kakinuma et al., 2006). У антарктической зелёной водоросли *P. crispa* и североатлантической красной водоросли *Mastocarpus stellatus* (Stackhouse) Guiry, 1984 повышается содержание свободного пролина в холодные периоды года (Harris & Logan, 2018 ; Jackson & Seppelt, 1995). У этих видов количество свободного пролина значительно увеличивалось при понижении температуры среды ниже точки замерзания цитоплазмы в клетках: для *P. crispa* и *M. stellatus* свободный пролин выполняет роль криопротектора и повышает устойчивость к замерзанию. У фукуса при существенном понижении температуры среды произрастания в январе 2016 г. снижалось содержание САК, в том числе свободного пролина (табл. 1, рис. 1). Таким образом, САК напрямую не принимают участия в защите водоросли от воздействия отрицательных температур, но вполне могут быть предшественниками в синтезе криопротекторов в холодный период года.

Наибольшие концентрации пролина и аланина отмечены в марте. Это связано, вероятно, с тем, что данные аминокислоты не только аккумулируются в качестве структурных компонентов для построения белков, но и могут участвовать в защитных реакциях водорослей в ответ на неблагоприятные внешние факторы. Осенью и весной повышение концентрации пролина и аланина может быть обусловлено колебаниями температуры среды и уровня освещения. Низкие температуры при наличии света высокой интенсивности могут способствовать увеличению содержания активных форм кислорода. Пролин и аланин могут выступать в роли антиоксидантов. Известно, что свободный пролин в клетках растений участвует в инактивации активных форм кислорода, образующихся при различных стрессовых воздействиях (Kaul et al., 2008 ; Matsyik et al., 2002 ; Saradhi et al., 1995).

Наличие отрицательной корреляционной связи между концентрациями глутамата, аспартата, аргинина, гистидина, гидроксипролина и солёностью воды свидетельствует о том, что данный фактор оказывает положительное влияние на аккумуляцию этих аминокислот при распреснении. Отсутствие линейной зависимости между концентрациями остальных САК и солёностью воды показывает, что этот фактор не является определяющим для их содержания, его воздействие проявляется лишь как часть комплекса факторов внешней среды. Согласно результатам ранее проведённых работ по исследованию *F. vesiculosus* из природных популяций, содержание свободного пролина, а также других САК зависит от солёности воды в местах произрастания вида. Концентрация свободного пролина увеличивалась в талломах водорослей из распреснённых мест (Klindukh et al., 2011). Понижение солёности воды в весенний период оказывало разное влияние на содержание САК в различных участках таллома (Klindukh & Obluchinskaya, 2018).

Изменение содержания САК в водорослях в ответ на снижение солёности воды во многом зависит от видовых особенностей объекта, а также от продолжительности влияния. Так, у *U. pertusa* и *Pyropia haitanensis* (T. J. Chang & B. F. Zheng) N. Kikuchi & M. Miyata, 2011

воздействие распреснённой морской воды приводило к снижению содержания свободного пролина, а у *Gracilaria corticata* (J. Agardh) J. Agardh, 1852, наоборот, обуславливало увеличение в 2 раза (Kakinuma et al., 2006 ; Kumar et al., 2010 ; Wang W. et al., 2020). Содержание других свободных аминокислот в морских водорослях также изменяется при опреснении. Воздействие воды солёностью 4 ‰ привело к снижению содержания доминирующих САК у *Ectocarpus siliculosus* (Dillwyn) Lyngbye, 1819, но при этом концентрация ароматических аминокислот и аминокислот с разветвлённой боковой цепью увеличилась (Dittami et al., 2011). У *Cladophora vagabunda* (Linnaeus) Hoek, 1963 опреснение среды обитания вызвало повышение содержания глутамата и лизина и снижение концентрации аспартата, треонина, валина, аргинина, глицина и гистидина (Rani, 2007).

F. vesiculosus встречается на побережье Баренцева моря как в местах с океанической солёностью, так и в губах и бухтах с постоянной пониженной солёностью (Малавенда и Воскобойников, 2008). Наиболее благоприятной для произрастания считается вода с солёностью 25,5–34 ‰ и 17 ‰ для водорослей из морских и солоноватоводных популяций соответственно (Воскобойников и др., 2015). Фукус, произрастающий на литорали в районе Абрам-мыса, постоянно подвергается воздействию воды пониженной солёности. Для этих водорослей вода солёностью 15–20 ‰ является благоприятной для произрастания и не оказывает стрессового воздействия на метаболизм.

В период, когда отмечены минимальные значения солёности воды, в талломах фукуса содержание большинства САК и их суммы было наибольшим в течение года. Накопление САК в конце весны и начале лета связано с запасанием азота, необходимого для роста и размножения в летний сезон, когда содержание данного биогенного элемента в среде уменьшается. Сильное опреснение воды, вероятно, может способствовать повышению содержания САК в этот период, снижая интенсивность синтеза белка и, как следствие, влияя на интенсивность роста водоросли, а также способствуя повышению биосинтеза аминокислот. Известно, что пониженная солёность замедляет скорости роста длины и массы таллома фукуса и приводит к увеличению количества отдельных обших аминокислот в составе водоросли (Munda & Garrasi, 1978 ; Nygard & Dring, 2008).

Заключение. Качественный состав свободных аминокислот у *F. vesiculosus* показал стабильность в течение года. Глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аланин и пролин доминировали в пуле САК. Изменения концентрации САК имеют чётко выраженную годовую динамику, которая совпадает с основными фазами развития водоросли. Высокие концентрации характерны для большинства САК в весенне-летний период, а более низкие — в осенне-зимний. Динамика САК в разные фазы развития фукуса связана с происходящими в водорослях процессами, такими как рост, метаболическая активность клеток, фотосинтез, генеративное развитие. Для каждой из фаз развития характерна своя динамика содержания САК. На основе анализа содержания САК, а также литературных данных по динамике других физиологических показателей (скорость роста, метаболическая активность клеток) выделены следующие фазы развития фукуса: покой, активация роста, рост, накопление запасных веществ. Анализ влияния факторов среды на содержание САК позволил предположить участие САК в формировании адаптации водорослей к изменению солёности и температуры среды. Возможно, у бурой водоросли в качестве одной из резервных органических форм азота выступают глутаминовая и аспарагиновая кислоты, которые накапливаются в средней части таллома в мае — июне. Вероятно, как транспортные формы органического азота по таллому у фукуса могут выступать глутамат, аспарат, аланин и пролин.

Работа выполнена в рамках государственного задания Мурманского морского биологического института (ММБИ РАН).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Барашков Г. К., Вахрашина А. В., Петров Ю. Е. Сезонные изменения химического состава у фукусовых водорослей Баренцева моря Кольского полуострова // *Растительные ресурсы*. 1966. Т. 2, вып. 2. С. 191–200. [Barashkov G. K., Vakhrashina A. V., Petrov Yu. E. Sezonnnye izmeneniya khimicheskogo sostava u fukusovykh vodoroslei Barentseva morya Kol'skogo poluostrova. *Rastitel'nye resursy*, 1966, vol. 2, iss. 2, pp. 191–200. (in Russ.)]
2. Воскобойников Г. М., Макаров М. В., Малавенда С. В., Рыжик И. В. Адаптация и регуляция роста у макрофитов Баренцева моря // *Вестник Кольского научного центра РАН. Естественные и технические науки*. 2015. № 2 (21). С. 40–48. [Voskoboinikov G. M., Makarov M. V., Malavenda S. V., Ryzhik I. V. Adaptation and regulation of growth of macrophytes in the Barents Sea. *Vestnik Kol'skogo nauchnogo tsentra RAN. Estestvennyye i tekhnicheskie nauki*, 2015, no. 2 (21), pp. 40–48. (in Russ.)]
3. ГОСТ 26185-84. *Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа*. Москва : Изд-во стандартов, 2004. 34 с. [GOST 26185-84. *Vodorosli morskije, travy morskije i produkty ikh pererabotki. Metody analiza*. Moscow : Izd-vo standartov, 2004, 34 p. (in Russ.)]
4. *Кольский залив: океанография, биология, экосистемы, загрязнители* / отв. ред. Г. Г. Матишов ; Мурман. мор. биол. ин-т КНЦ РАН. Апатиты : КНЦ РАН, 1997. 265 с. [*The Kola Bay: Oceanography, Biology, Ecosystems, Pollutants* / G. G. Matishov (Ed.) ; Murmansk Mar. Biol. Inst. KSC RAS. Apatity : KNTs RAN, 1997, 265 p. (in Russ.)]
5. *Кольский залив: освоение и рациональное природопользование* / отв. ред. Г. Г. Матишов ; Мурман. мор. биол. ин-т КНЦ РАН. Москва : Наука, 2009. 381 с. [*Kola Bay: Development and Rational Nature Management* / G. G. Matishov (Ed.) ; Murmansk Mar. Biol. Inst. KSC RAS. Moscow : Nauka, 2009, 381 p. (in Russ.)]
6. Крупнова Т. Н. Особенности развития спороносной ткани у ламинарии японской под воздействием изменяющихся условий среды // *Известия ТИНРО*. 2002. Т. 130, № 2. С. 474–482. [Krupnova T. N. Osobennosti razvitiya sporonosnoi tkani u laminarii yaponskoi pod vozdeistviem izmenyayushchikhsya uslovii sredy. *Izvestiya TINRO*, 2002, vol. 130, no. 2, pp. 474–482. (in Russ.)]
7. Кузнецов Л. Л., Шошина Е. В. *Фитоценозы Баренцева моря (физиологические и структурные характеристики)*. Апатиты : КНЦ РАН, 2003. 308 с. [Kuznetsov L. L., Schoschina E. V. *Phytocenoses of the Barents Sea (Physiological and Structural Characteristics)*. Apatity : KNTs RAN, 2003, 308 p. (in Russ.)]
8. Малавенда С. В., Воскобойников Г. М. Влияние абиотических факторов на структуру популяции бурой водоросли *Fucus vesiculosus* Восточного Мурман (Баренцево море) // *Биология моря*. 2008. Т. 34, № 1. С. 30–34. [Malavenda S. V., Voskoboinikov G. M. Influence of abiotic factors on the structure of brown alga *Fucus vesiculosus* population in East Murman (Barents Sea). *Biologiya morya*, 2008, vol. 34, no. 1, pp. 30–34. (in Russ.)]
9. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике* / отв. ред. А. В. Топачевский. Киев : Наукова думка, 1975. 248 с. [*Metody fiziologo-biokhimicheskogo issledovaniya vodoroslei v gidrobiologicheskoi praktike* / A. V. Topachevsky (Ed.). Kyiv : Naukova dumka, 1975, 248 p. (in Russ.)]
10. Репина О. И. Фукоиды Белого моря: химический состав и перспективы использования // *Морские прибрежные экосистемы: водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки* : материалы II науч.-практ. конф., Архангельск, 4–7 окт. 2005 г. Москва : ВНИРО, 2005. С. 216–219. [Repina O. I. Fukoidy Belogo morya: khimicheskii sostav i perspektivy ispol'zovaniya. In: *Morskije pribrezhnye ekosistemy: Vodorosli, bespozvonochnye i produkty ikh pererabotki* : materialy II nauch.-prakt. konf., Arkhangelsk, 4–7 Okt., 2005. Moscow : VNIRO, 2005, pp. 216–219. (in Russ.)]
11. Руденко А. О., Карцова Л. А., Снарский С. И. Определение важнейших аминокислот в сложных объектах биологического происхождения методом обращённо-фазовой ВЭЖХ с получением фенилтиогидантоинов аминокислот // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2010. Т. 10, вып. 2. С. 223–230. [Rudenko A. O., Kartsova L. A., Snarskiy S. I. Opredelenie vazhneishikh aminokislot v slozhnykh

- ob"ektakh biologicheskogo proiskhozhdeniya metodom obrashchenno-fazovoi VEZhKh s polucheniem feniltiogidantoinov aminokislot. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2010, vol. 10, iss. 2, pp. 223–230. (in Russ.)]
12. Рыжик И. В. Фотосинтетическая активность *Fucus vesiculosus* L. и *Fucus distichus* L. Баренцева моря после полярной ночи // *Материалы XXV конференции молодых учёных ММБИ*. Апатиты : КНЦ РАН, 2007. С. 177–182. [Ryzhik I. V. Fotosinteticheskaya aktivnost' *Fucus vesiculosus* L. i *Fucus distichus* L. Barentseva morya posle polyarnoi nochi. In: *Materialy XXV konferentsii molodykh uchenykh MMBI*. Apatity : KNTs RAN, 2007, pp. 177–182. (in Russ.)]
 13. Angell A. R., Mata L., de Nys R., Paul N. A. Variation in amino acid content and its relationship to nitrogen content and growth rate in *Ulva ohnoi* (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, 2014, vol. 50, iss. 1, pp. 216–226. <https://doi.org/10.1111/jpy.12154>
 14. Diouris M. Long-distance transport of ¹⁴C-labelled assimilates in the Fucales: Nature of translocated substances in *Fucus serratus*. *Phycologia*, 1989, vol. 28, iss. 4, pp. 504–511. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-28-4-504.1>
 15. Diouris M., Floc'h J. Y. Long-distance transport of C-labelled assimilates in the Fucales: Directionality, pathway and velocity. *Marine Biology*, 1984, vol. 78, pp. 199–204. <https://doi.org/10.1007/BF00394701>
 16. Dittami S. M., Gravot A., Renault D., Goulitquer S., Eggert A., Bouchereau A., Boyen C., Tonon T. Integrative analysis of metabolite and transcript abundance during the short-term response to saline and oxidative stress in the brown alga *Ectocarpus siliculosus*. *Plant, Cell and Environment*, 2011, vol. 34, iss. 4, pp. 629–642. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02268.x>
 17. Galili G., Höfgen R. Metabolic engineering of amino acids and storage proteins in plants. *Metabolic Engineering*, 2002, vol. 4, iss. 1, pp. 3–11. <https://doi.org/10.1006/mben.2001.0203>
 18. Gomez I., Wiencke C. Seasonal changes in C, N and major organic compounds and their significance to morpho-functional processes in the endemic Antarctic brown alga *Ascoseira mirabilis*. *Polar Biology*, 1998, vol. 19, pp. 115–124. <https://doi.org/10.1007/s003000050222>
 19. Harris J. P., Logan B. A. Seasonal acclimatization of thallus proline contents of *Mastocarpus stellatus* and *Chondrus crispus*: Intertidal rhodophytes that differ in freezing tolerance. *Journal of Phycology*, 2018, vol. 54, iss. 3, pp. 419–422. <https://doi.org/10.1111/jpy.12624>
 20. Hildebrandt T. M., Nunes Nesi A., Araujo W. L., Braun H.-P. Amino acid catabolism in plants. *Molecular Plant*, 2015, vol. 8, iss. 11, pp. 1563–1579. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.09.005>
 21. Jackson A. E., Seppelt R. D. The accumulation of proline in *Prasiola crispa* during winter in Antarctica. *Physiologia Plantarum*, 1995, vol. 94, iss. 1, pp. 25–30. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb00779.x>
 22. Kakinuma M., Coury D. A., Kuno Y., Itoh S., Kozawa Y., Inagaki E., Yoshiura Y., Amano H. Physiological and biochemical responses to thermal and salinity stresses in a sterile mutant of *Ulva pertusa* (Ulvales, Chlorophyta). *Marine Biology*, 2006, vol. 149, pp. 97–106. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0215-y>
 23. Kaul S., Sharma S. S., Mehta I. K. Free radical scavenging potential of L-proline: Evidence from *in vitro* assays. *Amino Acids*, 2008, vol. 34, iss. 2, pp. 315–320. <https://doi.org/10.1007/s00726-006-0407-x>
 24. Khaleafa A. F., Mohsen A. F., Shaalan S. H. Seasonal variations in the growth and amino acid pattern of *Caulerpa prolifera* (Forsk.) Lamouroux. *Hydrobiological Bulletin*, 1982, vol. 16, iss. 2–3, pp. 201–206. <https://doi.org/10.1007/BF02255373>
 25. Klindukh M. P., Obluchinskaya E. D., Matishov G. G. Seasonal changes in the mannitol and proline contents of the brown alga *Fucus vesiculosus* L. on the Murman coast of the Barents Sea. *Doklady Biological Sciences*, 2011, vol. 441, pp. 373–376. <https://doi.org/10.1134/s0012496611060032>
 26. Klindukh M. P., Obluchinskaya E. D. A comparative study of free amino acids of the brown alga *Fucus vesiculosus* Linnaeus, 1753 from the intertidal zone of the Murman shore, Barents Sea. *Russian Journal of Marine Biology*, 2018, vol. 44, iss. 3, pp. 232–239. <https://doi.org/10.1134/S1063074018030069>

27. Kumar M., Kumari P., Gupta V., Reddy C. R. K., Jha B. Biochemical responses of red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta) to salinity induced oxidative stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2010, vol. 391, iss. 1–2, pp. 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.06.001>
28. Lam H. M., Hsieh M. H., Coruzzi G. Reciprocal regulation of distinct asparagine synthetase genes by light and metabolites in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*, 1998, vol. 16, iss. 3, pp. 345–353. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1998.00302.x>
29. Lüning K., Schmitz K., Willenbrink J. CO₂ fixation and translocation in benthic marine algae. III. Rates and ecological significance of translocation in *Laminaria hyperborea* and *L. saccharina*. *Marine Biology*, 1973, vol. 23, iss. 4, pp. 275–281. <https://doi.org/10.1007/BF00389334>
30. Maehre H. K., Malde M. K., Eilertsen K. E., Elvevoll E. O. Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, vol. 94, iss. 15, pp. 3281–3290. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6681>
31. Makarov V. N., Schoschina E. V., Lüning K. Diurnal and circadian periodicity of mitosis and growth in marine macroalgae. I. Juvenile sporophytes of Laminariales (Phaeophyta). *European Journal of Phycology*, 1995, vol. 30, iss. 4, pp. 261–270. <https://doi.org/10.1080/09670269500651031>
32. Makarov M. V., Ryzhik I. V., Voskoboinikov G. M., Matishov G. G. The effect of *Fucus vesiculosus* L. location in the depth on its morphophysiological parameters in the Barents Sea. *Doklady Biological Sciences*, 2010, vol. 430, iss. 1, pp. 39–41. <https://doi.org/10.1134/S0012496610010138>
33. Matysik J., Alia, Bhalu B., Mohanty P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science*, 2002, vol. 82, no. 5, pp. 525–532.
34. Mohsen A. F., Nasr A. H., Metwalli A. M. Effect of different light intensities on growth, reproduction, amino acid synthesis, fat and sugar contents in *Ulva fasciata* Delile. *Hydrobiologia*, 1973, vol. 43, iss. 1–2, pp. 125–135. <https://doi.org/10.1007/BF00014261>
35. Mohsen A. F., Kharboush A. M., Khaleafa A. F., Metwalli A., Azab Y. Amino acid pattern and seasonal variation in some marine algae from Alexandria. *Botanica Marina*, 1975, vol. 18, iss. 3, pp. 167–178. <https://doi.org/10.1515/botm.1975.18.3.167>
36. Morgan K. C., Wright J. L. C., Simpson F. J. Review of chemical constituents of the red alga *Palmaria palmata* (dulce). *Economic Botany*, 1980, vol. 34, iss. 1, pp. 27–50. <https://doi.org/10.1007/BF02859553>
37. Mouritsen O. G., Duelund L., Petersen M. A., Hartmann A. L., Frøst M. B. Umami taste, free amino acid composition, and volatile compounds of brown seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 2019, vol. 31, iss. 2, pp. 1213–1232. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1632-x>
38. Munda I. M., Garrasi C. Salinity-induced changes of nitrogenous constituents in *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae). *Aquatic Botany*, 1978, vol. 4, pp. 347–351. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(78\)90031-1](https://doi.org/10.1016/0304-3770(78)90031-1)
39. Munns R. Genes and salt tolerance: Bringing them together. *New Phytologist*, 2005, vol. 167, iss. 3, pp. 645–663. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x>
40. Naidu B. P., Paleg L. G., Aspinall D., Jennings A. C., Jones G. P. Amino acid and glycine betaine accumulation in cold-stressed wheat seedlings. *Phytochemistry*, 1991, vol. 30, iss. 2, pp. 407–409. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83693-F](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83693-F)
41. Nagahisa E., Kanno N., Sato M., Sato Y. Variations in D-aspartate content with season and part of *Hizikia fusiformis*. *Fisheries Science*, 1994, vol. 60, iss. 6, pp. 777–779. <https://doi.org/10.2331/fishsci.60.777>
42. Naldi M., Wheeler P. A. Changes in nitrogen pools in *Ulva fenestrata* (Chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta) under nitrate and ammonium enrichment. *Journal of Phycology*, 1999, vol. 35, iss. 1, pp. 70–77. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3510070.x>
43. Nygard C. A., Dring M. J. Influence of salinity, temperature, dissolved inorganic carbon and nutrient concentration on the photosynthesis and growth of *Fucus vesiculosus* from the Baltic and Irish seas. *European Journal of Phycology*, 2008, vol. 43, iss. 3, pp. 253–262. <https://doi.org/10.1080/09670260802172627>

44. Obluchinskaya E. D., Voskoboinikov G. M., Galynkin V. A. Contents of alginic acid and fucoidan in *Fucus* algae of the Barents Sea. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2002, vol. 38, pp. 186–188. <https://doi.org/10.1023/A:1014374903448>
45. Oliveira I. C., Coruzzi G. Carbon and amino acids reciprocally modulate the expression of glutamine synthetase in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 1999, vol. 221, iss. 1, pp. 301–309. <https://doi.org/10.1104/pp.121.1.301>
46. Park C. S., Park K. Y., Hwang E. K., Kakinuma M. Effects of deep seawater medium on growth and amino acid profile of a sterile *Ulva pertusa* Kjellman (Ulveae, Chlorophyta). *Journal of Applied Phycology*, 2013, vol. 25, iss. 3, pp. 781–786. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9985-7>
47. Parthasarathy A., Cross P. J., Dobson R. C., Adams L. E., Savka M. A., Hudson A. O. A three-ring circus: Metabolism of the three proteogenic aromatic amino acids and their role in the health of plants and animals. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2018, vol. 5, art. no. 29 (30 p.). <https://doi.org/10.3389/fmolb.2018.00029>
48. Peinado I., Giron J., Koutsidis G., Ames J. M. Chemical composition, antioxidant activity and sensory evaluation of five different species of brown edible seaweeds. *Food Research International*, 2014, vol. 66, pp. 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.035>
49. Rani G. Changes in protein profile and amino acids in *Cladophora vagabunda* (Chlorophyceae) in response to salinity stress. *Journal of Applied Phycology*, 2007, vol. 19, pp. 803–807. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9211-6>
50. Rhodes D., Hanson A. D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1993, vol. 44, pp. 357–384. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.44.060193.002041>
51. Ryzhik I. V. Seasonal variations in the metabolic activity of cells of *Fucus vesiculosus* Linnaeus, 1753 (Phaeophyta: Fucales) from the Barents Sea. *Russian Journal of Marine Biology*, 2016, vol. 42, pp. 433–436. <https://doi.org/10.1134/S1063074016050102>
52. Ryzhik I. V., Kosobryukhov A. A., Markovskaya E. F., Makarov M. V. Photosynthetic capacity of *Fucus vesiculosus* Linnaeus, 1753 (Phaeophyta: Fucales) in the Barents Sea during the tidal cycle. *Biology Bulletin*, 2021, vol. 48, pp. 48–56. <https://doi.org/10.1134/S1062359020060114>
53. Saradhi P. P., AliaArora S., Prasad K. V. S. K. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV-induced peroxidation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1995, vol. 209, iss. 1, pp. 1–5. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1461>
54. Schmitz K., Lüning K., Willenbrink J. CO₂-Fixierung und Stofftransport in benthischen marinen Algen. II. Zum Ferntransport ¹⁴C-markierter assimilate bei *Laminaria hyperborea* und *Laminaria saccharina*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 1972, vol. 67, iss. 5, pp. 418–429. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(72\)80042-4](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(72)80042-4)
55. Schmitz K., Srivastava L. M. Long distance transport in *Macrocystis integrifolia*. I. Translocation of ¹⁴C-labelled assimilates. *Plant Physiology*, 1979, vol. 63, iss. 6, pp. 995–1022. <https://doi.org/10.1104/pp.63.6.995>
56. Stewart G. R., Larher F. Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In: *The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise*. Vol. 5. *Amino Acids and Derivatives* / B. J. Mifflin (Ed.). New York ; London : Academic Press, 1980, pp. 609–635. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-675405-6.50023-1>
57. Surget G., Le Lann K., Delebecq G., Kervarec N., Donval A., Poullaouec M.-A., Bihanic I., Poupart N., Stiger-Pouvreau V. Seasonal phenology and metabolomics of the introduced red macroalga *Gracilaria vermiculophylla*, monitored in the Bay of Brest (France). *Journal of Applied Phycology*, 2017, vol. 29, pp. 2651–2666. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1060-3>
58. Tropin I. V., Radzinskaya N. V., Voskoboinikov G. M. The influence of salinity on the rate of dark respiration and structure of the cells of brown algae thalli from the Barents Sea littoral. *Biology Bulletin*, 2003, vol. 30, no. 1, pp. 40–47. <https://doi.org/10.1023/A:1022063426675>
59. Trovato M., Mattioli R., Costantino P. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. *Rendiconti Lincei*, 2008, vol. 19, pp. 325–346. <https://doi.org/10.1007/s12210-008-0022-8>

60. Wang Q., Dong S., Tian X., Wang F. Effects of circadian rhythms of fluctuating temperature on growth and biochemical composition of *Ulva pertusa*. *Hydrobiologia*, 2007, vol. 586, pp. 313–319. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0700-z>
61. Wang W., Chen T., Xu Y., Xu K., Ji D., Chen C., Xie C. Investigating the mechanisms underlying the hyposaline tolerance of intertidal seaweed, *Pyropia haitanensis*. *Algal Research*, 2020, vol. 47, art. no. 101886 (12 p.). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101886>
62. Zrenner R., Stitt M., Sonnewald U., Boldt R. Pyrimidine and purine biosynthesis and degradation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, vol. 57, pp. 805–836. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105421>

**DYNAMICS OF FREE AMINO ACIDS
IN THE BROWN ALGA *FUCUS VESICULOSUS* LINNAEUS, 1753
FROM THE BARENTS SEA THROUGHOUT THE YEAR**

M. P. Klindukh

Murmansk Marine Biological Institute of the Russian Academy of Sciences, Murmansk, Russian Federation
E-mail: klindukh.maria@yandex.ru

Free amino acids (FAA) are a significant biochemical component of any cell. Their composition and content depend on physiological state, abiotic environmental factors, and a developmental phase of the organism. Their functions in plants are very diverse; those include participation in both the synthesis of proteins and other compounds and the adaptation to adverse environmental conditions. Information on the FAA dynamics is of key importance for understanding their role in formation of algae resistance to varying environmental factors. The aim of this study is to determine the FAA content in the brown alga *Fucus vesiculosus* and its seasonal changes, as well as to reveal the dependence on environmental factors and the alga developmental phase. The alga for research was sampled in the Kola Bay littoral (the Barents Sea) during low tide once a month from December 2015 to December 2016. The middle part of the thallus was used for the study. The FAA qualitative and quantitative composition was determined by high-performance liquid chromatography. The FAA qualitative composition did not change throughout the year; in the FAA pool, glutamic and aspartic acids, alanine, and proline prevailed. The FAA content varied throughout the year; the maximum amount was recorded in spring–summer. The FAA content depended on external environmental factors. The correlations were determined between the content of individual FAA and air temperature, water temperature, and salinity. The FAA dynamics in different developmental phases of *F. vesiculosus* was associated with processes occurring in the alga; it is affected by growth rate, cell metabolic activity, photosynthesis rate, and generative development. Each phase was characterized by its own dynamics of the FAA content. Based on the dynamics of the FAA concentration in *F. vesiculosus*, correspondences were found with the developmental phases – dormancy, growth activation, growth, and storage. Free glutamate and aspartate may act as one of the reserve sources of organic nitrogen in this alga. Apparently, the transport of organic forms of nitrogen in *F. vesiculosus* thallus is carried out by glutamate, aspartate, alanine, and proline.

Keywords: *Fucus vesiculosus*, free amino acids, seasonal changes, developmental phases, temperature, salinity, Barents Sea



КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И РЕГЕНЕРАЦИЯ ТРИХОПЛАКСА *TRICHOPLAX* SP. H2 ИЗ ФРАГМЕНТОВ ТЕЛА И АГРЕГАТОВ ДИССОЦИИРОВАННЫХ КЛЕТОК: ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ

© 2022 г. А. В. Кузнецов^{1,2}, В. И. Вайнер², Ю. М. Волкова²,
В. М. Цыганкова², Д. Н. Бочко², В. С. Муханов¹

¹ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация

²ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Российская Федерация
E-mail: andrey.kuznetsov@web.de

Поступила в редакцию 31.07.2020; после доработки 26.08.2020;
принята к публикации 19.08.2022; опубликована онлайн 13.09.2022.

Выполнены исследования на культивируемом в лаборатории простейшем многоклеточном животном *Trichoplax* sp. H2 с целью дальнейшей генетической модификации этого организма. Предлагается вводить генетическую информацию в суспензию клеток после диссоциации тела трихопакса на отдельные клетки с последующей их агрегацией и регенерацией полученных агломератов в жизнеспособное животное. С этой целью мы исследовали динамику роста трихопаксов в чашках Петри на матах из одноклеточной водоросли *Tetraselmis marina*. Особи были однородны на стадии экспоненциального роста. В экспериментах по посттравматической регенерации разрезали подопытных животных радиально и исследовали восстановление полученных частей под микроскопом. Оценивали интенсивность роста и размножения трихопаксов на водорослевых матах — показатели, ухудшавшиеся по мере измельчения животных. Обнаружено, что утраченная часть тела трихопакса замещается за счёт ремоделинга оставшихся клеток. После витальной окраски животных подвергали диссоциации на отдельные клетки в среде, лишённой двухвалентных катионов. Идентифицированы клетки грушевидной или округлой формы и клетки эпителия со жгутиками, которые сохраняли двигательную активность более 12 ч. Для количественной оценки популяции клеток с помощью проточной цитометрии пластинки трихопаксов дезинтегрировали при добавлении 10 мкМ амлодипина. Показано, что трихопакс размером 0,5–1,0 мм состоит примерно из 10 000 клеток. Обработка животных 10%-ным бычьим сывороточным альбумином (БСА) в течение различных промежутков времени свидетельствует в пользу существования тотипотентных клеток на периферии трихопакса, вероятно в пояске пластинки. В экспериментах по репаративной регенерации удалось добиться диссоциации трихопаксов на отдельные клетки при обработке 0,1%-ным БСА, а затем воссоздать живые организмы путём центрифугирования суспензии клеток и последующего диспергирования крупного осадка на фрагменты до 0,1 мм перед высевом многоклеточных агрегатов на питательные маты. Развитие этих агрегатов сопровождалось активными движениями клеток и эпителизацией поверхности, что приводило к увеличению клеточной массы, формированию пластинки, росту и дальнейшему вегетативному делению трихопаксов. Предполагается, что пребывание экспериментальных животных на искусственной стадии одиночной клетки в ряду бесполок размножений позволит интродуцировать в трихопакса чужеродную генетическую информацию, например с целью изучения сигнальных систем, организации и функционирования этого многоклеточного организма. Трансгенез, основанный на диссоциации тела животного на отдельные клетки, возможно, будет применим и к другим организмам, обладающим высоким регенеративным потенциалом.

Ключевые слова: трихопакс, пластинчатые, посттравматическая и репаративная регенерация, диссоциация и агрегация клеток, клеточная инженерия, методы трансгенеза

Трихоплакс относится к типу Placozoa и считается одним из самых просто устроенных многоклеточных животных (Серавин и Гудков, 2005 ; Schulze, 1883, 1891). Это пластинчатое беспозвоночное с асимметричным телом размером 0,2–2,0 мм в диаметре и толщиной 25 мкм встречается повсеместно в тропических морях (Eitel & Schierwater, 2010 ; Pearse & Voigt, 2007). Трихоплакс не имеет мышечных клеток и нейронов, состоит из трёх слоёв клеток, прикрепляется к субстрату с помощью микроворсинок и скользит по поверхности за счёт биения ресничек вентрального эпителия и наблюдаемых ритмических сокращений дорсального эпителия под действием звёздчатых волокнистых клеток среднего слоя, изменяя форму своего тела, как амёба (Armon et al., 2018 ; Eitel et al., 2013 ; Pearse & Voigt, 2007 ; Schierwater et al., 2009 ; Smith et al., 2019). Описано два возможных типа питания трихоплакса — внешний и внутренний. При внешнем питании животное наползает на крупную добычу, например на агломерат водорослей, и плотно прикрепляется к субстрату, образуя своеобразную пищевую полость, куда выделяет секреты, растворяющие содержимое, которое затем трихоплакс поглощает в процессе клатрин-опосредованного эндоцитоза (Smith & Mayorova, 2019 ; Smith et al., 2015). Также трихоплакс способен подхватывать ресничками мелкую добычу (одиночные водоросли) и перемещать её на дорсальную сторону, где она затем фагоцитируется клетками среднего слоя, временно экспонированными на поверхности (Wenderoth, 1986).

Интересно, что животное с таким примитивным строением тела содержит гены, которые у более высокоорганизованных животных отвечают за функции иммунной и нервной системы (Kamm et al., 2019 ; Varoqueaux et al., 2018). *Trichoplax* sp. H2 имеет геном величиной 94,88 Мб, в котором идентифицировано 12 225 генов (Kamm et al., 2018). Митохондриальный геном трихоплакса — наибольший среди всех Metazoa, он представляет собой кольцевую ДНК размером 43 Кб (Dellaporta et al., 2006). С помощью электронной микроскопии описано шесть основных типов клеток трихоплакса *Trichoplax adhaerens* H1 (табл. 1). На основе использования дифференциального окрашивания штамма H4 и конфокальной микроскопии охарактеризованы типы клеток трихоплакса и измерен мембранный потенциал митохондрий (Романова, 2019).

Наиболее представительными в теле трихоплакса являются вентральные эпителиальные клетки, обеспечивающие прикрепление к поверхности посредством микроворсинок и скольжение с помощью ресничек, а также всасывание переваренной пищи (табл. 1). Липофильные клетки тоже находятся в нижнем эпителии и содержат большое липидное включение. Наружный край тела животного, или поясok (~20 мкм), состоит из двух типов эпителиальных клеток — дорсальных и вентральных, а фибриллярные клетки здесь отсутствуют. По периферии пластинки трихоплакса расположены железистые клетки. В них экспрессируются такие нейроспецифические белки, как синтаксин 1, синаптобревин, SNAP25; в нейросекреторных клетках присутствуют также FMRF-амид и другие нейропептиды (Mayorova et al., 2019 ; Senatore et al., 2017 ; Smith et al., 2014). Разнообразные типы пептидергических клеток встречаются не только на периферии: они располагаются также концентрически в направлении центра в обоих эпителиях животного (Varoqueaux et al., 2018). Фибриллярные клетки тетраплоидны, содержат симбионтов и отвечают за изменение формы тела, фагоцитоз и пищеварение (Gruber-Vodicka et al., 2019). Некоторые клетки имеют кристаллические включения арагонита. Предполагается, что они играют роль вестибулярного аппарата, позволяющего животному ориентироваться в пространстве, переворачиваться и прикрепляться к субстрату непосредственно вентральной стороной (Mayorova et al., 2018 ; Smith et al., 2014). Дорсальные плоские эпителиальные клетки находятся в верхнем слое трихоплакса и имеют одну сенсорную ресничку. Вероятно, существуют и другие, менее представительные или пока не идентифицированные типы клеток (Sebé-Pedrós et al., 2018). Например, у особей из природных источников были описаны клетки, имеющие вид блестящих шаров, которые отсутствуют у культивируемых линий животных (Grell & Ruthmann, 1991 ; Syed & Schierwater, 2002). Известны случаи отпугивания трихоплаксом потенциальных хищников, возможно за счёт выделения токсинов

специализированными клетками (Jackson & Buss, 2009 ; Pearse & Voigt, 2007). Высказано предположение, что в пояске трихоплакса могут располагаться стволовые клетки, обеспечивающие рост животного на периферии (Albertini et al., 2019).

Таблица 1. Преобладающие типы клеток трихоплакса, идентифицированные с помощью электронной и конфокальной микроскопии с использованием специфических антител (Smith et al., 2014)

Table 1. *Trichoplax* prevailing cells types identified by electron and confocal microscopy using specific antibodies (Smith et al., 2014)

Положение	Тип	Описание	Функция	Содержание
Нижний слой	Вентральные эпителиальные клетки	Мелкие клетки с ресничкой и микроворсинками, вытянуты в вентродорсальном направлении, многочисленные включения и везикулы	Активное скольжение по поверхности и прикрепление к субстрату, всасывание, пиноцитоз	72 % всех клеток трихоплакса
	Липофильные клетки	Крупные клетки, лишённые ресничек, образуют контакты с фибриллярными клетками, отсутствуют в краевой 20-мкм зоне, одно крупное включение с липидным содержимым	Секреция пищеварительных ферментов	11 % клеток животного
	Железистые клетки	Среднего размера, расположены в краевой зоне, имеют ресничку и микроворсинки, разнообразные по форме и цвету гранулы	Секреция нейромедиаторов	3 % клеток
Средний слой	Фибриллярные клетки	Тетраплоидные клетки с отростками, разнообразные включения, в том числе симбиотические бактерии и остатки пищи	Механические изменения формы тела, фагоцитоз, пищеварение	4 % клеток
	Кристаллические клетки	Клетки содержат кристаллы размером ~2 мкм, контактируют с волокнистыми клетками, не выходят на поверхность	Возможно, выполняют роль статоцистов	< 0,2 % клеток в теле животного
Верхний слой	Дорсальные эпителиальные клетки	Мелкие клетки т-образной формы с сенсорной ресничкой, внутриклеточные гранулы	Защитная, сенсорная, сократительная	9 % клеток

Трихоплакс размножается в основном путём фрагментации тела или почкования с участием «бродяжек» (Kamm et al., 2018 ; Thiemann & Ruthmann, 1988, 1991). Образование гоноцитов у животного обычно наблюдается в стареющих культурах; обнаружить яйцеклетки чрезвычайно трудно (Grell, 1971, 1972 ; Grell & Benwitz, 1974). Сперматозоиды до сих пор не описаны (Grell & Benwitz, 1981). В лабораторных условиях эмбрионы деградируют после дробления по невыясненным причинам; изучено развитие эмбрионов до стадии 64–128 клеток (Eitel et al., 2011). Время жизни отдельных клеток в организме животного также неизвестно. Стволовые элементы и ниши стволовых клеток не обнаружены. Предполагается, что все клетки трихоплакса способны к обратной дифференцировке, потому что животное может регенерировать после расчленения на мелкие фрагменты и даже из отдельных клеток (Ruthmann & Terwelp, 1979). Тем не менее эксперименты по восстановительному морфогенезу показали частичную дифференцированность клеток. Так, кусочки середины пластинки не регенерируют. При соединении пояска и центрального участка тела животного происходит отторжение лишнего материала (Schwartz, 1984). Показано, что по краю тела трихоплакса располагаются мелкие клетки, в которых экспрессируется ген *Trox-2*. Возможно, это мультипотентные стволовые клетки, так как подавление экспрессии

Trox-2 с помощью антисмысловых олигонуклеотидов или благодаря РНК-интерференции останавливает рост и регенерацию трихоплекса (Jakob et al., 2004).

Поскольку последовательности геномов ряда штаммов трихоплекса стали доступны (Dellaporta et al., 2006 ; Kamm et al., 2018 ; Signorovitch et al., 2007 ; Srivastava et al., 2008), появилась возможность манипулировать ими, выключая, например, тот или иной ген, и анализировать, к каким изменениям это приведёт (Hardy et al., 2010). С другой стороны, для идентификации отдельных клеток и их потомков часто используют репортёрные гены, кодирующие флуоресцирующие белки (Currie et al., 2016). Данный подход позволяет изучать пространственно-временное распределение клеток под флуоресцентным микроскопом, разделять их с помощью проточного флуоресцентного клеточного сортера и маркировать популяции клеток для scRNAseq-анализа транскриптомов отдельных клеток по экспрессии транскрипционной мРНК (Lush et al., 2019). Наиболее интересным в случае трихоплекса видится молекулярно-генетическое изучение коммуникации между клетками, которая является причиной образования многоклеточных ансамблей и системного поведения (Kuznetsov et al., 2020b).

Ограниченность данных по тонкому строению и слабая изученность репродуктивного цикла трихоплекса, а также отсутствие исчерпывающей информации по динамике роста и критериев изменения физиологического состояния животных в процессе их культивирования сдерживают работы по его генетической модификации и обратной генетике. Исследователи вынуждены ограничиваться анализом генетически немаркированных клеток (Moroz et al., 2020 ; Romanova et al., 2020 ; Sebé-Pedrós et al., 2018) и гетерологичной экспрессией генов (Elkhatib et al., 2019 ; Smith et al., 2017) из-за отсутствия методов генетической модификации трихоплекса. Такие методы введения генетической информации, как электропорация и липофекция (за исключением баллистической трансфекции) (Sambrook & Russell, 2001), ориентированы на манипуляции с клетками в культуре, будь то прокариоты или эукариоты. В случае многоклеточных организмов с половым процессом трансгенез осуществляется на стадии одиночной клетки, например путём инъекции ДНК в зиготу (Transgenesis Techniques, 2009). Для трихоплекса, который не способен к половому размножению в лабораторных условиях, а делится вегетативно, необходима разработка специального метода трансгенеза.

Основная цель нашего исследования заключается в изучении регенерационных способностей трихоплекса для клеточной и генетической инженерии этого животного.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Культивирование. Для экспериментов использовали штамм *Trichoplax* sp. H2. С помощью микропипетки 15 животных помещали в чашку Петри диаметром 90 мм и культивировали при температуре +25 °С и рН 7,8–8,0. В качестве пищи использовали одноклеточную зелёную водоросль *Tetraselmis marina* (Cienkowski) R. E. Norris, Hori & Chihara, 1980 (Kuznetsov et al., 2020b). Искусственную морскую воду (artificial seawater, ASW) с солёностью 35 ‰ меняли каждые 5–7 дней. Трихоплексов пересаживали на свежий мат из водорослей каждые 3–5 недель. За сутки до начала эксперимента животных переводили в режим «голодания», отсаживая в чашку с ASW без водорослей.

Микроскопия и анализ изображений. Животных обрабатывали под микроскопом для лабораторных исследований Zeiss Primo Star или Zeiss Stemi 305 со встроенной камерой при увеличении в 8 и 40 раз. Изображения изучали с помощью программы ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>). Подбирали порог контрастности, позволяющий отделить анализируемый образ от зашумлённого фона. Измеряли площади пластинок. Отдельные клетки трихоплекса и их агломераты изучали под инвертированным микроскопом Nikon Eclipse Ts2R с ДИК-оптикой при увеличении до 600 раз.

Витальное окрашивание. Для прижизненного окрашивания отдельных животных (или их частей) образцы последовательно отмывали в двух каплях ASW. К последней капле добавляли 20 мкл 0,01%-ного раствора нейтрального красного (Sigma-Aldrich, USA), экспонировали 10 мин при комнатной температуре и далее снова отмывали в двух каплях ASW в течение 30 мин.

Микрохирургия. Для эксперимента брали крупных животных размером не менее 1 мм в диаметре, которые после активного поиска пищи меняли стратегию поведения на «ожидание» и распластывались на субстрате. Для этого трихоплаксов пересаживали в чашку Петри на пластиковую подложку в ASW до их перехода в состояние покоя (примерно на 60 мин). В таком состоянии отдельных животных разрезали на радиальные части. Медиальные разрезы выполняли с помощью скальпеля под микроскопом Zeiss Stemi 305 при увеличении в 8 раз. Для оценки способности частей трихоплакса к росту и репродукции животных разделяли на две, четыре или восемь радиальных долей и по десять сегментов (условие — по одному фрагменту от отдельной особи) засеивали на маты из водорослей *T. marina*. Процесс посттравматической регенерации непосредственно наблюдали в течение 3–4 ч под микроскопом Nikon Eclipse Ts2R. Фото- и видеосъёмку проводили через различные промежутки времени.

Диссоциация на отдельные клетки. Для эксперимента брали от 50 до 150 особей размером 0,5–1,0 мм и одного возраста до стационарной фазы роста культуры, что соответствовало 2–3 неделям после посева. Отмывали их 2 раза по 30 мин в ASW и переносили в лунки планшета объёмом по 300 мкл. Для диссоциации пластинок трихоплаксов на отдельные клетки использовали бычий сывороточный альбумин (далее — БСА) (Sigma, USA) в концентрациях 10 и 0,1 %, или 10 мкМ амлодипина (Тева, Россия), или 3,5%-ный NaCl с временем экспозиции от 15 до 90 мин. При подготовке клеточной суспензии трихоплаксов выдерживали в ASW с 0,1%-ным БСА в течение 15 мин при комнатной температуре, причём последние 5 мин среду интенсивно перемешивали до получения гомогенной клеточной взвеси.

Проточная цитометрия. Для исследования эффективности диссоциации трихоплаксов на отдельные клетки и оценки их числа, а также размера применяли проточный цитометр Cytomics™ FC 500 (Beckman Coulter, USA), оборудованный аргоновым лазером с длиной волны 488 нм. Обработку цитометрических данных проводили с помощью программы Flowing Software v2.5.0 (www.flowingsoftware.com, Perttu Terho, University of Turku, Finland). Общее число отдельных клеток и их агрегатов определяли в неокрашенных пробах с помощью гейтинга популяции клеток на двухпараметрических цитограммах прямого (forward scatter, FS) и бокового (side scatter, SS) светорассеивания, а также после окрашивания проб SYBR Green I (Molecular Probes, USA). Конечное разбавление в каждой пробе составляло 10^{-4} . Окрашивание проводили в темноте в течение 30 мин непосредственно перед цитометрией. Анализ окрашенных образцов осуществляли с использованием прямого светорассеивания (FS) и флуоресценции SYBR Green I в зелёной области спектра (канал FL1, 525 нм). Концентрацию клеток рассчитывали по скорости потока пробы ($60 \text{ мкл} \cdot \text{мин}^{-1}$), времени и количеству клеток, зарегистрированных в этот промежуток времени (60 с). Контроль и калибровку измерений производили с помощью флуоресцентных микросфер (Beckman Coulter, USA) размером 1,0; 4,2; 10,7 мкм. Размеры клеток (L, мкм) определяли на основе данных канала FS как диаметр эквивалентной сферы (equivalent spherical diameter, ESD), объём которой равен объёму клетки независимо от её морфологии.

Реагрегация клеток и репаративная регенерация. В первой серии экспериментов полученную взвесь клеток сразу помещали на питательные маты. Во второй серии опытов гомогенат переносили в микропробирку объёмом 1,5 мл, клетки трижды промывали (по 1 мл ASW) путём осаждения на микроцентрифуге FVL-2400 Combi-Spin (BioSan, Latvia) в течение 2 мин. На последнем этапе длительность центрифугирования увеличивали до 5 мин, далее

следовало диспергирование осадка на вихреке в течение 2 сек. Мини-агрегаты клеток размером до 100 мкм высевали на маты из водорослей для дальнейшей регенерации, роста и размножения трихоплексов.

Исследования проводили в течение года. Всего выполнено 14 серий экспериментов с БСА и амлодипином в различных модификациях, а также контрольные эксперименты с использованием 3–5 чашек в отдельном опыте. Данные в тексте представлены как «среднее значение \pm стандартное отклонение».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Рост животных. *Trichoplax* sp. H2 находились в течение недели в состоянии адаптации к новым условиям после заселения в чашки Петри на маты из водорослей. По прошествии лаг-фазы длительностью до 7–10 дней трихоплексы начинали расти, а потом — делиться с образованием зоны растяжения и истончения между клетками, заканчивающимся разрывом соединения. Наступала экспоненциальная фаза роста, характеризующаяся однородной морфологией животных. Последующая логарифмическая стадия роста культуры трихоплексов сопровождалась небольшим изменением численности популяции (рис. 1а), а прирост биомассы происходил ступенчато (рис. 1б). Замедление роста культуры с переходом в стационарную фазу с последующим измельчением части животных отмечено на 20-е сутки; начало фазы отмирания зафиксировано на 25-е сутки. Для дальнейшего культивирования по 10 интактных животных пересаживали в чашки со свежими матами из водорослей. Как и раньше, после 7-дневной паузы происходило экспоненциальное увеличение количества особей (рис. 1в) при некотором замедлении прироста биомассы на поздней стадии (рис. 1г), сопровождающемся временным уменьшением размеров животных.

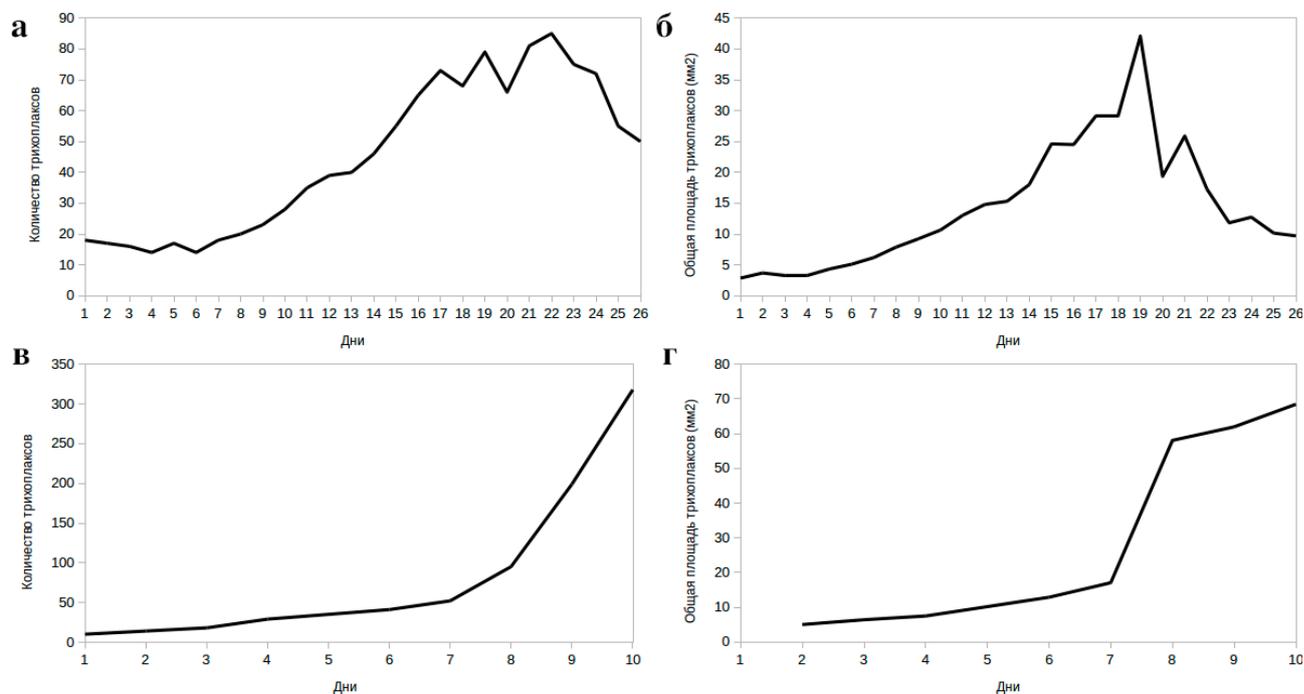


Рис. 1. Рост культуры *Trichoplax* sp. H2: а, б — длительное культивирование; в, г — повторное краткое культивирование. Суммарная площадь поверхности животных в мм² (б, г)

Fig. 1. *Trichoplax* sp. H2 culture growth: а, б, the long-term cultivation; в, г, the following short-term cultivation. Total surface area of animals is in mm² (б, г)

Пищевое поведение трихоплаксов. При избытке пищи трихоплаксы находились на мате из водорослей (рис. 2а). По мере выедания мата животные медленно перемещались на новое место, изобилующее пищей. В случае если трихоплаксы были пересажены в ASW без водорослей, они начинали активно двигаться в поисках пищи (рис. 2б). Через несколько десятков минут безуспешного поиска животные успокаивались и переходили в режим «ожидания» (рис. 2в), при котором движение клеток внутри тела замедляется, образуется утончённый периферийный ободок, а особь прочно прикрепляется к субстрату. Аккуратное добавление отдельных микроводорослей возле трихоплакса стимулировало положительный таксис животного в направлении пищи и последующее её поедание. Добавление небольшого объёма среды из старой культуры или расположение мёртвых водорослей возле трихоплакса, наоборот, вызывало у него реакцию убления.



Рис. 2. Трихоплаксы в различных физиологических состояниях: а — животное на мате из водорослей; б — трихоплакс в движении; в — неподвижное животное. Увеличение в 40 раз

Fig. 2. *Trichoplax* in various physiological states: а, animal resting on an algal mat; б, *Trichoplax* in motion; в, motionless animal. Magnification 40 times

Микродиссекция животных. После разрезания трихоплакса на две части (рис. 3а) половинки начинали регенерировать в интактную особь и примерно через 1 ч «залечивали» рану (рис. 3б, в). Повреждённое животное переставало двигаться, оставалось распластанным на субстрате и сворачивалось, изолируя травмированную область от окружающей среды. Травмированная часть пластинки характеризуется отсутствием ресничек и пояска, тогда как нативный край пластинки формирует поясок из мелких тёмных клеток с хорошо различимыми подвижными ресничками. Внутреннее содержимое пластинки, в отличие от раневого края, было очень динамичным. Трихоплакс постоянно менял форму, но не приподнимался при этом над поверхностью, а оставался плотно прижатым к субстрату. Поясок на противоположной от раны стороне несколько утолщился по высоте, становился темнее и прочно прикреплялся к подложке, фиксируя животное таким образом, что трихоплакс совершал амёбоидные движения, но не мог оторваться от места прикрепления (см. Приложение 1: <https://marine-biology.ru/mbj/article/view/353>). Процесс заживления раны продолжался около 30 мин (рис. 3а) и завершился глубокой инвагинацией пояска в сторону центральной части пластинки через 60 мин после бисекции (рис. 3б) (см. Приложение 2: <https://marine-biology.ru/mbj/article/view/353>). Ещё около часа требовалось на дальнейшую репарацию, приводящую к выравниванию края пластинки (рис. 3в, г). Животные больше не прикреплялись противоположной стороной к поверхности и начинали вращаться. Через 3 ч и более край пластинки в зоне повреждения округлялся и формировал интактный поясок, а рубец внутри пластинки рассасывался. Все клетки внутри пластинки трихоплакса начинали двигаться скоординированно, пластинка приобретала первоначальную пластичность, а животное — возможность перемещаться поступательно.

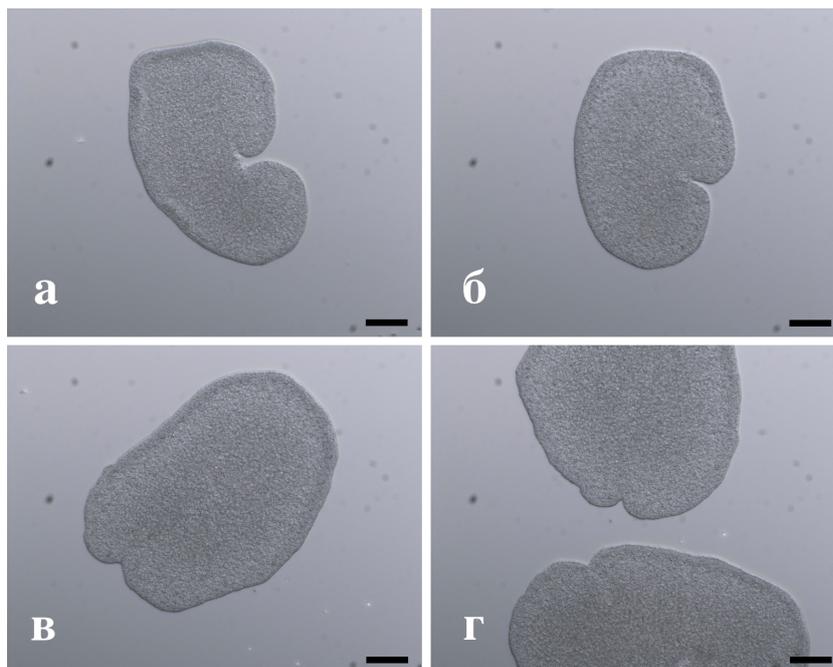


Рис. 3. Репарация раневой зоны у половинки *Trichoplax* sp. H2 в течение 30 мин (а), 60 мин (б) и 120 мин (в, г). Увеличение в 400 раз; отрезки шкалы по 50 мкм

Fig. 3. Repair of a wound area in half of *Trichoplax* sp. H2 within 30 min (a), 60 min (б), and 120 min (в, г). Magnification 400 times. Scale bars are 50 μ m

Когда трихоплакса разделяли на 4 части и особенно на 8 частей, первоначальное восстановление протекало дольше — до 60–120 мин, так как раневая поверхность была больше неповреждённой части. При этом животному, чтобы восстановить раневую зону с помощью оставшихся мелких клеток пояска пластинки, приходилось утолщаться (рис. 4б), образовывать складки и даже отторгать некоторое количество крупных клеток из центральной части пластинки. Разрезание животного приводило к обездвиживанию пластинки в районе повреждения; трихоплакс терял способность передвигаться поступательно и совершал ритмичные движения в одной плоскости, сопровождавшиеся перестройкой клеток и приводившие к уменьшению размера раневой зоны, а позднее начинал вращаться. По мере заживления раны край пластинки выравнивался, к животному возвращалась прежняя подвижность.

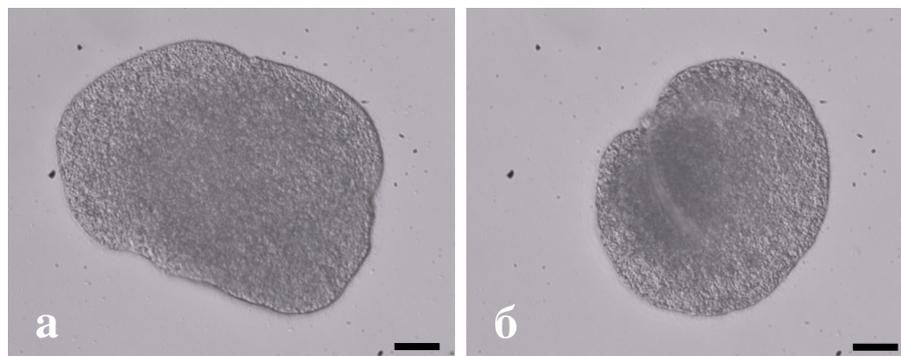


Рис. 4. Репарация раневой зоны у 1/8 части особи *Trichoplax* sp. H2: а — мелкое интактное животное в качестве положительного контроля; б — заживление 1/8 части крупного животного в течение 1–2 ч. Увеличение в 400 раз; отрезки шкалы по 50 мкм

Fig. 4. Repair of a wound area in 1/8 of *Trichoplax* sp. H2 specimen: а, small intact animal as a positive control; б, healing of 1/8 of a large animal within 1–2 hours. Magnification 400 times. Scale bars are 50 μ m

Через две недели после посева 10 половинок и 10 четвертинок трихоплакса на водорослевый мат обнаружено по 40 интактных особей в обеих чашках (табл. 2). Животные располагались поодиночке на водорослях и под ними, плотно прилегали к субстрату, были малоподвижны, имели типичную морфологию с ровными краями и соответствующие размеры пластинки (около 1 мм). Данный результат свидетельствует о том, что половинки и четвертинки трихоплакса обладают примерно одинаковым потенциалом к восстановлению на длительном промежутке времени при наличии источника пищи. Из 1/8 части трихоплакса регенерировало меньше особей, вероятно в силу того, что только некоторые из них были способны давать начало полноценным животным. Тем не менее все восстановленные особи обладали репродуктивным потенциалом: отмечен 4–5-кратный прирост численности популяции за неделю.

Таблица 2. Регенерация *Trichoplax* sp. H2 после микродиссекции пластинки

Table 2. *Trichoplax* sp. H2 regeneration after microdissection of the plate

Недели	Количество развившихся животных			
	Целая часть	1/2 часть	1/4 часть	1/8 часть
2	42	40	40	10
3	> 200	> 200	> 200	51
4	> 200	> 200	> 200	> 200

Диссоциация животных на отдельные клетки. В результате погружения трихоплаксов в среду, лишённую двухвалентных катионов (3,5%-ный NaCl), тела животных постепенно диссоциировали на отдельные клетки (рис. 5б). После 60 мин большинство составляли клетки округлой формы, которые совершали беспорядочные движения в результате биения ресничек даже на следующие сутки. Также выявлены, но в гораздо меньшем количестве, неподвижные клетки грушевидной формы. При длительной инкубации грушевидные клетки превращались в сферические.

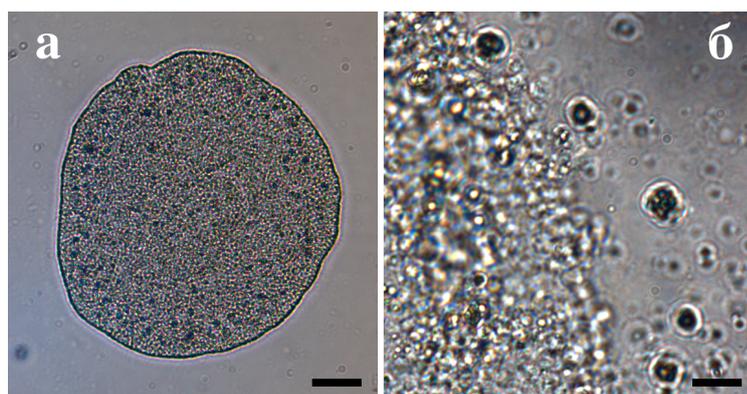


Рис. 5. Пластинка трихоплакса, окрашенного нейтральным красным: а — интактное животное, увеличение в 200 раз, отрезок шкалы 75 мкм; б — животное в процессе диссоциации в 3,5%-ном растворе NaCl, увеличение в 600 раз, отрезок шкалы 25 мкм

Fig. 5. *Trichoplax* plate stained with neutral red: a, intact animal, magnification 200 times, scale bar is 75 μ m; b, animal during dissociation with 3.5 % NaCl solution, magnification 600 times, scale bar is 25 μ m

Оценка отдельных клеток и их агрегатов с помощью проточного цитофлуориметра. Анализ клеток трихоплакса в неокрашенных пробах (рис. 6а, г) затруднён наличием в среде значительного количества взвешенных частиц сопоставимого размера. Эта проблема остро ощущалась при обработке проб 3,5%-ным NaCl и в меньшей степени — 0,1%-ным БСА (рис. 6а).

Образование агрегатов клеток разного размера в результате диссоциации тела трихоплакса не позволило получить компактный кластер на цитограммах, который включал ядро одиночных клеток (IC) и шлейф клеточных агрегатов (CC) (см. рис. 6а, г).

Эффективность диссоциации клеток трихоплакса оценивали по доле одиночных клеток в общем количестве регистрируемых объектов. Значение изменялось в диапазоне от 60 до 76 % $[(68 \pm 8) \text{ \%}]$. По данному показателю статистически достоверного отличия между обработкой 0,1%-ным БСА и 10 мкМ амлодипина не обнаружено. Число клеток в одном организме составляло от 7 000 до 12 000 и, возможно, было занижено, поскольку эффективность диссоциации ткани не превышала 80 %.

Окраска нуклеиновых кислот флуорохромом SYBR Green I облегчала идентификацию клеток трихоплакса на цитограммах (гейты TR на рис. 6б, д) и давала более точные оценки количества и размеров клеток на основе гейтинга их популяций (рис. 6в, е). Согласно калибровочным измерениям, средние размеры (ESD) одиночных клеток трихоплакса составляют $(3,5 \pm 0,4)$ мкм, при этом достоверного отличия между пробами с БСА и амлодипином не выявлено.

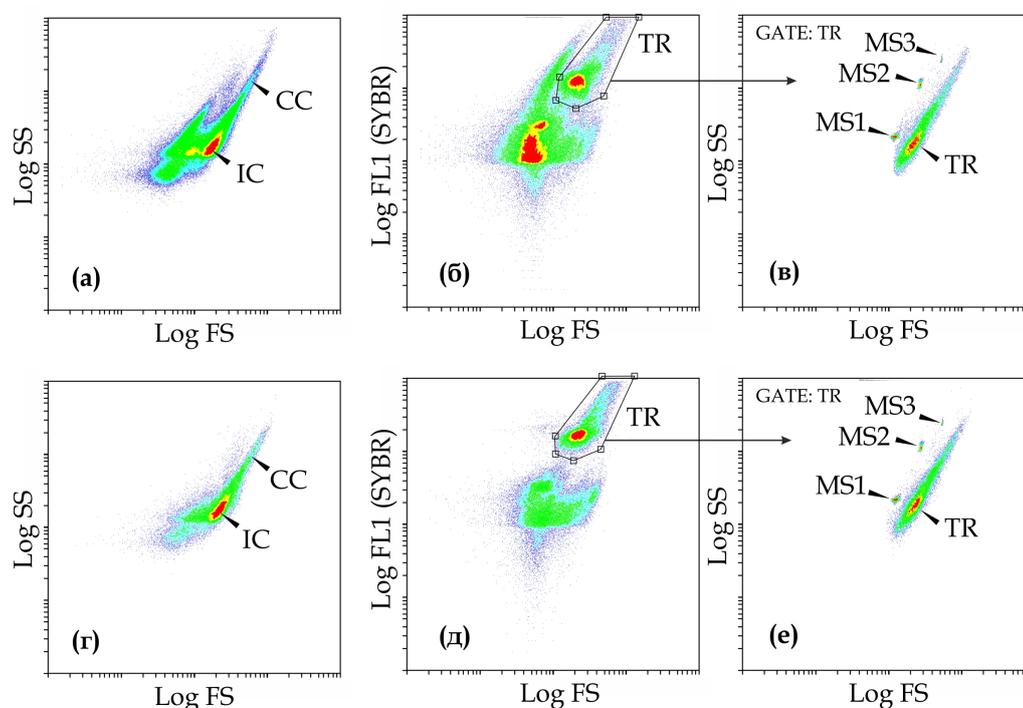


Рис. 6. Проточная цитометрия диссоциированных клеток трихоплакса без окраски (а, г) и после их окрашивания флуорохромом SYBR Green I (б, в, д, е). Обработка 0,1%-ным БСА (а, б, в) и 10 мкМ амлодипина (г, д, е). Обозначены: одиночные клетки животного (IC) и их агрегаты (CC); гейтинг клеток трихоплакса в окрашенных пробах (TR); калибровочные микросферы размером 1,0 мкм (MS1), 4,2 мкм (MS2) и 10,7 мкм (MS3). На двух графиках (в, е) представлены данные из гейта TR

Fig. 6. Flow cytometry of dissociated *Trichoplax* cells with no staining (а, г) and after their staining with SYBR Green I fluoro-chrome (б, в, д, е). Treatment with 0.1 % BSA (а, б, в) and 10 μM amlodipine (г, д, е). Single *Trichoplax* cells (IC), their aggregates (CC), gating of *Trichoplax* cells in stained samples (TR), and calibration microspheres of 1.0 μm (MS1), 4.2 μm (MS2), and 10.7 μm (MS3) are marked. Data from the TR gate are given on two graphs (в, е)

Регенерация животных после обработки 10%-ным БСА. Предстояло выяснить, способны ли трихоплаксы регенерировать из фрагментов менее 1/8 части тела. Для получения таких мелких фрагментов животных использовали методику диссоциации пластинки трихоплакса с помощью БСА. В опыт брали по 50 особей и добавляли БСА в концентрации до 10 %. Трихоплаксов выдерживали в течение 15, 45 и 90 мин при комнатной температуре; извлекали и высевали

суспензию фрагментов животных на питательные маты для проращивания. Использование БСА вместо скальпеля не позволяло получить уменьшающиеся фрагменты с сохранением осей, такие как секторы 1/16, 1/32 и т. д.; вместо этого получали случайные фрагменты тела животных. Через 3 недели культивирования на матах обнаружены жизнеспособные трихоплаксы. Примечательно, что животные были разного размера — от очень мелких до крупных, около 1 мм. Часть особей после деления оставалась в плотном контакте друг с другом.

Размеры фрагментов пластинки трихоплакса после 90 мин обработки были значительно меньше, чем после 15 мин инкубации. Длительность экспозиции с 10%-ным БСА негативно сказывалась на способности животных к репаративной регенерации, росту и размножению. Так, через 3 недели культивирования на чашках обнаружены 83, 38 и 1, а через 4 недели — 333, 220 и 4 интактные особи после воздействия БСА в течение 15, 45 и 90 мин соответственно (табл. 3). В последнем случае три из четырёх развившихся животных отмечены лишь после 4 недель культивирования, а размножение трихоплаксов было замедленным.

Полученный результат показывает, что длительность разрушения трихоплаксов на фрагменты с помощью 10%-ного БСА негативно сказывается на репарации подопытных животных. Несмотря на то, что в результате микрохирургии и обработки БСА получают фрагменты тела, существенно отличающиеся по структуре, отмечено, что эффективность восстановления трихоплаксов после 15 мин обработки 10%-ным БСА сопоставима с регенерацией животных из 1/8 частей (табл. 2). Однако после 90 мин обработки 10%-ным БСА для репаративной регенерации животных и дальнейшего размножения требовался почти один месяц культивирования на матах водорослей. Тем не менее восстановившиеся трихоплаксы дали начало новой популяции, которая достигла максимума из 182 особей на втором месяце роста культуры и характеризовалась постепенным отмиранием животных к третьему месяцу культивирования (табл. 3).

Таблица 3. Регенерация *Trichoplax* sp. H2 после обработки 10%-ным БСА в зависимости от времени инкубации

Table 3. *Trichoplax* sp. H2 regeneration after 10 % BSA treatment depending on incubation period

Недели	Количество развившихся животных		
	15 мин	45 мин	90 мин
3	83	38	1
4	333	220	4
5	> 400	> 400	8
6	> 400	> 400	18
7	> 400	> 400	47
8	> 400	> 400	182

Восстановление животных из конгломерата отдельных клеток. Способны ли трихоплаксы восстанавливаться после полной диссоциации на отдельные клетки? В случае посева суспензии таких клеток на питательный мат трихоплаксы не росли, однако после центрифугирования взвеси клеток, диспергирования осадка и высева клеточных агрегатов на маты удалось добиться образования жизнеспособных животных. В случае использования для диссоциации трихоплаксов 0,1%-ного БСА после 1 недели культивирования на мате из водорослей обнаружены 74 особи, а при применении 10 мкМ амлодипина — 2 особи, которые далее успешно размножались (количество особей достигло 380 через 4 недели) (табл. 4). В противоположность этому обработка животных 3,5%-ным NaCl негативно сказывалась на их последующей регенерации.

Эксперименты воспроизводились стабильно, причём количество регенерировавших трихоплексов прямо зависело от числа взятых животных. Так, при применении 0,1%-ного БСА для диссоциации ткани в случае использования 50, 100 и 150 трихоплексов проросли 5, 74 и 93 особи соответственно. То есть увеличение числа трихоплексов повышало концентрацию клеток в суспензии, что позитивно влияло на количество фрагментов после его дезагрегации и в конечном счёте на количество восстановившихся животных.

Таблица 4. Восстановление *Trichoplax* sp. H2 из агрегатов отдельных клеток после диссоциации различными реагентами

Table 4. *Trichoplax* sp. H2 regeneration from aggregates of single cells after dissociation with various reagents

Недели	Количество развившихся животных		
	0,1%-ный БСА	10 мкМ амлодипина	3,5%-ный NaCl
1	74	2	0
2	> 400	25	0
3	> 400	236	0
4	> 400	380	0
5	> 400	> 400	0

Со временем на матах появлялись новые скопления клеток, которые росли на субстрате, приобретали типичную для трихоплексов морфологию и способность к движению, внешнему питанию и делению (рис. 7а, б). Трихоплексы регенерировали из агрегатов асинхронно, образуя колонии клеток разного размера с неровными краями, причём изначально крупные агрегаты развивались быстрее мелких. Затем эти скопления округлялись, превращаясь в подвижных животных, вырастали до обычных размеров (около 1 мм) и начинали делиться с помощью истончения и растяжения, как интактные животные. Если после центрифугирования суспензии клеток и последующей дезинтеграции осадка животные регенерировали из клеточных агрегатов в ASW без пищи, то в результате восстановительного морфогенеза первоначально случайные, бесформенные и хаотичные агрегаты клеток трихоплекса перестраивались в шарообразные структуры, подобные «бродяжкам», у которых мелкие эпителиальные клетки с подвижными ресничками расположены на поверхности, а крупные клетки находятся внутри (рис. 7в).

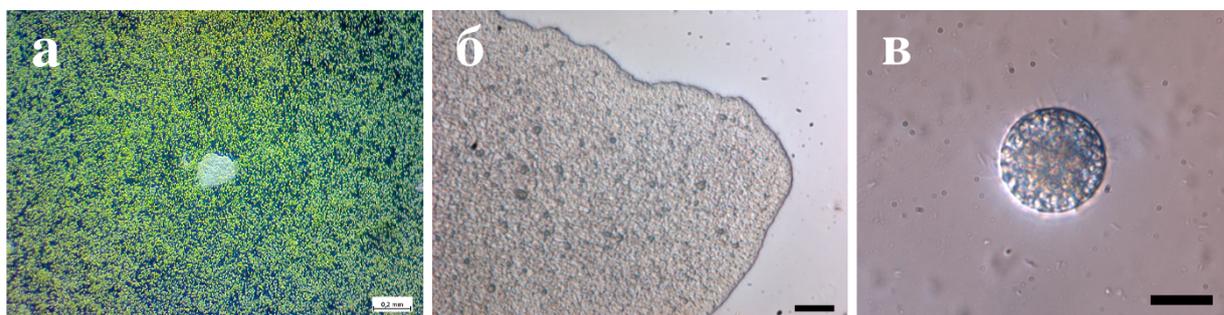


Рис. 7. Восстановительные морфогенезы *Trichoplax* sp. H2: а — особь в возрасте 7 дней, сформировавшаяся на мате из водорослей, увеличение в 40 раз, отрезок шкалы 0,2 мм; б — трихоплекс из 6-недельной культуры с мелкими клетками в пояске и ресничками по периферии, увеличение в 400 раз, отрезок шкалы 50 мкм; в — животное в возрасте 7 дней, регенерировавшее без источника пищи в ASW, увеличение в 2×400 раз, отрезок шкалы 100 мкм

Fig. 7. Regenerative morphogenesis of *Trichoplax* sp. H2: a, 7-day animal formed on an algal mat, magnification 40 times, scale bar is 0.2 mm; б, *Trichoplax* from a 6-week culture, with small cells in the rim and cilia on the periphery, magnification 400 times, scale bar is 50 μm; в, 7-day animal regenerated in ASW with no food source, magnification 2×400 times, scale bar is 100 μm

Динамика восстановления, последующего роста и размножения трихоплаксов на питательных матах варьировала в отдельных опытах и зависела от возраста и состояния животных, отобранных для эксперимента (рис. 8). Лучшие результаты были получены на трихоплаксах, взятых на стадии экспоненциального роста. В отличие от интактных животных с длительностью лаг-фазы около 1 недели (рис. 1в, г), подопытные животные характеризовались тем, что либо агломераты не восстанавливались, либо данная стадия затягивалась до двух и более недель. Тем не менее далее наступала фаза экспоненциального деления и логарифмического роста, последовательно переходящая сначала в стационарную фазу (на втором месяце существования культуры), а затем — в медленное отмирание (начиная с 6-й недели после посева). Отмирание культуры выражалось в уменьшении общей биомассы, включающем снижение количества особей в чашках Петри и их измельчение.

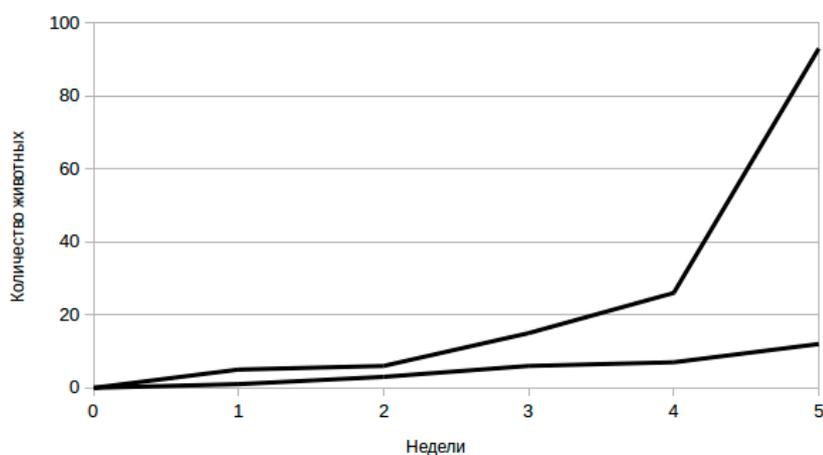


Рис. 8. Динамика восстановления количества *Trichoplax* sp. H2 после диссоциации с помощью 0,1%-ного БСА. Два независимых эксперимента с ростом животных в отдельных чашках Петри

Fig. 8. Dynamics of *Trichoplax* sp. H2 regeneration after dissociation with 0.1 % BSA. Two independent experiments with animal growth in separate Petri dishes

ОБСУЖДЕНИЕ

Использование ограниченного числа модельных организмов, таких как *Escherichia coli* (Migula, 1895), *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900), *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830, *Mus musculus* Linnaeus, 1758 и т. д., принадлежащих к разным таксономическим группам, позволило биологам сосредоточить усилия на изучении молекулярных механизмов жизни и привело к пониманию биологических процессов на молекулярном уровне, а также даёт возможность модифицировать живые объекты (Sommer, 2009). Среди гидробионтов, помимо *Danio rerio* (Hamilton, 1822), уже несколько десятилетий общепризнанными объектами изучения биологии развития являются *Hydra vulgaris* Pallas, 1766, *Nematostella vectensis* Stephenson, 1935 (Layden et al., 2016), *Ciona intestinalis* (Linnaeus, 1767) (Liu et al., 2006), *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Gildor et al., 2016) и др. Заметен возрастающий интерес к новым модельным объектам, один из которых — *Trichoplax* sp. Этот уникальный многоклеточный организм без нервной системы относится к базальным Metazoa (Heyland et al., 2014), поэтому интересно знать, как осуществляется координация его функционирования. Однако данный объект остаётся трудным как для биологии развития, так и для молекулярной генетики из-за слабой изученности его жизненного цикла и регенерационных способностей (Eitel et al., 2011 ; Kamm et al., 2018), неявной симметрии, неопределённости плана строения и экспрессии

соответствующих генов (DuBuc et al., 2019 ; Schwartz, 1984 ; Zuccolotto-Arellano & Cuervo-González, 2020), а также из-за предполагаемого отсутствия стволовых клеток по причине преимущественной вегетативной репродукции (Ruthmann, 1977).

Работа с отдельными клетками трихоплакса — это основа для исследований молекулярно-генетическими методами. С другой стороны, способность к генетической трансформации у бактерий и к генетической трансфекции у эукариотических клеток в культуре связана с экспоненциальной фазой роста, характеризующейся максимальным числом митозов (Sambrook & Russell, 2001). Именно поэтому мы уделили значительное внимание получению отдельных клеток трихоплаксов и дальнейшей их агрегации для восстановления репродуктивных животных. При этом отметим, что рост трихоплаксов в чашках Петри заметно отличается от их культивирования в аквариуме (Pearse, 1989).

Решающими факторами в наших условиях были постоянство pH в среде и периодическая смена ASW, позволяющая удалять продукты жизнедеятельности трихоплаксов. Закисление среды и смена воды влияли на форму кривой роста, выражаясь в появлении ступенек (рис. 1), что затрудняло выявление начала перехода к стационарной фазе роста. Поедание водорослей животными приводило в конце концов к гибели культуры. Такое поведение трихоплаксов, как поиск пищи, остановка и распластывание на субстрате, а также пищевые реакции при индивидуальном кормлении служили критерием физиологического состояния животных. Наиболее однородные особи выявлены на экспоненциальной стадии роста.

Возможность манипулирования отдельными клетками и регенерация после диссоциации впервые продемонстрированы в начале XX в. для губок (Galtsoff, 1925 ; Wilson, 1907, 1910), а регенерация гидры открыта А. Трамбле ещё раньше — в середине XVIII в. (Lenhoff & Lenhoff, 1986). Подвижность и регенерационные способности *Trichoplax adhaerens* являются предметом активного изучения со второй половины XX в. (Kuhl & Kuhl, 1963, 1966). В наших экспериментах *Trichoplax* sp. H2 продемонстрировал высокий регенеративный потенциал и тканевую пластичность в опытах, когда животное разрезали радиально на несколько частей. Рассечённые особи оставались прикрепленными к субстрату, но изгибались так, чтобы минимизировать площадь повреждённой поверхности и окружить рану здоровой тканью. Трихоплаксы восстанавливались значительно медленнее из 1/4 и особенно 1/8 частей, чем из 1/2 части, в силу меньшего соотношения между площадью интактной поверхности и площадью раневой зоны. Среди индивидуальных клеток, полученных в результате диссоциации пластинки трихоплакса, преобладали эпителиальные клетки с ресничкой, сохраняющие двигательную активность не менее 12 ч. Однако же их округлая форма не соответствовала таковой клеток, входящих в состав тела животного (Smith et al., 2014), что может быть результатом отсутствия соседей или действия осмотического давления среды. Также найдены неподвижные клетки грушевидной формы, предположительно дериваты липофильных клеток. Однако обнаружение менее представительных типов клеток с помощью световой микроскопии в наших условиях было невозможно, поэтому в экспериментах по репаративной регенерации был использован весь пул доступных клеток в надежде на естественную селекцию малодифференцированных клеток при восстановительном морфогенезе. Подтверждением сказанного является отторжение части материала, который, возможно, содержал дифференцированные эпителиальные клетки и клетки середины пластинки (Schwartz, 1984). Общее количество клеток в животном размером 0,5–1,0 мм по данным проточной цитометрии было округлено до 10 000, что почти совпадает с результатами электронной микроскопии, где число клеток в трихоплаксе размером 1 мм составляло 50 000 (Smith et al., 2014).

В опытах по диссоциации трихоплаксов с помощью 10%-ного БСА в течение разных периодов времени показано, что животные теряют способность к восстановлению пропорционально продолжительности экспозиции, что связано, вероятно, с преимущественной потерей

периферийных клеток и согласуется с результатами инкубирования трихоплаксов в бескальциевой среде. Это свидетельствует в пользу существования тотипотентных клеток в пояске пластинки трихоплакса, что расходится с данными по губкам, где большинство клеток способно к перемещениям, а также к трансдифференцировкам (Bond, 1992 ; Harris, 1987). Диссоциация пластинки трихоплаксов на отдельные клетки была более эффективна при применении 10 мкМ амлодипина, чем при использовании 0,1%-ного БСА, однако имела обратный эффект на восстановление животных после центрифугирования суспензии клеток. Обнаруженное отличие может быть объяснено разными механизмами диссоциации ткани трихоплакса: БСА способен связывать ионы кальция и блокировать рецепторы на поверхности клеток (Kuznetsov et al., 2020b), в то время как амлодипин нарушает работу кальциевых каналов (Кузнецов и др., 2020a). Использование бескальциевой среды не приводило к последующему восстановлению животных, как и в других опытах (Ruthmann & Terwelp, 1979).

Результаты наших экспериментов позволяют предположить, что гипотетические стволовые клетки трихоплакса расположены на периферии, в краевом пояске пластинки, но не способны самостоятельно пролиферировать и дифференцироваться без контакта с соседними клетками и без активных морфогенетических движений, что согласуется с предположением (Albertini et al., 2019). Подтверждением этому является реконфигурация клеток в течение нескольких суток при отсутствии пищи из бесформенных клеточных агрегатов в выраженные сферические образования с плоским эпителием и крупными срединными клетками (Thiemann & Ruthmann, 1988, 1991), но не самосборка из отдельных клеток, как описано в работе (Ruthmann & Terwelp, 1979). С другой стороны, развитие многоклеточных агрегатов на водорослевых матах, их последующая регенерация и рост экспериментальных трихоплаксов повторяли развитие интактных животных в культуре с отставанием на 1–2 недели.

Заключение. Широко представленные типы клеток трихоплакса маскируют возможное существование тотипотентных клеток и затрудняют их поиск. Тем не менее используемая нами система селекции стволовых клеток во время ассоциации диссоциированных клеток с помощью центрифугирования и дальнейшей дезагрегации осадка с проращиванием полученных агрегатов может быть полезна и/или критична при работе с клетками, компетентными к генетической трансфекции. Данное предположение требует дальнейшего изучения. Продолжением начатой работы на суспензии клеток трихоплакса может быть применение существующих методов трансфекции, таких как липофекция и электропорация, с использованием видоспецифичных генетических конструкций: это позволит исследовать и модифицировать механизмы клеточной сигнализации, функционирования и организации этого древнего многоклеточного организма. Метод трансгенеза, основанный на диссоциации ткани на отдельные клетки, в более широком аспекте может быть применим и к другим гидробионтам, обладающим высоким регенеративным потенциалом, например к губкам, книдариям и планариям.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации по Постановлению № 220 (договор № 14. W03.31.0015 от 28.02.2017).

Благодарность. Благодарим А. А. Солдатову за поддержку, А. А. Пономарёву, А. В. Дорошкова, О. В. Кривенко и Е. Г. Сахонь — за содействие при выполнении работы, А. В. Пиркову и И. В. Довгала — за критическое прочтение рукописи, анонимных рецензентов — за полезные замечания и советы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- | | |
|---|---|
| <p>1. Кузнецов А. В., Кулешова О. Н., Пронозин А. Ю., Кривенко О. В., Завьялова О. С. Действие прямоугольных электрических импульсов низкой частоты на трихоплакса (тип</p> | <p>Placozoa) // <i>Морской биологический журнал</i>. 2020a. Т. 5, № 2. С. 50–66. [Kuznetsov A. V., Kuleshova O. N., Pronozin A. Yu., Krivenko O. V., Zavyalova O. S. Effects of low frequency</p> |
|---|---|

- rectangular electric pulses on *Trichoplax* (Placozoa). *Morskoj biologicheskij zhurnal*, 2020a, vol. 5, no. 2, pp. 50–66. (in Russ.). <https://doi.org/10.21072/mbj.2020.05.2.05>
2. Романова Д. Ю. Разнообразие клеточных типов у гаплотипа H4 Placozoa sp. // *Морской биологический журнал*. 2019. Т. 4, № 1. С. 81–90. [Romanova D. Y. Cell types diversity of H4 haplotype Placozoa sp. *Morskoj biologicheskij zhurnal*, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 81–90. (in Russ.). <https://doi.org/10.21072/mbj.2019.04.1.07>
 3. Серавин Л. Н., Гудков А. В. *Trichoplax adhaerens* (тип Placozoa) – одно из самых примитивных многоклеточных животных. Санкт-Петербург : ТЕССА, 2005. 69 с. [Seraivin L. N., Gudkov A. V. *Trichoplax adhaerens* (Placozoa) – одно из самых примитивных многоклеточных животных. Saint Petersburg : TESSA, 2005, 69 p. (in Russ.)]
 4. Albertini M. C., Fraternali D., Semprucci F., Cecchini S., Colomba M., Rocchi M. B. L., Sisti D., Di Giacomo B., Mari M., Sabatini L., Cesaroni L., Balsamo M., Guidi L. Bioeffects of *Prunus spinosa* L. fruit ethanol extract on reproduction and phenotypic plasticity of *Trichoplax adhaerens* Schulze, 1883 (Placozoa). *PeerJ*, 2019, vol. 7, art. no. e6789 (22 p.). <https://doi.org/10.7717/peerj.6789>
 5. Armon S., Bull M. S., Aranda-Diaz A., Prakash M. Ultrafast epithelial contractions provide insights into contraction speed limits and tissue integrity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, vol. 115, no. 44, pp. E10333–E10341. <https://doi.org/10.1073/pnas.1802934115>
 6. Bond C. Continuous cell movements rearrange anatomical structures in intact sponge. *Journal of Experimental Zoology*, 1992, vol. 263, iss. 3, pp. 284–302. <https://doi.org/10.1002/jez.1402630308>
 7. Currie J. D., Kawaguchi A., Traspas R. M., Schuez M., Chara O., Tanaka E. M. Live imaging of axolotl digit regeneration reveals spatiotemporal choreography of diverse connective tissue progenitor pools. *Developmental Cell*, 2016, vol. 39, iss. 4, pp. 411–423. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.10.013>
 8. Dellaporta S. L., Xu A., Sagasser S., Jakob W., Moreno M. A., Buss L. W., Schierwater B. Mitochondrial genome of *Trichoplax adhaerens* supports Placozoa as the basal lower metazoan phylum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, vol. 103, no. 23, pp. 8751–8756. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602076103>
 9. DuBuc T. Q., Ryan J. F., Martindale M. Q. “Dorsal–ventral” genes are part of an ancient axial patterning system: Evidence from *Trichoplax adhaerens* (Placozoa). *Molecular Biology and Evolution*, 2019, vol. 6, iss. 5, pp. 966–973. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz025>
 10. Eitel M., Guidi L., Hadrys H., Balsamo M., Schierwater B. New insights into placozoan sexual reproduction and development. *PLoS One*, 2011, vol. 6, iss. 5, art. no. e19639 (9 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019639>
 11. Eitel M., Osigus H. J., DeSalle R., Schierwater B. Global diversity of the Placozoa. *PLoS One*, 2013, vol. 8, iss. 4, art. no. e57131 (12 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057131>
 12. Eitel M., Schierwater B. The phylogeography of the Placozoa suggests a taxon-rich phylum in tropical and subtropical waters. *Molecular Ecology*, 2010, vol. 19, iss. 11, pp. 2315–2327. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04617.x>
 13. Elkhatib W., Smith C. L., Senatore A. A Na⁺ leak channel cloned from *Trichoplax adhaerens* extends extracellular pH and Ca²⁺ sensing for the DEG/ENaC family close to the base of Metazoa. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, vol. 294, iss. 44, pp. 16320–16336. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010542>
 14. Galtsoff P. S. Regeneration after dissociation (an experimental study on sponges). II. Histogenesis of *Microciona prolifera*, verr. *Journal of Experimental Zoology*, 1925, vol. 42, iss. 1, pp. 223–255. <https://doi.org/10.1002/jez.1400420110>
 15. Gildor T., Malik A., Sher N., Avraham L., Ben-Tabou de-Leon S. Quantitative developmental transcriptomes of the Mediterranean Sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine Genomics*, 2016, vol. 25, pp. 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2015.11.013>
 16. Grell K. G. Eibildung und Furchung von *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze (Placozoa). *Zeitschrift für Morphologie der Tiere*, 1972, vol. 73, iss. 4, pp. 297–314. <https://doi.org/10.1007/BF00391925>

17. Grell K. G. Embryonalentwicklung bei *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze. *Naturwissenschaften*, 1971, vol. 58, iss. 11, pp. 570. <https://doi.org/10.1007/BF00598728>
18. Grell K. G., Benwitz G. Elektronenmikroskopische Beobachtungen über das Wachstum der Eizelle und die Bildung der „Befruchtungsmembran“ von *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze (Placozoa). *Zeitschrift für Morphologie der Tiere*, 1974, vol. 79, iss. 4, pp. 295–310. <https://doi.org/10.1007/BF00277511>
19. Grell K. G., Benwitz G. Ergänzende Untersuchungen zur Ultrastruktur von *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze (Placozoa). *Zoomorphology*, 1981, vol. 98, iss. 1, pp. 47–67. <https://doi.org/10.1007/BF00310320>
20. Grell K. G., Ruthmann A. Placozoa. In: *Microscopic Anatomy of Invertebrates*. Vol. 2. *Placozoa, Porifera, Cnidaria, and Ctenophora* / F. W. Harrison, J. A. Westfall (Eds). New York : Wiley-Liss, 1991, pp. 13–28.
21. Gruber-Vodicka H. R., Leisch N., Kleiner M., Hinzke T., Liebeke M., McFall-Ngai M., Hadfield M. G., Dubilier N. Two intracellular and cell type-specific bacterial symbionts in the placozoan *Trichoplax* H2. *Nature Microbiology*, 2019, vol. 4, iss. 9, pp. 1465–1474. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0475-9>
22. Hardy S., Legagneux V., Audic Y., Pailard L. Reverse genetics in eukaryotes. *Biology of the Cell*, 2010, vol. 102, iss. 10, pp. 561–580. <https://doi.org/10.1042/BC20100038>
23. Harris A. K. Cell motility and the problem of anatomical homeostasis. In: *Cell Behaviour: Shape, Adhesion and Motility. The Second Abercrombie Conf. [Proceed.]* / S. E. Heaysman, C. A. Middleton, F. M. Watt (Eds). Cambridge : The Company of Biologists L., 1987, pp. 121–140. (Journal of Cell Science Supplements ; Suppl. 8). https://doi.org/10.1242/jcs.1987.Supplement_8.7
24. Heyland A., Croll R., Goodall S., Kranyak J., Russell W. *Trichoplax adhaerens*, an enigmatic basal metazoan with potential. In: *Developmental Biology of the Sea Urchin and Other Marine Invertebrates: Methods and Protocols* / D. J. Carroll, S. A. Stricker (Eds). Totowa, NJ : Humana, 2014, pp. 45–61. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-974-1_4
25. Jackson A. M., Buss L. W. Shiny spheres of placozoans (*Trichoplax*) function in anti-predator defense. *Invertebrate Biology*, 2009, vol. 128, iss. 3, pp. 205–212. <https://doi.org/10.1111/J.1744-7410.2009.00177.X>
26. Jakob W., Sagasser S., Dellaporta S., Holland P., Kuhn K., Schierwater B. The *Trox-2* Hox/ParaHox gene of *Trichoplax* (Placozoa) marks an epithelial boundary. *Development Genes and Evolution*, 2004, vol. 214, iss. 4, pp. 170–175. <https://doi.org/10.1007/s00427-004-0390-8>
27. Kamm K., Osigus H. J., Stadler P. F., DeSalle R., Schierwater B. *Trichoplax* genomes reveal profound admixture and suggest stable wild populations without bisexual reproduction. *Scientific Reports*, 2018, vol. 8, iss. 1, art. no. 11168 (11 p.). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29400-y>
28. Kamm K., Schierwater B., DeSalle R. Innate immunity in the simplest animals – placozoans. *BMC Genomics*, 2019, vol. 20, iss. 1, art. no. 5 (12 p.). <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5377-3>
29. Kuhl W., Kuhl G. Bewegungsphysiologische Untersuchungen an *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze. *Zoologischer Anzeiger Supplement*, 1963, vol. 26, pp. 460–469.
30. Kuhl W., Kuhl G. Untersuchungen über das Bewegungsverhalten von *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze (Zeittransformation: Zeitraf-fung). *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*, 1966, vol. 56, iss. 4, pp. 417–435. <https://doi.org/10.1007/BF00442291>
31. Kuznetsov A. V., Halaimova A. V., Ufim-tseva M. A., Chelebjeva E. S. Blocking a chemical communication between *Trichoplax* organisms leads to their disorderly movement. *International Journal of Parallel, Emergent and Distributed Systems*, 2020b, vol. 35, iss. 4, pp. 473–482. <https://doi.org/10.1080/17445760.2020.1753188>
32. Layden M. J., Rentzsch F., Röttinger E. The rise of the starlet sea anemone *Nematostella vectensis* as a model system to investigate development and regeneration. *WIREs Developmental Biology*, 2016, vol. 5, iss. 4, pp. 408–428. <https://doi.org/10.1002/wdev.222>
33. Lenhoff S. G., Lenhoff H. M. *Hydra and the Birth of Experimental Biology, 1744: Abraham Trembley's Memoires Concerning the Polyps*. Pacific Grove, CA : Boxwood Press, 1986. 192 p.
34. Liu L.-P., Xiang J.-H., Dong B., Natarajan P., Yu K.-J., Cai N.-E. *Ciona intestinalis* as an emerging model organism: Its regeneration under controlled conditions and methodology for egg

- dechoriation. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B – Biomedicine & Biotechnology*, 2006, vol. 7, iss. 6, pp. 467–474. <https://doi.org/10.1631/jzus.2006.B0467>
35. Lush M. E., Diaz D. C., Koenecke N., Baek S., Boldt H., St Peter M. K., Gaitan-Escudero T., Romero-Carvajal A., Busch-Nentwich E. M., Perera A. G., Hall K. E., Peak A., Haug J. S., Piotrowski T. scRNA-Seq reveals distinct stem cell populations that drive hair cell regeneration after loss of Fgf and Notch signaling. *eLife*, 2019, vol. 25, art. no. e44431 (31 p.). <https://doi.org/10.7554/eLife.44431>
36. Mayorova T. D., Hammar K., Winters C. A., Reese T. S., Smith C. L. The ventral epithelium of *Trichoplax adhaerens* deploys in distinct patterns cells that secrete digestive enzymes, mucus or diverse neuropeptides. *Biology Open*, 2019, vol. 8, iss. 8, art. no. bio045674 (13 p.). <https://doi.org/10.1242/bio.045674>
37. Mayorova T. D., Smith C. L., Hammar K., Winters C. A., Pivovarova N. B., Aronova M. A., Leapman R. D., Reese T. S. Cells containing aragonite crystals mediate responses to gravity in *Trichoplax adhaerens* (Placozoa), an animal lacking neurons and synapses. *PLoS One*, 2018, vol. 13, iss. 1, art. no. e0190905 (20 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190905>
38. Moroz L. L., Sohn D., Romanova D. Y., Kohn A. B. Microchemical identification of enantiomers in early-branching animals: Lineage-specific diversification in the usage of D-glutamate and D-aspartate. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, vol. 527, iss. 4, pp. 947–952. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.135>
39. Pearse V. B. Growth and behavior of *Trichoplax adhaerens*: First record of the phylum Placozoa in Hawaii. *Pacific Science*, 1989, vol. 43, no. 2, pp. 117–121.
40. Pearse V. B., Voigt O. Field biology of placozoans (*Trichoplax*): Distribution, diversity, biotic interactions. *Integrative & Comparative Biology*, 2007, vol. 47, iss. 5, pp. 677–692. <https://doi.org/10.1093/icb/icm015>
41. Romanova D. Y., Heyland A., Sohn D., Kohn A. B., Fasshauer D., Varoqueaux F., Moroz L. L. Glycine as a signaling molecule and chemoattractant in *Trichoplax* (Placozoa): Insights into the early evolution of neurotransmitters. *NeuroReport*, 2020, vol. 31, iss. 6, pp. 490–497. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001436>
42. Ruthmann A. Cell differentiation, DNA content and chromosomes of *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze. *Cytobiologie*, 1977, vol. 15, iss. 1, pp. 58–64.
43. Ruthmann A., Terwelp U. Disaggregation and reaggregation of cells of the primitive metazoan *Trichoplax adhaerens*. *Differentiation*, 1979, vol. 13, iss. 3, pp. 185–198. <https://doi.org/10.1111/j.1432-0436.1979.tb01581.x>
44. Sambrook J., Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd ed. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001, 2344 p.
45. Schierwater B., Eitel M., Jakob W., Osigus H. J., Hadrys H., Dellaporta S. L., Kolokotronis S. O., Desalle R. Concatenated analysis sheds light on early metazoan evolution and fuels a modern “urmetazoon” hypothesis. *PLoS Biology*, 2009, vol. 7, iss. 1, art. no. e1000020 (9 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000020>
46. Schulze F. E. *Trichoplax adhaerens*, nov. gen., nov. spec. *Zoologischer Anzeiger*, 1883, vol. 6, no. 132, pp. 92–97.
47. Schulze F. E. Über *Trichoplax adhaerens*. *Physikalische Abhandlungen der Königlichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin*, 1891, abh. 1, s. 1–23.
48. Schwartz V. Das radialpolare Differenzierungsmuster bei *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze (Placozoa). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 1984, vol. 39, iss. 7–8, pp. 818–832. <https://doi.org/10.1515/znc-1984-7-822>
49. Sebé-Pedrós A., Chomsky E., Pang K., Lara-Astiaso D., Gaiti F., Mukamel Z., Amit I., Hejnal A., Degnan B. M., Tanay A. Early metazoan cell type diversity and the evolution of multicellular gene regulation. *Nature Ecology & Evolution*, 2018, vol. 2, iss. 7, pp. 1176–1188. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0575-6>
50. Senatore A., Reese T. S., Smith C. L. Neuropeptidergic integration of behavior in *Trichoplax adhaerens*, an animal without synapses. *Journal of Experimental Biology*, 2017, vol. 220, iss. 18, pp. 3381–3390. <https://doi.org/10.1242/jeb.162396>
51. Signorovitch A. Y., Buss L. W., Dellaporta S. L. Comparative genomics of large mitochondria in placozoans. *PLoS Genetics*,

- 2007, vol. 3, iss. 1, art. no. e13 (7 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030013>
52. Smith C. L., Abdallah S., Wong Y. Y., Le P., Har-racksingh A. N., Artinian L., Tamvacakis A. N., Rehder V., Reese T. S., Senatore A. Evolutionary insights into T-type Ca²⁺ channel structure, function, and ion selectivity from the *Trichoplax adhaerens* homologue. *Journal of General Physiology*, 2017, vol. 149, no. 4, pp. 483–510. <https://doi.org/10.1085/jgp.201611683>
53. Smith C. L., Mayorova T. D. Insights into the evolution of digestive systems from studies of *Trichoplax adhaerens*. *Cell and Tissue Research*, 2019, vol. 377, iss. 3, pp. 353–367. <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03057-z>
54. Smith C. L., Pivovarova N., Reese T. S. Coordinated feeding behavior in *Trichoplax*, an animal without synapses. *PLoS One*, 2015, vol. 10, iss. 9, art. no. e0136098 (15 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136098>
55. Smith C. L., Reese T. S., Govezensky T., Barrio R. A. Coherent directed movement toward food modeled in *Trichoplax*, a ciliated animal lacking a nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, vol. 116, no. 18, pp. 8901–8908. <https://doi.org/10.1073/pnas.1815655116>
56. Smith C. L., Varoqueaux F., Kittelmann M., Az-zam R. N., Cooper B., Winters C. A., Eitel M., Fasshauer D., Reese T. S. Novel cell types, neurosecretory cells, and body plan of the early-diverging metazoan *Trichoplax adhaerens*. *Current Biology*, 2014, vol. 24, iss. 14, pp. 1565–1572. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.046>
57. Sommer R. J. The future of evo-devo: Model systems and evolutionary theory. *Nature Reviews Genetics*, 2009, vol. 10, iss. 6, pp. 416–422. <https://doi.org/10.1038/nrg2567>
58. Srivastava M., Begovic E., Chapman J., Putnam N. H., Hellsten U., Kawashima T., Kuo A., Mitros T., Salamov A., Carpenter M. L., Sidorovitch A. Y., Moreno M. A., Kamm K., Grimwood J., Schmutz J., Shapiro H., Grigoriev I. V., Buss L. W., Schierwater B., Delaporta S. L., Rokhsar D. S. The *Trichoplax* genome and the nature of placozoans. *Nature*, 2008, vol. 454, iss. 7207, pp. 955–960. <https://doi.org/10.1038/nature07191>
59. Syed T., Schierwater B. *Trichoplax adhaerens*: Discovered as a missing link, forgotten as a hydrozoan, re-discovered as a key to metazoan evolution. *Vie et Milieu*, 2002, vol. 52, iss. 4, pp. 177–187.
60. Thiemann M., Ruthmann A. Alternative modes of asexual reproduction in *Trichoplax adhaerens* (Placozoa). *Zoomorphology*, 1991, vol. 110, iss. 3, pp. 165–174. <https://doi.org/10.1007/BF01632872>
61. Thiemann M., Ruthmann A. *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze (Placozoa): The formation of swimmers. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 1988, vol. 43, iss. 11–12, pp. 955–957. <https://doi.org/10.1515/znc-1988-11-1224>
62. *Transgenesis Techniques: Principles and Protocols*. 3rd ed. / E. J. Cartwright (Ed.). Totowa, NJ : Humana Press, 2009, 335 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-019-9>
63. Varoqueaux F., Williams E. A., Grandemange S., Truscello L., Kamm K., Schierwater B., Jékely G., Fasshauer D. High cell diversity and complex peptidergic signaling underlie placozoan behavior. *Current Biology*, 2018, vol. 28, iss. 21, pp. 3495–3501. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.08.067>
64. Wenderoth H. Transepithelial cytophagy by *Trichoplax adhaerens* F. E. Schulze (Placozoa) feeding on yeast. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 1986, vol. 41, iss. 3, pp. 343–347. <https://doi.org/10.1515/znc-1986-0316>
65. Wilson H. V. Development of sponges from dissociated tissue cells. *Fishery Bulletin*, 1910, vol. 30, pp. 1–35.
66. Wilson H. V. On some phenomena of coalescence and regeneration in sponges. *Journal of Experimental Zoology*, 1907, vol. 5, iss. 2, pp. 245–258. <https://doi.org/10.1002/jez.1400050204>
67. Zuccolotto-Arellano J., Cuervo-González R. Binary fission in *Trichoplax* is orthogonal to the subsequent division plane. *Mechanisms of Development*, 2020, vol. 162, art. no. 103608 (9 p.). <https://doi.org/10.1016/j.mod.2020.103608>

**TRICHOPLAX SP. H2 CULTIVATION AND REGENERATION
FROM BODY FRAGMENTS AND DISSOCIATED CELL AGGREGATES:
OUTLOOK FOR GENETIC MODIFICATION**

**A. V. Kuznetsov^{1,2}, V. I. Vainer², Yu. M. Volkova²,
V. M. Tsygankova², D. N. Bochko², and V. S. Mukhanov¹**

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

²Sevastopol State University, Sevastopol, Russian Federation

E-mail: andrey.kuznetsov@web.de

Trichoplax sp. H2, a simple multicellular animal cultivated in the laboratory, was studied with the aim of its further genetic modification. The idea here is to introduce genetic information into a cell suspension after dissociation of the *Trichoplax* body into single cells, followed by their aggregation and regeneration of the resulting agglomerates into a viable animal. 1. We analyzed the dynamics of the *Trichoplax* growth in Petri dishes on *Tetraselmis marina* algal mats. Specimens were uniform on the exponential growth stage. 2. Trichoplaxes were cut radially in a post-traumatic regeneration research, and the regeneration of the obtained parts was investigated under a microscope. Growth and reproduction rate of animals on nutrient mats were determined that decreased as the animals had been cut. The missing part of the *Trichoplax* body was replaced by remodeling of remaining cells. 3. The animals after a vital staining were dissociated into single cells in a medium with no divalent cations. Pear-shaped or rounded cells were identified, as well as epithelial cells with flagella maintaining motion activity for more than 12 hours. 4. *Trichoplax* plates were disintegrated in the presence of 10 μ M amlodipine to quantify a cell population using flow cytometry. As estimated, *Trichoplax* (0.5–1 mm in size) consists of approximately 10,000 cells. 5. Treatment of animals with 10 % BSA (Bovine Serum Albumin) during various exposure intervals suggests a hypothesis on the existence of totipotent cells at the periphery of the *Trichoplax* body, probably in the rim. 6. In the course of reparative regeneration experiments, we achieved *Trichoplax* dissociation into single cells with 0.1 % BSA treatment and the following recreation of the viable organisms by centrifugation of a cell suspension and subsequent dispersion of a large pellet into fragments up to 0.1 mm *prior* to plating multicellular aggregates on nutrient mats. 7. The development of the aggregates was accompanied by active motion of cells and epithelialization of the surface, which resulted in cell growth, formation of a plate, and further vegetative division of *Trichoplax*. As assumed, the artificial stage of a single cell in a line of asexual reproductions allows to introduce foreign genetic information into *Trichoplax*, for example, in order to study the signal processing, organization, and functioning of this multicellular organism. Transgenesis, which is based on the dissociation of an animal body into single cells, could be applied to other organisms with high regenerative potential.

Keywords: *Trichoplax*, Placozoa, post-traumatic and reparative regeneration, cell dissociation and aggregation, cellular engineering, methods of transgenesis



СОХРАНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЕТОДАМИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ: ОПЫТ ЮЖНОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН

© 2022 г. Е. Н. Пономарева^{1,2}, А. А. Красильникова¹, М. М. Белая¹, М. В. Коваленко¹

¹Федеральный исследовательский центр Южный научный центр Российской академии наук,
Ростов-на-Дону, Российская Федерация

²Донской государственный технический университет, Ростов-на-Дону, Российская Федерация
E-mail: kafavb@mail.ru

Поступила в редакцию 28.07.2022; после доработки 18.08.2022;
принята к публикации 19.08.2022; опубликована онлайн 13.09.2022.

Одним из перспективных направлений увеличения генетического разнообразия животных является формирование криобанков и долгосрочное хранение репродуктивных клеток в жидком азоте. Известны методы криоконсервации спермы более чем 200 видов рыб. Устойчивость к криоповреждениям спермы у разных видов рыб различается кардинально. Единой методики криоконсервации для рыб нет, так как среда обитания имеет значительные различия для разных видов. В аквакультуре России криоконсервированная сперма в настоящее время используется недостаточно, однако практика диктует необходимость широкого применения криоспермы для решения проблем производства качественного рыбопосадочного материала и для селекционно-племенной работы. В связи с широким развитием аквакультуры создание криобанка является весьма актуальным. Обеспечение товарных и фермерских хозяйств элитным генетическим материалом, способным к воспроизводству в любое время года, позволит не только наладить биотехнологический процесс, но и исключить инбридинг.

Ключевые слова: криобанк, криоконсервация, оценка качества, подвижность

В настоящее время рыбные морские ресурсы истощаются под влиянием антропогенных факторов, многие из которых оказывают необратимое воздействие на внутренние водоёмы (Балыкин и Ходоревская, 2021). При этом численность хозяйственно ценных видов рыб снизилась настолько, что возник вопрос о создании маточных стад, способных восстанавливать нормальное функционирование естественных популяций этих рыб, поддерживать их генетическое разнообразие и интенсифицировать товарное направление аквакультуры, чтобы уменьшить пресс на дикие популяции, существенно подорванные промыслом. Это возможно лишь тогда, когда формирование искусственных популяций и товарное направление в рыбоводстве основываются на генетических принципах, позволяющих снизить вероятность существенного обеднения генофонда восстанавливаемых популяций и выращивать рыб с высокими значениями хозяйственно полезных признаков. Однако формирование маточных стад на рыбоводных предприятиях и управление ими должны базироваться на тех же принципах, что и благополучие природных популяций, основой чего является поддержание оптимального уровня их генетического разнообразия. Криоконсервация — один из методов репродуктивной биологии, имеющий прямое отношение к сохранению биоресурсов с возможностью последующего

восстановления их воспроизводительных функций. В литературных источниках под термином «криоконсервация» обычно понимают хранение биологических объектов при температуре жидкого азота ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$), считающееся результативным, только если клетки или ткани полностью жизнеспособны после отогрева (Амстиславский и др., 2014).

История криоконсервации. Идею замораживать репродуктивные клетки первым выдвинул итальянский врач Мантегацца. В 1866 г. он издал монографию о сохранении способности к оплодотворению эякулята быков и коней после его охлаждения до $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ и оттаивания. Основы науки криобиологии были заложены в конце XIX в. русским учёным П. И. Бахметьевым, который изучал особенности переохлаждения у насекомых и анабиоз у летучих мышей. Французский физиолог П. Беккерель (1904–1936) и австрийский учёный П. Г. Рам (1919–1924) выявили способность различных организмов (микроорганизмов, беспозвоночных), а также семян и спор переносить глубокое охлаждение (до -269 и $-271\text{ }^{\circ}\text{C}$, то есть до температур, близких к абсолютному нулю) в высушенном состоянии. В дальнейшем было доказано, что некоторые животные и растения выживают при замерзании воды, содержащейся в них. Первые пробы замораживания сперматозоидов сельскохозяйственных животных в нашей стране провёл видный русский биолог И. И. Иванов. В 1907 г. он показал, что сперма жеребца после охлаждения до $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ и оттаивания восстанавливала свою оплодотворяющую способность. В 1947 г. И. И. Соколовская, В. К. Милованов и И. В. Смирнов получили потомство от осеменения самок отогретыми сперматозоидами кролика, хранившимися до этого при температуре $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Большое значение имели исследования О. У. Смит и К. Полджа: именно эти специалисты в 1949 г. предложили применять для криоконсервации глицерин. Сохранение фертильной способности сперматозоидов после замораживания — отогрева продемонстрировано на 16 видах млекопитающих, 2 видах моллюсков, 5 видах птиц, 6 видах иглокожих и 1 виде земноводных (Пономарева и др., 2017а).

Первые успешные воспроизводимые результаты криоконсервации сперматозоидов рыб получены для сельди (Blaxter, 1953). Результаты криоконсервации спермы нескольких видов осетровых — белуги *Huso huso* Linnaeus, 1758, стерляди *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758, калуги *Huso dauricus* (Georgi, 1775) и бестера *H. huso* × *A. ruthenus* — впервые получены И. А. Бурцевым и Е. В. Серебряковой (1969). Первая возможность консервации спермы лососёвых была продемонстрирована на примере чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum, 1792); её сперма, хранившаяся в жидком азоте семь суток, показала 77,7 % оплодотворения (Ott & Horton, 1971). Хорошие результаты использования криоконсервированной спермы для оплодотворения икры большеголового и серебряного карпов первым получил А. W. Sin (1974). В 1976 г. при использовании криоспермы обыкновенного карпа *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 доля оплодотворённой икры составила 11 % (Pavlovici & Vlad, 1976). Положительный опыт применения криоконсервированной спермы для восстановления и поддержания популяционной структуры лососей имеется в Исландии, Норвегии и Канаде. Коммерческие криобанки функционируют в США, Норвегии, Японии и Франции.

Перспективы создания криобанка. Известны методики криоконсервации спермы более чем 200 видов рыб. Устойчивость к криоповреждениям спермы у разных видов рыб кардинально различается. Единой методики криоконсервации для рыб нет, поскольку среда обитания разных видов (морских, пресноводных, проходных и оседлых, туводных) имеет сильные различия. Если для морских рыб, устойчивых к высокому осмотическому давлению воды, легко удаётся получить хорошие показатели выживания сперматозоидов после криоконсервации, то для пресноводных и проходных видов необходим поиск криозащитных сред (Asturiano et al., 2017 ; Maisse, 1996 ; Martínez-Páramo et al., 2017). Эксперименты по криоконсервации сперматозоидов и соматических клеток к настоящему времени проведены более чем на 30 видах

морских рыб (Cabrita et al., 2010 ; Mauger et al., 2006 ; Suquet et al., 2000). Доля сперматозоидов, выживших и активных после криоконсервации, намного выше у морских видов рыб (80–90 %), чем у пресноводных (40–50 %) (Scott & Baynes, 1980).

В России для аквакультуры в настоящее время криоконсервированная сперма используется недостаточно, однако практические возможности позволяют широко применять криотехнологии для воспроизводства качественного рыбопосадочного материала, а также для селекционно-племенной работы. В связи с повсеместным развитием аквакультуры создание криобанка весьма перспективно и актуально. Товарные и фермерские хозяйства будут обеспечены элитным генетическим материалом, способным к воспроизводству вне зависимости от наличия самцов, и смогут не только наладить биотехнологический процесс, но и исключить инбридинг (Савушкина, 1999 ; Cabrita et al., 2015 ; Zhang, 2018).

Создание криобанка позволяет:

1. Сохранять генетическую информацию редких, исчезающих, хозяйственно ценных видов животных в жидком азоте в течение десятков лет. Хранение замороженных клеток при $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ возможно до 50 и более лет без возникновения существенного количества аномальных участков ДНК.
2. Перевозить генетический материал в места сокращения или исчезновения популяций для восстановления вида.
3. Обеспечить возможности для селекционно-генетических работ.
4. Создать и сохранить генетическую коллекцию различных видов гидробионтов.

При проектировании и строительстве фермерских рыбоводных хозяйств следует предусмотреть наличие регионального криобанка: это существенно облегчит их работу в дальнейшем. Ежегодное обновление маточных стад будет способствовать «вливанию свежей крови» и омоложению стада, а также позволит минимизировать количество самцов на предприятиях. Затраты на сбор и хранение генетического материала в пять раз меньше затрат на корма для рыб. Деятельность криобанка сможет способствовать развитию аквакультуры в регионах.

Отличия криобанка-репродуктора от существующих аналогов:

1. Криобанк-репродуктор позволяет не только хранить генетический материал, но и обеспечивать рыбоводные предприятия нужным количеством спермы в удобное время.
2. Через обмен криоконсервированной спермой между рыбоводными хозяйствами будет происходить расширение генетического разнообразия и, как следствие, повышение качества молоди. Обмен нативной спермой не всегда возможен и удобен, так как сроки проведения нерестовых мероприятий на предприятиях различаются, а при существенной их удалённости друг от друга возникает проблема потери качества при транспортировке.
3. Криобанк-репродуктор предоставит возможность рыбоводным хозяйствам сохранить сперму, оставшуюся после оплодотворения, в замороженном виде и впоследствии её использовать.
4. Образцы спермы в криобанке позволяют предприятиям уменьшить количество самцов в маточном стаде. Это повлечёт за собой снижение затрат на содержание рыбы или замену части самцов самками для получения большего количества молоди либо пищевой икры.
5. Применение методов криоконсервации спермы рыб с высокой выживаемостью после замораживания — оттаивания позволяет получать физиологически полноценное потомство.

Для обеспечения деятельности криобанка необходимо правовое регулирование, позволяющее покупку материала у рыбоводных предприятий, а также использование на них криоспермы.

При формировании криобанков репродуктивных клеток самцов важно заложить на хранение материал высокого качества. Знание специфических морфофизиологических особенностей репродуктивных клеток рыб позволит создавать более эффективные методики криоконсервации, учитывающие необходимость сочетания проникающих и непроникающих криопротекторов,

осмотически активных соединений и антифризов, а также включение в среды стабилизаторов клеточных мембран и антиоксидантов. Это даёт возможность надёжно защищать спермии рыб от криповреждений при замораживании — оттаивании и оптимизировать на этой основе все этапы криоконсервации. Масштаб описанной проблемы определяется охватом исследований большой группы хозяйственно ценных, аборигенных, уникальных и исчезающих видов рыб, которые могут быть использованы, в частности, для выращивания и спасения исчезающих видов. Криоконсервированная сперма может стать источником генофонда того или иного вида в селекционном процессе.

Криобанк Южного научного центра РАН. Специалисты ЮНЦ РАН начали работы по криоконсервации репродуктивных клеток редких и исчезающих видов рыб южных морей России в 2004 г. Важнейшей задачей наших исследований является оптимизация процесса криоконсервации спермы рыб методом подбора оптимальных криопротекторов и снижения их негативного воздействия на клетки. В процессе криоконсервации происходят кристаллизация внутриклеточной и внеклеточной воды, а также разрушение мембран половых клеток, что ведёт к их гибели. Для защиты клеток от разрушений используют криопротекторы и стабилизаторы мембран. Лучшему проникновению протекторов внутрь клеток способствуют различные методы стимуляции (химическая, механическая, магнитная и т. д.). Одним из перспективных направлений в работах по криоконсервации является электростимуляция.

Первые эксперименты были проведены со спермой русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzeburg, 1833, которую получили с Бертюльского осетрового завода Астраханской области. В исследованиях по криоконсервации использовали сперму активностью 4 и 5 баллов по шкале Г. М. Персова (1953). В качестве криопротекторов применяли среду Штайна (NaCl, KCl, NaHCO₃, глюкоза, 12,5 % яичного желтка, 12,5 % ДМСО) и разработанную нами криосреду (NaCl, KCl, NaHCO₃, CaCl₂, маннит, сахароза, 10 % яичного желтка, 10 % ДМСО). Замораживание проводили по методике Л. И. Цветковой и С. И. Савушкиной (1997). Выявлена высокая (до 85 %) выживаемость; это значение выше, чем у дефростированной спермы, которая была заморожена с разработанной криосредой. Экспериментально установлены оптимальные параметры электрического сигнала, при которых увеличиваются выживаемость и время активности сперматозоидов, — частота 20 Гц и амплитуда 150 мВ. Получена дефростированная сперма лучшего качества по обоим показателям при воздействии электрическим сигналом в течение 1 мин; выживаемость сперматозоидов русского осетра составила 50 %, время жизни — 290 с; значения для севрюги — 56 % и 693 с соответственно.

С 2007 г. специалисты проводят работы с белорыбницей *Stenodus leucichthys* (Güldenstädt, 1772). Её икра была оплодотворена спермой, хранившейся два года в жидком азоте. Воздействие электрическим током в период эквilibрации и выведение протектора во время дефростации половых клеток повышают выживаемость половых клеток осетровых рыб в 1,4–1,6 раза. При использовании электростимуляции на этапе эквilibрации возрастает проницаемость мембран, и криопротекторы, проникая внутрь клеток, предохраняют их от повреждений в процессе замораживания. Выживаемость сперматозоидов с применением электростимуляции после дефростации увеличивается по сравнению с выживаемостью спермы, замороженной по традиционной методике (90 % и 60 % соответственно). Сперму такого высокого качества можно рекомендовать для искусственного осеменения икры. При проведении экспериментов по осеменению икры дефростированной спермой успешность оплодотворения составила 80–96 % у русского осетра и 64–84 % — у севрюги. Успешность оплодотворения тех же партий икры на осетровом рыболовном заводе достигла 75–80 %. Полученные результаты свидетельствовали о высоком качестве криоконсервированной спермы (Богатырева, 2010 ; Красильникова, 2015 ; Красильникова и Тихомиров, 2018 ; Пономарева и др., 2017b).

Таким образом, установлено, что глубокая заморозка спермы русского осетра и хранение её в жидком азоте при температуре $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение двух лет не оказывают негативного влияния на качество дефростированной спермы, а также на эмбриональное развитие и морфометрические показатели личинок и молоди русского осетра. Именно поэтому использование дефростированных половых клеток для искусственного осеменения икры целесообразно в условиях недостатка производителей на осетровых рыбоводных предприятиях.

Совместно с сотрудниками Института биофизики клетки РАН нами разработан способ снижения низкотемпературного скачка при кристаллизации растворов криопротекторов, позволяющего повысить целостность дефростированных клеток после криоконсервации. Суть в следующем: в способе, включающем замораживание криораствора с биологическим материалом в жидком азоте, до операции замораживания раствора криопротекторов с клетками живых организмов осуществляют дистанционное воздействие на этот раствор ультразвуковым излучением частотой 0,50–10 МГц (Патент 2540598 РФ, 2015). Установлена зависимость между объёмом замораживаемого материала и выживаемостью после оттаивания (Красильникова и Тихомиров, 2014а), описана возможность замораживания семенной жидкости на сетках в виде тонкой плёнки (Krasilnikova & Tikhomirov, 2014b). Также установлена эффективность снижения объёмов отравляющих веществ в составе криозащитной среды для сперматозоидов осетровых видов рыб, что, в свою очередь, уменьшило токсическое действие последней на объект и привело к повышению времени жизни дефростированных клеток (Красильникова и Тихомиров, 2015). Полученные результаты позволяют рекомендовать корректировку концентрации проникающих протекторов в криозащитном растворе в зависимости от количества внутриклеточной воды для повышения выживаемости репродуктивных клеток самцов рыб после двойного температурного шока.

Банк спермы осетровых и других видов рыб пополняется в криобанке ЮНЦ с 2006 г. Все репродуктивные клетки замораживают по технологическим методам, разработанным учёными центра. Сбор материала производят на рыбоводных предприятиях Астраханской, Волгоградской и Ростовской областей, что обеспечивает возможность обмена генетическим материалом в пределах Южного федерального округа России (табл. 1).

Таблица 1. Коллекция репродуктивных клеток рыб в криобанке Южного научного центра РАН

Table 1. Collection of fish reproductive cells in the cryobank of the Southern Scientific Center of the RAS

Вид	Количество образцов
Русский осётр <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> Brandt & Ratzeburg, 1833	398
Сибирский осётр ленокской популяции <i>Acipenser baerii</i> Brandt, 1869	224
Севрюга <i>Acipenser stellatus</i> Pallas, 1771	38
Шип <i>Acipenser nudiiventris</i> Lovetsky, 1828	196
Бестер <i>Huso huso</i> Linnaeus, 1758 × <i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	125
Белуга <i>Huso huso</i> Linnaeus, 1758	105
Стерлядь <i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	337
Веслонос <i>Polyodon spathula</i> (Walbaum, 1792)	20
Амурский осётр <i>Acipenser schrenckii</i> Brandt, 1869	50
Белорыбица <i>Stenodus leucichthys leucichthys</i> (Güldenstädt, 1772)	140

Сохранённый генетический материал можно использовать для восполнения дефицита производителей и коррекции существующих технологий искусственного воспроизводства редких и исчезающих видов рыб. Таким образом, криоконсервация репродуктивных клеток самцов рыб является актуальным направлением в стратегии сохранения генетического биоразнообразия, а также развития рыбного хозяйства и аквакультуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 21-16-00118 с использованием Биоресурсной коллекции редких и исчезающих видов рыб ЮНЦ РАН № 73602.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Амстиславский С. Я., Абрамова Т. О., Брусенцев Е. Ю., Кизилова Е. А. Криоконсервация и сохранение биоразнообразия // *Природа*. 2014. № 9. С. 24–33. [Amstislavsky S. Ya., Abramova T. O., Brusentsev E. Yu., Kizilova E. A. Cryopreservation and conservation of biodiversity. *Priroda*, 2014, no. 9, pp. 24–33. (in Russ.)]
2. Балыкин П. А., Ходоревская Р. П. Состояние рыболовства в южном районе Волго-Каспийского рыбохозяйственного бассейна // *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*. 2021. № 3. С. 7–16. [Balykin P. A., Khodorevskaya R. P. State of fisheries in south region of Volgo-Caspian fisheries basin. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*, 2021, no. 3, pp. 7–16. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2021-3-7-16>
3. Богатырева М. М. *Оптимизация методов криоконсервации спермы для сохранения генофонда осетровых рыб* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.06. Астрахань, 2010. 20 с. [Bogatyreva M. M. *Optimizatsiya metodov kriokonservatsii spermy dlya sokhraneniya genofonda osetrovyykh ryb* : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.02.06. Astrakhan, 2010, 20 p. (in Russ.)]
4. Бурцев И. А., Серебрякова Е. В. *Долгосрочное хранение спермы при низкой температуре* : методическое пособие. Москва, 1969. 5 с. [Burtsev I. A., Serebryakova E. V. *Dolgosrochnoe khraneniye spermy pri nizkoi temperature* : metodicheskoye posobie. Moscow, 1969, 5 p. (in Russ.)]
5. Красильникова А. А. *Совершенствование процесса криоконсервации репродуктивных клеток самцов рыб* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.04.01. Астрахань, 2015. 24 с. [Krasilnikova A. A. *Sovershenstvovaniye protsessiya kriokonservatsii reproduktivnykh kletok samtsov ryb* : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 06.04.01. Astrakhan, 2015, 24 p. (in Russ.)]
6. Красильникова А. А., Тихомиров А. М. Корреляция объёмов эндоцеллюлярного протектора в криозащитных средах и внутриклеточной жидкости сперматозоидов осетровых рыб // *Естественные науки*. 2015. № 3 (52). С. 96–102. [Krasilnikova A. A., Tikhomirov A. M. Correlation of volumes of intracellular fluid of spermatozoa and endocellular protector in cryoprotective media for sturgeon fishes. *Estestvennye nauki*, 2015, no. 3 (52), pp. 96–102. (in Russ.)]
7. Красильникова А. А., Тихомиров А. М. Объём замораживаемого образца как один из факторов выживаемости сперматозоидов осетровых видов рыб при криоконсервации // *Естественные науки*. 2014а. № 2 (47). С. 62–69. [Krasilnikova A. A., Tikhomirov A. M. The volume of the frozen sample as one of factors of survival of spermatozoa of sturgeon species at the cryopreservation. *Estestvennye nauki*, 2014a, no. 2 (47), pp. 62–69. (in Russ.)]
8. Красильникова А. А., Тихомиров А. М. Получение жизнеспособной молоди русского осетра с применением криоконсервированной спермы и оценка поведенческих реакций криопотомства // *Сельскохозяйственная биология*. 2018. Т. 53, № 4. С. 762–768. [Krasilnikova A. A., Tikhomirov A. M. Reproduction of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) viable juveniles using cryopreserved sperm and behavioral reactions of the cryo-progeny. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*, 2018, vol. 53, no. 4, pp. 762–768. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.4.762rus>
9. Патент 2540598 РФ. *Способ снижения низкотемпературного скачка растворов криопротекторов* / Андреев А. А., Садикова Д. Г., Пономарева Е. Н., Красильникова А. А., Белая М. М. ; заявитель и патентообладатель Астраханский государственный технический университет (ФГБОУ ВПО АГТУ), Южный научный центр Российской академии наук (ФГБУН ЮНЦ РАН). № 2013125414/13 ; заявл. 31.05.2013 ; опублик. 10.02.2015 ; Бюл. № 4. 5 с. [Patent 2540598 RF. *Sposob snizheniya nizkotemperaturnogo skachka rastvorov krioprotektorov* / Andreev A. A., Sadikova D. G., Ponomareva E. N., Krasilnikova A. A., Belaya M. M. ; zayavitel' i patentoobladatel' Astrakhanskii gosudarstvennyi tekhnicheskii

- universitet (FGBOU VPO AGTU), Yuzhnyi nauchnyi tsentr Rossiiskoi akademii nauk (FGBUN YuNTs RAN). No. 2013125414/13 ; zayavl. 31.05.2013 ; opubl. 10.02.2015 ; Byul. no. 4. 5 p. (in Russ.)]
10. Персов Г. М. Дозирование спермиев как способ управления оплодотворением яйцеклеток осетровых // *Доклады АН СССР*. 1953. Т. 90, № 6. С. 1183–1185. [Persov G. M. Dozirovanie spermiev kak sposob upravleniya oplodotvoreniiem yaitsekletok osetrovykh. *Doklady AN SSSR*, 1953, vol. 90, no. 6, pp. 1183–1185. (in Russ.)]
 11. Пономарева Е. Н., Красильникова А. А., Фирсова А. В., Белая М. М. Криоконсервация репродуктивных клеток рыб: история и перспективы // *Рыбное хозяйство*. 2017а. № 4. С. 85–88. [Ponomareva E. N., Krasilnikova A. A., Firsova A. V., Belaya M. M. Cryopreservation of fish reproductive cells: History and prospects. *Rybnoe khozyaistvo*, 2017а, no. 4, pp. 85–88. (in Russ.)]
 12. Пономарева Е. Н., Неваленный А. Н., Белая М. М., Красильникова А. А. Использование криоконсервированной спермы для формирования маточного стада стерляди // *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*. 2017б. № 4. С. 118–127. [Ponomareva E. N., Nevalennyu A. N., Belaya M. M., Krasilnikova A. A. Using cryopreserved sperm for creating sterlet brood stock. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*, 2017b, no. 4, pp. 118–127. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2017-4-118-127>
 13. Савушкина С. И. Воспроизводство осетровых рыб с использованием криоконсервированной спермы // *Рыбное хозяйство. Серия «Аквакультура»: информационный пакет ВНИЭРХ. «Проблемы сохранения геномов рыб»*. Москва : ВНИЭРХ, 1999. Вып. 1. С. 39–42. [Savushkina S. I. Vosproizvodstvo osetrovykh ryb s ispol'zovaniem kriokonservirovannoi spermy. In: *Rybnoe khozyaistvo. Seriya "Akvakul'tura": informatsionnyi paket VNIERKh. "Problemy sokhraneniya genotov ryb"*. Moscow : VNIERKh, 1999, iss. 1, pp. 39–42. (in Russ.)]
 14. Цветкова Л. И., Савушкина С. И. *Методическое пособие по криоконсервации спермы карпа, лососёвых и осетровых видов рыб*. Москва : ВНИИПРХ, 1997. 11 с. [Tsvetkova L. I., Savushkina S. I. *Metodicheskoe posobie po kriokonservatsii spermy karpa, lososevykh i osetrovykh vidov ryb*. Moscow : VNIIPRKh, 1997, 11 p. (in Russ.)]
 15. Asturiano J. F., Cabrita E., Horváth Á. Progress, challenges and perspectives on fish gamete cryopreservation: A mini-review. *General and Comparative Endocrinology*, 2017, vol. 245, pp. 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.06.019>
 16. Blaxter J. H. S. Sperm storage and cross-fertilization of spring and autumn spawning herring. *Nature*, 1953, vol. 172, pp. 1189–1190. <https://doi.org/10.1038/1721189b0>
 17. Cabrita E., Sarasquete C., Martínez-Páramo S., Robles V., Beirão J., Pérez-Cerezales S., Herráez M. P. Cryopreservation of fish sperm: Applications and perspectives. *Journal of Applied Ichthyology*, 2010, vol. 26, iss. 5, pp. 623–635. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01556.x>
 18. Cabrita E., Labbé C., Horváth Á., Herráez P., Robles V., Asturiano J. F., Tiersch T., Martínez-Páramo S. Cryobanking in aquatic species: Applications and perspectives in fish germ cells. *Cryobiology*, 2015, vol. 71, iss. 3, pp. 556. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.10.082>
 19. Krasilnikova A. A., Tikhomirov A. M. Alternative methods of preparation of fish sperm to freeze at ultra-high values of cooling rate. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*, 2014b, no. 2, pp. 72–78.
 20. Maisse G. Cryopreservation of fish semen: A review. In: *Refrigeration and Aquaculture : proceedings of the conference of IIR Commission C2 : Bordeaux colloquium, Bordeaux, France, 20–22 March, 1996*. Paris : L'Institut International du Froid, 1996, pp. 443–457.
 21. Martínez-Páramo S., Horváth Á., Labbé C., Zhang T., Robles V., Herráez P., Suquet M., Adams S., Viveiros A., Tiersch T. R., Cabrita E. Cryobanking of aquatic species. *Aquaculture*, 2017, vol. 472, pp. 156–177. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.042>
 22. Mauger P.-E., Le Bail P.-Y., Labbé C. Cryobanking of fish somatic cells: Optimizations of fin explant culture and fin cell cryopreservation. *Comparative Biochemistry*

- and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2006, vol. 144, iss. 1, pp. 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.01.004>
23. Ott A. G., Horton H. F. Fertilization of chinook and coho salmon eggs with cryopreserved sperm. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 1971, vol. 28, no. 5, pp. 745–748. <https://doi.org/10.1139/f71-102>
24. Pavlovici L., Vlad C. Some data on the preservation of carp (*Cyprinus carpio* L.) seminal material by freezing. *Review Cresterea Animals*, 1976, no. 4, pp. 45–48. (Can. Fish. Mar. Serv. Transl. Ser. ; 3965).
25. Scott A. P., Baynes S. M. A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. *Journal of Fish Biology*, 1980, vol. 17, iss. 6, pp. 707–739. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02804.x>
26. Sin A. W. Preliminary results on cryogenic preservation of sperm of silver carp and bighead. *Hong Kong Fisheries Bulletin*, 1974, vol. 4, pp. 33–36.
27. Suquet M., Dreanno C., Fauvel C., Cosson J., Billard R. Cryopreservation of sperm in marine fish. *Aquaculture Research*, 2000, vol. 31, iss. 3, pp. 231–243. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00445.x>
28. Zhang T. Importance of cryobanking in aquatic species conservation and aquaculture. *Cryobiology*, 2018, vol. 80, pp. 169. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.10.059>

PRESERVATION OF BIOLOGICAL DIVERSITY BY CRYOPRESERVATION METHODS: EXPERIENCE OF THE SOUTHERN SCIENTIFIC CENTER OF THE RAS

E. N. Ponomareva^{1,2}, A. A. Krasilnikova¹, M. M. Belaya¹, and M. V. Kovalenko¹

¹Federal Research Center Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russian Federation

²Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russian Federation
E-mail: kafavb@mail.ru

One of the promising directions for increasing animal genetic diversity is the formation of cryobanks and long-term storage of reproductive cells in liquid nitrogen. Methods of sperm cryopreservation are known for more than 200 fish species. The resistance to sperm cryodamage in different fish species varies dramatically. There is no unified cryopreservation technique for fish since the habitats vary greatly for different species. In Russia, cryopreserved sperm is currently used extremely insufficiently in aquaculture, but the practice dictates the need for widespread use of cryosperm to solve the problems of producing high-quality fish seed material and for breeding work. The formation of cryobanks is very relevant due to extensive development of aquaculture. Providing commercial and farm enterprises with elite genetic material capable of reproduction at any time of the year will allow not only to set up a biotechnological process, but also to eliminate inbreeding.

Keywords: cryobank, cryopreservation, quality assessment, mobility



**BENTHIC ALGAE COMMUNITIES OF CORAL REEFS
IN THE SANYA BAY (HAINAN ISLAND, CHINA)
IN SITES HEAVILY POLLUTED WITH NUTRIENTS
AND THEIR CHANGES AFTER THE POLLUTION SOURCE ELIMINATION**

© 2022 E. A. Titlyanov¹, T. V. Titlyanova¹, X. Li², O. S. Belous¹, and H. Huang^{3,4}

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

²State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea, College of Marine Science,
Hainan University, Haikou, China

³Key Laboratory of Tropical Marine Bioresources and Ecology, South China Sea Institute of Oceanology,
Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, China

⁴Tropical Marine Biological Research Station in Hainan, Chinese Academy of Sciences, Sanya, China
E-mail: etitlyanov@mail.ru

Received by the Editor 22.03.2021; after reviewing 27.10.2021;
accepted for publication 19.08.2022; published online 13.09.2022.

It was previously found that extremely high concentrations of nutrients in seawater in the polluted area of a fish farm on the Luhuitou Peninsula (the Sanya Bay) cause a significant reduction in species diversity and abundance of low-productive annual and perennial red and brown algae, as well as an increase in number and biomass of highly productive green algae. In 2017–2019, for the first time, we studied changes in the number and structure of benthic algal communities over a range of tidal zones in the Sanya Bay after the pollution source elimination – the fish farm liquidation. It was shown that a decrease in the concentration of dissolved inorganic nitrogen (DIN) (from ~ 20 to 2.5 μM) and orthophosphates (from 5.0 to 0.2 μM) in seawater significantly altered diversity, species composition, and structure of benthic algal communities. One and half years after the pollution source elimination, the main indicators of the flora became, on average, close to those of the moderately polluted areas of the Sanya Bay.

Keywords: seaweeds, Hainan Island, China, eutrophication, restoration

Species diversity and floristic ratios of main algal groups vary between clean and nutrient-polluted areas, as reported in previous studies (Lapointe et al., 2005a, b ; Morand & Briand, 1996 ; Morand & Merceron, 2004). As shown in our earlier investigations, the Sanya Bay is polluted with nutrients derived from urban wastewater and waste of mariculture farms. In seawater around reefs, mean concentrations of dissolved inorganic nitrogen (hereinafter DIN) and orthophosphates are 3.3 and 0.33 μM , respectively (Li, 2011). On oceanic atolls of Australia, French Polynesia, and other tropical regions, the contents of these substances in seawater are within ranges of 0.10–0.11 and 0.03–0.06 μM , respectively (Charpy et al., 1998 ; Charpy-Roubaud & Charpy, 1994 ; Furnas et al., 1997). Meanwhile, our previous research (Titlyanov et al., 2011, 2018) revealed that diversity and composition of macroalgal species, as well as their seasonal shifts, in the Sanya Bay are likely to be similar to those of relatively clean, unpolluted areas of the Indo-Pacific Ocean.

We assumed that mean seawater pollution by dissolved forms of nitrogen and phosphorus was not high enough to cause serious changes in the marine flora of the Sanya Bay. In this regard, we continued our investigations on the benthic flora in extremely polluted coastal areas subjected to extensive discharge from a grouper fish farm (Li et al., 2021, 2016). This farm covered an area of $\sim 3,500 \text{ m}^2$. The volume of effluents directly discharged into surrounding waters of Luhuitou reef was about $4,000 \text{ tons}\cdot\text{year}^{-1}$. According to the data obtained in 2013–2016 (Li et al., 2016), the mean value of DIN was $\sim 190 \mu\text{M}$ at the grouper farm outlet, with a range ~ 30 to $\sim 700 \mu\text{M}$. However, the value significantly decreased (down to $\sim 20 \mu\text{M}$) in intertidal and upper subtidal zones opposite the outlet and reduced down to $\sim 9 \mu\text{M}$ at 100 m from the outlet (in front of the Marine Biological Station). The content of phosphates decreased from $\sim 10 \mu\text{M}$ at the outlet to $\sim 3 \mu\text{M}$ in the area opposite the outlet and to $\sim 0.2 \mu\text{M}$ opposite the Marine Biological Station. Our previous works showed that heavily polluted areas significantly differ from moderately polluted ones in terms of floral diversity, species composition, taxonomic composition, and structure of algal communities (Li et al., 2021, 2016).

In October 2017, this fish farm was liquidated, and we had a unique opportunity to trace the dynamic restoration of the marine flora on coral reef damaged by the farm discharges. In our earlier work (Li et al., 2021), we documented a significant increase in species diversity, as well as a change in the composition of main taxonomic groups and life forms of the benthic flora in the investigated coastal area 1.5 years after the fish farm liquidation. In the present work, we aimed at studying possible changes in number and structure of benthic algal communities on the Luhuitou Peninsula coast after the elimination of the fish farm – the key source of extreme pollution for the vicinity.

MATERIAL AND METHODS

Study sites and conditions. Investigations were carried out at Luhuitou fringing reef, the Sanya Bay, Hainan Island, China. Hainan Island (Fig. 1) is located in the subtropical northern periphery of the Indo-Pacific Ocean, in the South China Sea. Main coastal ecosystems of Hainan Island shallow waters are those of coral reefs – one of the most well-known fringing reefs in China. However, almost 80 % of the fringing reefs along Hainan Island coastline were damaged because of intensive human activities in the 1970s–1990s – fishing with dynamite and coral mining for lime and construction. Recently, eutrophication of Hainan coastal waters, particularly in the shallow gulfs, increased due to growing tourist flow, hotel construction along the coast, and mariculture in coastal ponds and pools with wastes draining into the sea (Titlyanov et al., 2011).

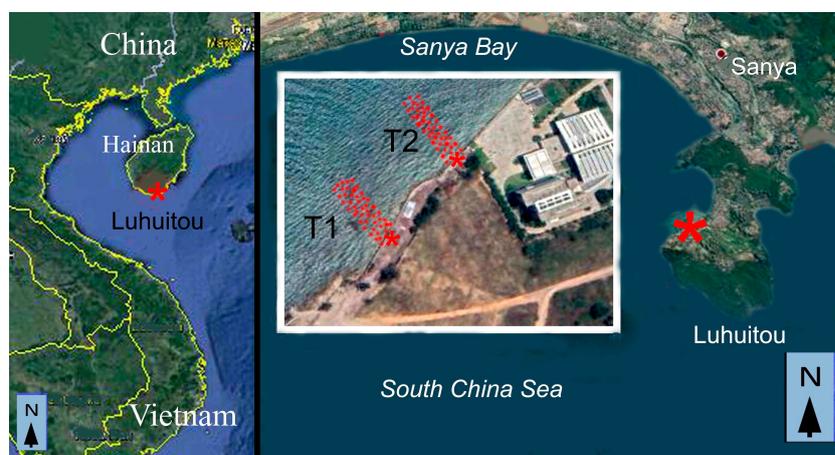


Fig. 1. Study sites on Hainan Island: T1, transect 1, opposite the former outlet of wastewater from the mariculture farm (ponds); T2, transect 2, located at the distance of 100 m from the transect 1

Рис. 1. Участки исследований на острове Хайнань: T1 — трансекта 1, напротив бывшего стока сточных вод марикультурной фермы (прудов); T2 — трансекта 2, расположенная на расстоянии 100 м от трансекты 1

Sampling time and sites. Algae were sampled at the late dry season in March 2017 (while there was the fish farm), March 2018 (0.5 years after the fish farm elimination), and March 2019 (1.5 years after the elimination). In the study area, the dry season lasts from December-January to March-April. The main meteorological and hydrological characteristics of the study area during the dry seasons are given in Table 1.

Algae were sampled on foot or *via* snorkeling from a depth of 0–2 m during low tides, along two transects from the upper intertidal to the upper subtidal zone (Figs 1, 2). Transects were laid perpendicular to a shore, and algae were sampled along these transects within the bottom area of 20–30 m × 50–70 m.

Transect 1 (hereinafter T1) was laid from the fish farm outlet; transect 2 (hereinafter T2) was located at the distance of ~ 100 m (along shoreline) from T1. Samples were taken from all the substrate types. To study the species composition of the benthic flora and taxonomic composition of algal communities, we used the methods of algal sampling and material processing described in (Titlyanov et al., 2019).

Table 1. Concentrations of DIN and orthophosphates (μM) in the upper subtidal zone in the study sites at high tide on the first day of algal sampling in 2018 and 2019; * denotes mean data for 4 years (Li et al., 2016)

Таблица 1. Концентрации растворённого неорганического азота (DIN) и ортофосфатов (PO_4) (μM) в верхней сублиторали на исследуемых участках в период прилива в первый день отбора водорослей в 2018 и 2019 гг.; * — средние данные за 4 года (Li et al., 2016)

Transect	2013–2016*		2018		2019	
	DIN*	PO_4 *	DIN	PO_4	DIN	PO_4
T1	31.3 ± 17.6	4.7 ± 3.1	2.65 ± 0.26	0.24 ± 0.03	3.05 ± 0.73	0.19 ± 0.01
T2	7.1 ± 2.2	1.0 ± 0.2	2.18 ± 0.34	0.19 ± 0.02	2.35 ± 0.86	0.19 ± 0.02

Along the transects, in each tidal zone, algal turf communities (with thalli less than 5 cm in height), crust algae, and large upright-growing algae (with thalli more than 5 cm in height) were visually identified. These communities were photographed at a right angle. In communities of algal turf and crust algae, samples were taken from three randomly selected areas, with each area of ~ 100 cm². In communities of upright-growing algae, samples were taken from three areas as well, with each ranging 0.5–1.0 m². Samples were taken from all the selected algal communities – in at least three quadrats from each community. A total of 54 macrophyte communities and blue-green algae were found; out of them, 162 samples were taken and analyzed; and out of them, 170 species of macrophytes and 13 species of blue-green algae were recorded (Li et al., 2021).

Sampling was carried out from the upper intertidal to the upper subtidal zone from all the substrate types [tidal zones were divided according to (Perestenko, 1980)]. At the investigated sites, the upper intertidal zone consisted of a sloping shore (2–3 m in width), with hard substrates composed of stones and dead coral fragments of various shapes and sizes tossed by storms. The sloping shore of the middle intertidal zone (~ 10 m in width) mainly consisted of flat carbonate patches interspersed with coral debris and stones. The lower intertidal zone (~ 15 m in width) was primarily composed of dead colonies of massive and branching corals interspersed with sand and small fragments of dead branching corals. The upper subtidal zone consisted of a sloping shore (~ 50 m in width) mainly composed of dead and live colonies of massive and branching corals interspersed with sand, stones, and dead coral fragments of various shapes and sizes.

Marine algae sampling, conservation, and identification. Sampling was carried out at each site from each tidal zone. Abundance was visually determined based on photographs of analyzed quadrats – by estimating the mean substrate surface area occupied by algae. The following indicators of abundance were used: rare sighting, found only one-two times with the relative substrata coverage less than 10 %; common, recorded in most quadrats with the relative substrata coverage 10 to 50 %;

and abundant, registered in communities with the relative substrata coverage 50 to 100 %. For the communities, dominance was also visually determined and defined as follows: monodominant, with one algal species occupying more than 50 % of the surface area; bidominant, with two species occupying more than 50 % of the surface area; and polydominant, with more than two species predominating.

Algae sampled from different communities were stored in separate plastic bags placed in a refrigerator for a processing time. Freshly sampled material was identified using monographic publications, results of floristic studies, and systematic articles indicated in (Titlyanova et al., 2014). The systematics and nomenclature followed (AlgaeBase, 2021). Hierarchical classification of the phylum Rhodophyta (hereinafter Rh) was carried out according to (Saunders & Hommersand, 2004). The classification system of phyla Chlorophyta (hereinafter Ch) and Ochrophyta (hereinafter Ph) followed (Tsuda, 2003, 2006). The collections of both macrophytes and their epiphytes were preserved as dried herbarium specimens and deposited in the herbarium at A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology FEB RAS, Institute of Marine Biology (Vladivostok, Russian Federation).

Nutrient analysis. For nutrient analysis, bottom water samples were taken along T1 and T2 areas in the upper subtidal zones during high tide on the first day of algal sampling, immediately filtered through pre-weighed glass-fiber filters (Whatman GF/F, 47 mm), and frozen at -20°C . DIN (NH_4 , NO_3 , and NO_2) and orthophosphates (PO_4) were photometrically analyzed using an auto-analyzer (model Skalar San Plus).

RESULTS

Differences in the number and structure of algal communities at variously polluted sites in March 2017. In the spring of 2017, under conditions of constant water discharge from cultivation ponds of the fish farm in the study area, differences were found in the number and structure of algal communities formed in shallow waters opposite the outlet (T1, Fig. 2A) and at the distance of 100 m from the outlet (T2, Fig. 3A).

In the upper intertidal zone along the T1 area, monodominant communities – those of *Wilsonosiphonia howei* (Hollenberg) D. Bustamante, Won & T. O. Cho, 2017 (Rh) (Fig. 2B) and *Cladophoropsis fasciculata* (Kjellman) Wille, 1910 (Ch) (Fig. 2C) – predominated. Moreover, in the T1 area, there were monodominant communities of common green algae *Ulva prolifera* O. F. Müller, 1778 and *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh, 1811; monodominant community of a brown crust alga *Neoralfsia expansa* (J. Agardh) P.-E. Lim & H. Kawai ex Cormaci & G. Furnari, 2012; and bidominant turf communities of *C. fasciculata* (Ch) + *W. howei* (Rh) and *U. prolifera* (Ch) + *W. howei* (Rh). Out of the species forming the communities, *Centroceras clavulatum* (C. Agardh) Montagne, 1846, *Gelidium pusillum* (Stackhouse) Le Jolis, 1863 (Rh), *Siphonogramen abbreviatum* (W. J. Gilbert) I. A. Abbott & Huisman, 2004, and *Rhizoclonium riparium* (Roth) Harvey, 1849 (Ch) were commonly found.

In the middle intertidal zone in the T1 area, monodominant communities – those of a green alga *Ulva flexuosa* Wulfen, 1803 (Fig. 2D), the red crust alga *Hildenbrandia rubra* (Sommerfelt) Meneghini, 1841, and the crustose brown alga *Ralfsia verrucosa* (Areschoug) Areschoug, 1845 (Fig. 2E) – predominated on a rocky bottom. Algal turf community of a red fine filamentous alga *C. clavulatum* (Fig. 2F) dominated on dead coral remnants. Here, the rest parts of silt-covered hard coral colonies were occupied by a monodominant community of a blue-green alga (hereinafter Cy) *Lyngbya majuscula* Harvey ex Gomont, 1892; the lower great part of hard substratum was overgrown with a bidominant community of green algae *Ulva lactuca* Linnaeus, 1753 + *Ulva fasciata* Delile, 1813.

In the lower intertidal zone along the T1 area, the surfaces of dead coral blocks were overgrown by a monodominant community of a red turf-forming alga *C. clavulatum*, with accompanying species *Acanthophora muscoides* (Linnaeus) Bory de Saint-Vincent, 1843, *Hypnea pannosa* J. Agardh, 1847, *Hypnea spinella* (C. Agardh) Kützing, 1847, *Spyridia filamentosa* (Wulfen) Harvey, 1833 (Rh), and *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh, 1873 (Ch) (Fig. 2G). This community

occupied 90 % of substratum. Out of the algal turf, *Sargassum polycystum* (C. Agardh), 1924 (Ph), *Bryopsis pennata* J. V. Lamouroux, 1809, *U. lactuca* (Ch), and live colonies of massive hard corals were commonly found (Fig. 2H).

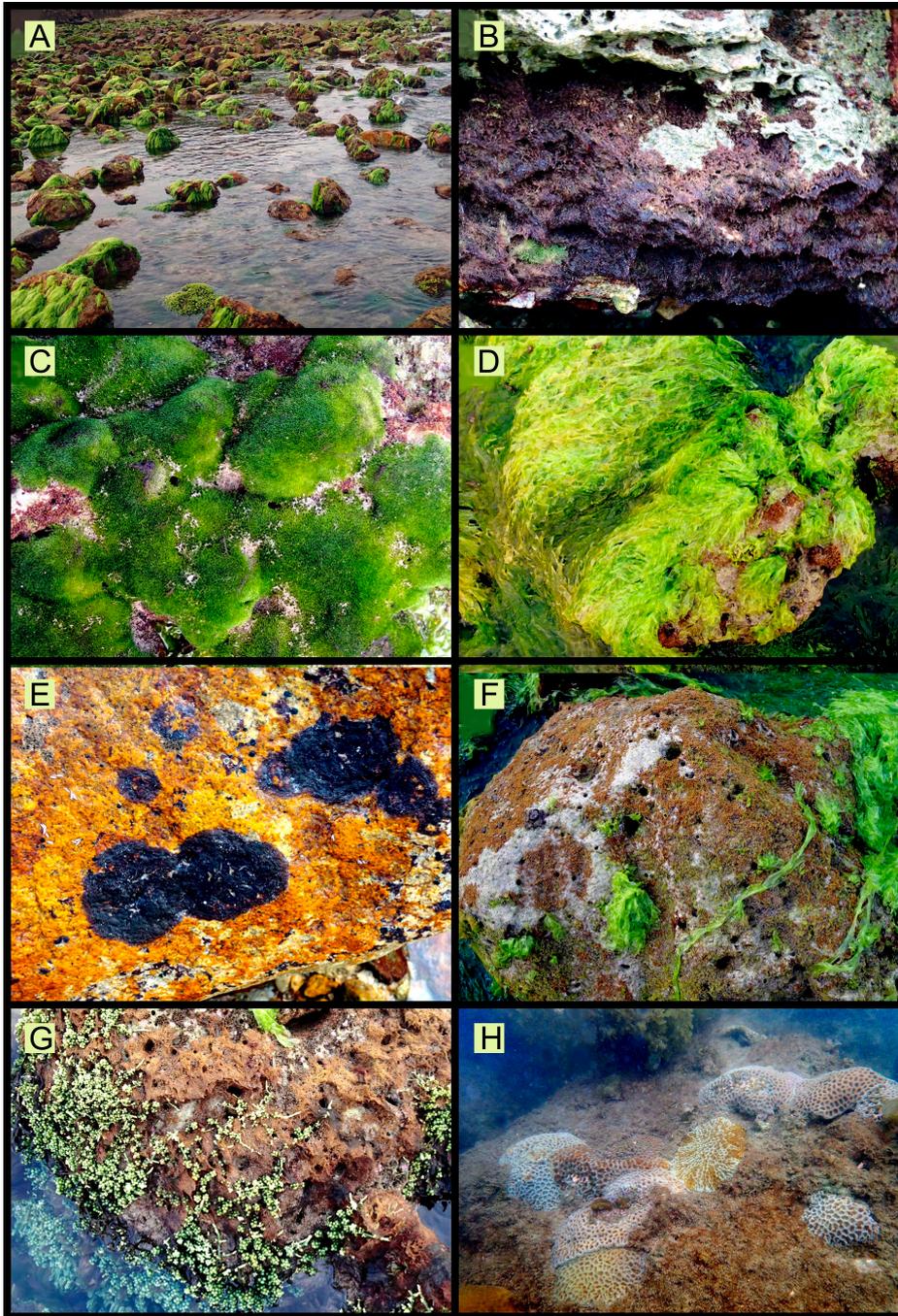


Fig. 2. Algal communities in the T1 area (heavily polluted site) in March 2017. A, the middle intertidal zone, the outlet area; B, the upper intertidal, monodominant community of a red alga *Wilsonosiphonia howei*; C, the upper intertidal, monodominant community of a green alga *Cladophoropsis fasciculata*; D, the middle intertidal, monodominant community of a green alga *Ulva flexuosa*; E, the middle intertidal, bidominant community of a red crust alga *Hildenbrandia rubra* and a brown crust alga *Ralfsia verrucosa*; F, the middle intertidal, monodominant community of the red alga *Centroceras clavulatum*; G, the lower intertidal, polydominant community of *C. clavulatum* with accompanying species *Acanthophora muscoides*, *Hypnea pannosa*, *Hypnea spinella*, *Spyridia filamentosa* (Rh), and *Caulerpa racemosa* (Ch); H, the upper subtidal, polydominant community of *C. clavulatum*, *H. pannosa*, *Hypnea valentiae*, *Jania adhaerens* (Rh), and *C. racemosa* (Ch) among young colonies of massive hermatypic corals

Рис. 2. Подпись на русском языке в приложении на стр. 101

In the upper intertidal zone along the T2 area (Fig. 3A), at the same time, only three monodominant communities – those of *U. prolifera* (Ch) (Fig. 3B), *W. howei* (Rh) (Fig. 3C), and *N. expansa* (Ph) (Fig. 3D) – were common. Out of the species forming the communities, *C. fasciculata*, *U. clathrata* (Ch), and *C. clavulatum* (Rh) were found as well.

In the middle intertidal zone along the T2 area, a mosaic polydominant community predominated occupying mainly a hard base of a flat carbonate substrate (Fig. 3E); the following species dominated – *Palisada perforata* (Bory) K. W. Nam, 2007, *C. clavulatum*, *Gelidiella bornetii* (Weber-van Bosse) Feldmann & C. Hamel, 1934 (Rh), *L. majuscula* (Cy), and *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux) Womersley ex Oliveira, 1977 (Ph) – growing on vertical surfaces of reef bases and coral blocks. Monodominant communities of the red alga *H. rubra* and the brown alga *R. verrucosa* occupied rocky substratum (as in the T1 area).

In the lower intertidal zone along the T2 area, a mosaic polydominant community of turf-forming algae overgrew dead coral blocks (Fig. 3F), with a mosaic dominance of *Amphiroa fragilissima* (Linnaeus) J. V. Lamouroux, 1816, *C. clavulatum*, *S. filamentosa*, *Hypnea valentiae* (Turner) Montagne, 1841, *Jania adhaerens* J. V. Lamouroux, 1816 (Rh), *Padina minor* Yamada, 1925 (Ph), and *Dictyosphaeria cavernosa* (Forsskål) Børgesen, 1932 (Ch). The green alga *C. racemosa* represented an often-overgrowing polydominant community of algal turf occupying silt- and sand-covered hard substrata. Upright-growing brown algae with large thalli of genera *Dictyota*, *Padina*, *Sargassum*, and *Turbinaria* were commonly found in the communities and on free substrata.

In the upper subtidal zone along the T2 area, hard substrata were occupied by hermatypic corals with coverage of ~ 50 %, and the rest surface of carbonate reef basis was overgrown by algal communities, primarily by polydominant mosaic algal turf communities with the following dominant species: *C. clavulatum*, *H. pannosa*, *H. valentiae*, *J. adhaerens*, and *S. filamentosa* (Rh) (Fig. 3G). A monodominant community of the green alga *C. racemosa* occupied ~ 10 % of the sand-covered hard substratum (coral reef base). *Sargassum ilicifolium* (Turner) C. Agardh, 1820, *S. polycystum*, and *Sargassum sanyaense* Tseng & Lu, 1997 (Ph) formed dense bed from the low intertidal zone to the upper subtidal zone (Fig. 3H).

Dynamic changes in the structure of algal communities in variously polluted sites after cessation of the discharge of waste from the fish farm. The transect 1, 2018. Six months after the fish farm liquidation, significant changes occurred in the structure and diversity of algal communities (Fig. 4).

In the upper intertidal zone, vertical walls of rocky boulders were partially occupied by monodominant communities (as in 2017) – those of *U. prolifera* (Ch) and *R. verrucosa* (Ph). Small niches of a stone retaining wall were overgrown by a new community – the red alga *Bostrychia tenella* (J. V. Lamouroux) J. Agardh, 1863 and the green alga *S. abbreviatum* with accompanying *R. riparium* (Fig. 4B).

The red alga *W. howei* which formed a dense monodominant community in these niches earlier was rare. Among epiphytes, *R. riparium* (Ch) and *Hydrolithon farinosum* (J. V. Lamouroux) D. Penrose & Y. M. Chamberlain, 1993 (Rh) dominated, as well as blue-green algae *Chroococcus turgidus* (Kützing) Nägeli, 1849 and *Stanieria sphaerica* (Setchell & N. L. Gardner) Anagnostidis & Pantazidou, 1991.

In the middle intertidal zone along the T1 area, stones were occupied by monodominant crust communities of *H. rubra* (Rh) and *N. expansa* (Ph) (as in 2017). Fossil reef base was overgrown by a community of the blue-green alga *L. majuscula* formed in 2017. A polydominant community of algal turf – with a dominance of *Millerella pannosa* (Feldmann) G. H. Boo & L. Le Gall, 2016 (Rh), *R. riparium*, and *U. clathrata* (Ch) (Fig. 4C) – covered remnants of massive coral colonies. Here, we also found *C. fasciculata*, *Chaetomorpha linum* (O. F. Müller) Kützing, 1845 (Ch), and *Coleofasciculus chthonoplastes* (Thuret ex Gomont) M. Siegesmund, J. R. Johansen & T. Friedl, 2008 (Cy), as well as epiphytes – *Erythrotrichia carnea* (Thuret ex Gomont) M. Siegesmund, J. R. Johansen & T. Friedl, 1883 (Rh) and *Myrionema strangulans* Greville, 1827 (Ph). On some flat rocks, a monodominant community of *W. howei* (Rh) was registered (Fig. 4D).

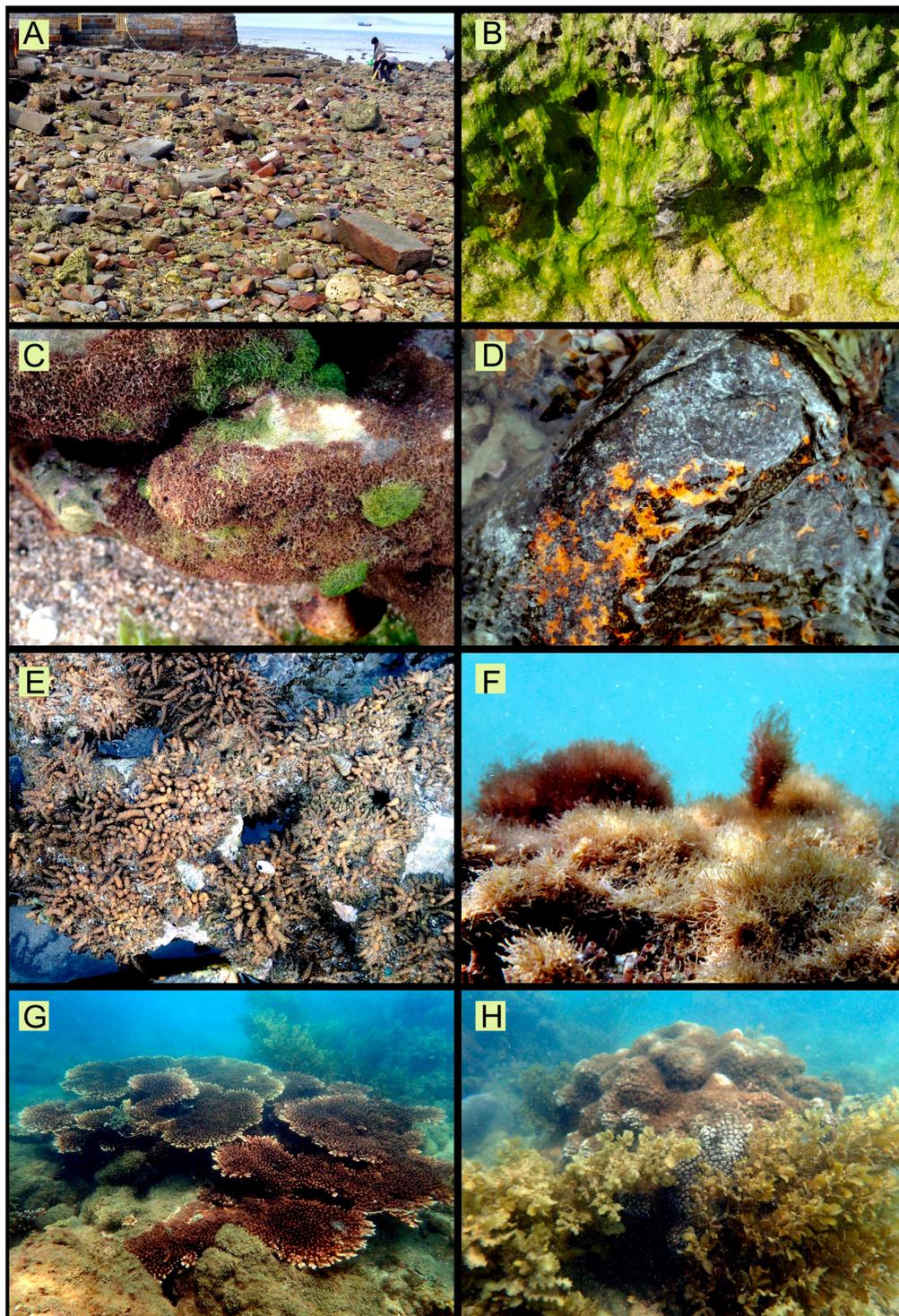


Fig. 3. Algal communities along the T2 area (moderately polluted area) in March 2017. A, the upper intertidal zone near the outlet at low tide; B, the upper intertidal, monodominant community of *Ulva flexuosa* (Ch); C, the upper intertidal, bidominant community of *Wilsonosiphonia howei* (Rh) + *Cladophoropsis fasciculata* (Ch); D, the middle intertidal, bidominant community of the red crust alga *Hildenbrandia rubra* and the brown crust alga *Ralfsia verrucosa*; E, the middle intertidal, mosaic polydominant community with a dominance of *Palisada perforata*, *Centroceras clavulatum*, and *Gelidiella bornetii* (Rh); F, the middle intertidal, polydominant turf community with a mosaic dominance of *Amphiroa fragilissima*, *C. clavulatum*, and *Jania adhaerens* (Rh); G, the upper subtidal, hermatypic corals and polydominant community of *C. clavulatum* (Rh) with accompanying species; H, lower intertidal to upper subtidal, with *Sargassum ilicifolium*, *S. polycystum*, and *S. sanyaense* (Ph) forming dense bed

Рис. 3. Подпись на русском языке в приложении на стр. 101

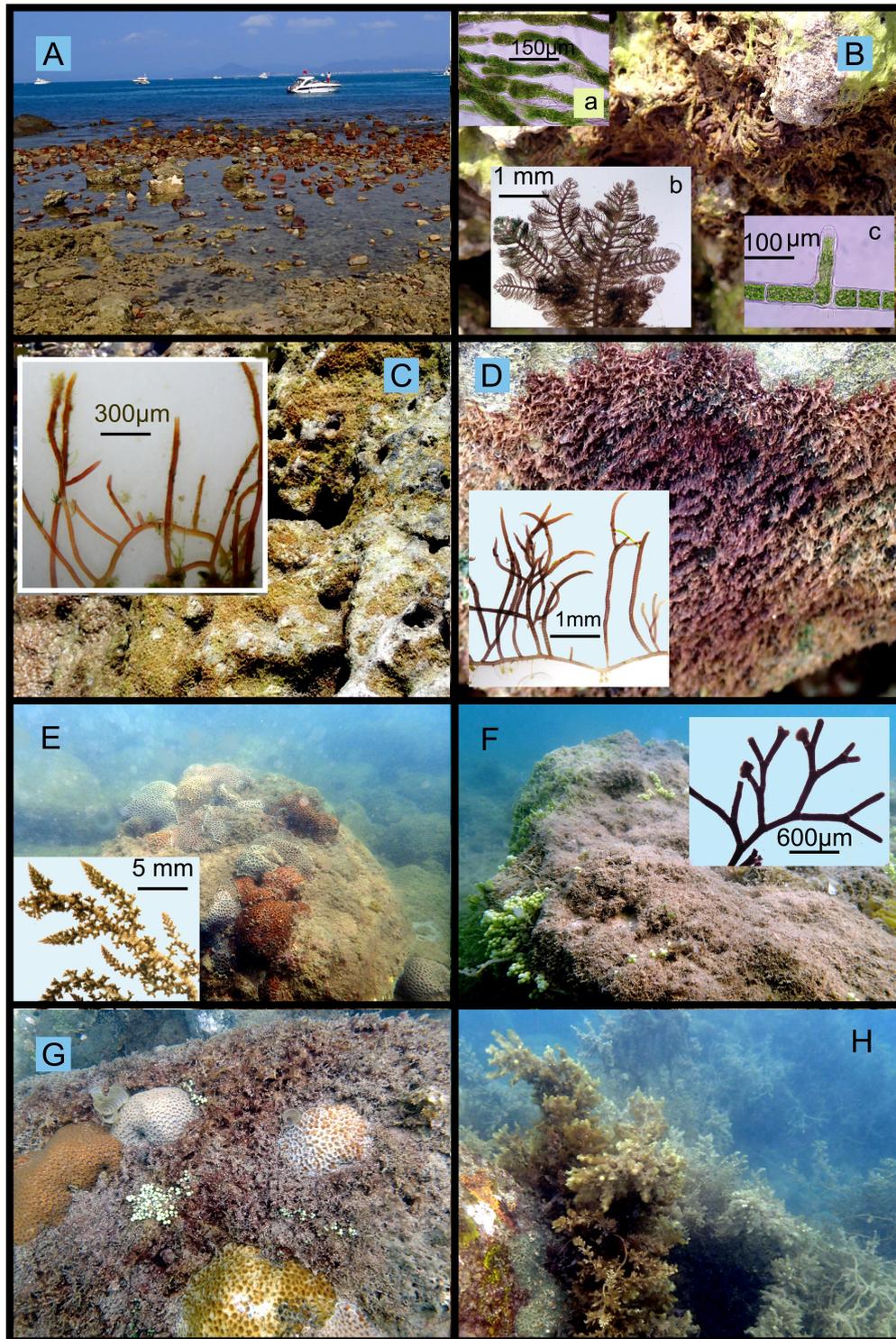


Fig. 4. Algal communities along the T1 area in March 2018. A, the middle intertidal zone opposite the former outlet of the fish farm; B, the upper intertidal, bidominant community of *Siphonogrammen abbreviatum* (Ch) (insert a) + *Bostrychia tenella* (Rh) (insert b), with an epiphytic alga *Rhizoclonium riparium* (Ch) (insert c); C, the middle intertidal, polydominant community with a dominance of the red alga *Millerella pannosa* (insert) and green algae *Ulva clathrata* and *R. riparium*; D, the middle intertidal, monodominant community of *Wilsonosiphonia howei* (Rh); E and F, the lower intertidal, polydominant community with a dominance of *Tolypocladia glomerulata* (E, insert), *Jania adhaerens* (F, insert), *Centroceras clavulatum*, and *Gelidium pusillum* var. *cylindricum* (Rh); G, the upper subtidal, polydominant community of algal turf with a dominance of *J. adhaerens*, *C. clavulatum*, *Asparagopsis taxiformis*, and *T. glomerulata* (Rh); H, the upper subtidal, *Sargassum polycystum* (Ph) thickets

Рис. 4. Подпись на русском языке в приложении на стр. 102

In the lower intertidal zone along the T1 area, the remnants of coral colonies were overgrown by a polydominant community (as in 2017), but with other species predominating – *Tolyptocladia glomerulata* (C. Agardh) F. Schmitz, 1897, *J. adhaerens*, *C. clavulatum*, and *Gelidium pusillum* var. *cylindricum* W. R. Taylor, 1945 – and with common species accompanying – *M. pannosa*, *H. spinella*, *Melanothamnus ferulaceus* (Suhr ex J. Agardh) Diaz-Tapia & Maggs, 2017, *Caulacanthus ustulatus* (Mertens ex Turner) Kützing, 1843 (Rh), *Sphacelaria rigidula* Kützing, 1843 (Ph), and *C. linum* (Ch) (Fig. 4E, F). Out of the species forming the community, *R. verrucosa*, *Sphacelaria novae-hollandiae* Sonder, 1845, *P. minor*, and *S. polycystum* (Ph) were common.

In the upper subtidal zone along the T1 area in 2018, as in 2017, a polydominant algal turf community dominated, with different composition of dominating species [*J. adhaerens*, *C. clavulatum*, *Asparagopsis taxiformis* (Delile) Trevisan de Saint-Léon, 1845, and *T. glomerulata*], as well as accompanying species of epilithic algae [*Peyssonnelia rubra* (Greville) J. Agardh, 1851 and *S. filamentosa*] and epiphytes [*Herposiphonia tenella* (C. Agardh) Ambronn, 1880, *Gayliella mazoyerae* T. O. Cho, Fredericq & Hommersand, 2008, *Melanothamnus savatieri* (Hariot) Díaz-Tapia & Maggs, 2017, and *Wrangelia argus* (Montagne) Montagne, 1856 (Rh)] (Fig. 4G). Out of the species forming the community, *S. polycystum* (Ph) and *C. racemosa* (Ch) were common (Fig. 4H).

Transect 1, 2019. In the spring of 2019, 1.5 years after the fish farm elimination, some alterations in the marine flora were detected in the intertidal and upper subtidal zones compared with the spring of 2018.

In the upper intertidal zone, rocky boulders, as always, were occupied by a monodominant community of the crust alga *N. expansa* (Ph). In niches of these boulders, a bidominant community of *W. howei* (with the blue-green epiphytic alga *C. chthonoplastes*) + *B. tenella* (Rh) and a bidominant community of *P. howei* (Rh) + *C. fasciculata* (Ch) [with accompanying *Bostrychia* sp. (Rh), *Rhizoclonium grande* Børgesen, 1935 (Ch), *S. abbreviatum* (Ch), and *Ceramium camouii* E. Y. Dawson, 1944 (Rh)] dominated. Moreover, the fossil reef base was covered with black film composed of blue-green algae – *Kyrtuthrix maculans* (Gomont) I. Umezaki, 1958, *C. chthonoplastes*, *Scytonematopsis crustacea* (Thuret ex Bornet & Flahault) Koválik & Komárek, 1988, and *C. turgidus*.

In the middle intertidal zone, some alterations were recorded as well. The fossil carbonate base was covered by a dense mat of blue-green algae, with a dominance of *Lyngbya sordida* Gomont, 1892, *Lyngbya martensiana* Meneghini ex Gomont, 1892, and *K. maculans*. In a polydominant community of algal turf, the composition of dominant species changed as well. There, dominant species were *M. pannosa*, *P. howei* (Rh), *C. fasciculata*, and *R. grande* (Ch). Common algal species were *P. minor* (Ph), *Ceratodictyon intricatum* (C. Agardh) R. E. Norris, 1987, and *Jania capillacea* Harvey, 1853 (Rh), as well as an epiphyte *S. crustacea* and accompanying blue-green algae *C. chthonoplastes* and *K. maculans*.

In the lower intertidal zone, a polydominant algal turf community was enriched with new dominants species [*C. ustulatus* (Rh) and *S. novae-hollandiae* (Ph)] and with accompanying ones [*J. adhaerens*, *Herposiphonia secunda* (C. Agardh) Ambronn, 1880, *S. filamentosa*, *Pterocladia caerulescens* (Kützing) Santelices & Hommersand, 1997, *H. spinella* (Rh), *S. rigidula*, *L. variegata* (Ph), *Anadyomene wrightii* Harvey ex J. E. Gray, 1866, and *C. racemosa* (Ch)]. Out of epiphytes, the most common ones were *E. carnea*, *Sahlingia subintegra* (Rosenvinge) Kornmann, 1989, *Acrochaetium microscopicum* (Nägeli ex Kützing) Nägeli, 1858, *H. farinosum*, *Ceramium aduncum* Nakamura, 1950, *Ceramium cimbricum* H. E. Petersen, 1924, *Ceramium vagans* P. C. Silva, 1987, *G. mazoyerae*, and *M. ferulaceus* (Rh). Out of the algal turf, *Padina australis* Hauck, 1887 and *S. polycystum* (Ph) were the species forming upright-growing communities on remnants of coral colonies.

In the upper subtidal zone, a mosaic polydominant algal turf community occupied all substrata between colonies of live corals. *J. adhaerens*, *T. glomerulata*, *H. spinella* (Rh), and *C. racemosa* (Ch)

were the main dominant species. *P. australis*, *S. polycystum*, and *S. sanyaense* (Ph) were common ones. The richness and species composition of epiphytes in the upper subtidal zone were similar to those of the lower intertidal zone.

Transect 2, 2018 and 2019. Alterations in the marine flora along the T2 area were registered only in the structure of polydominant communities. The composition of dominant and accompanying species changed only partially. The diversity and structure of mono- and bidominant communities remained the same as in 2017.

In 2018, the composition of dominant species changed in polydominant communities in the middle intertidal and upper subtidal zones. Specifically, in the middle intertidal zone, dominant species – *P. perforata* (Rh), *L. variegata* (Ph), and *C. racemosa* (Ch) – were not found, while *H. pannosa*, *H. spinella* (Rh), and *Caulerpa sertularioides* (S. G. Gmelin) M. Howe, 1905 (Ch) appeared. In the upper subtidal zone, dominant species – *A. fragilissima*, *J. adhaerens*, and *H. valentiae* (Rh) – were not registered (as it was before), while *J. capillacea*, *H. secunda*, *P. caerulescens* (Rh), and communities of upright-growing *S. sanyaense* and *P. australis* (Ph) appeared.

In 2019, insignificant changes in the flora along T2 were recorded only in the composition of dominant species in polydominant communities.

DISCUSSION

Adaptation of the coral reef ecosystem to moderate and extremely high nutrient concentrations. Earlier, we showed that DIN and orthophosphate levels in seawater of Luhuitou and Xiaodong Hai reefs (as most likely across all the Sanya Bay) are higher (3–5-fold and 10-fold, respectively) than those in clean waters of insular coral reefs (Titlyanov et al., 2011). About the same DIN and orthophosphate levels were noted as threshold concentrations for degradation of coral reefs resulting from eutrophication and subsequent macroalgal blooms at Kaneohe Bay in Hawaii, fringing reefs of Barbados, and inshore reefs within the lagoons of the Great Barrier Reef (Bell, 1992 ; Done, 1929 ; Hughes, 1994 ; Lapointe et al., 1997 ; Lapointe, 1997 ; Smith et al., 1981). In coral reefs, the concentrations of nutrients above the threshold ones are reported to induce growth and accumulation of biomass by frondose macroalgae provoking superabundant macroalgal blooms. Evidently, reefs exposed to chronic nutrient enrichment increase their primary productivity which can be mainly attributed to expansion of macroalgae.

Our previous floristic surveys at the Sanya Bay (Titlyanov et al., 2011, 2019) showed that this site is occupied by algal communities and species typical for healthy coral reefs. At the same time, bloom of green benthic macroalgae was observed in a few local areas of the Sanya Bay coast (Li et al., 2016). Moreover, Luhuitou reef is characterized by a high species diversity of hermatypic corals; among them, there are branching corals of genera *Acropora* and *Pocillopora* – indicators of healthy reefs (Fong & Paul, 2011 ; Littler et al., 2006 ; McManus & Polsenberg, 2004 ; Raffaelli et al., 1998 ; Rosenberg, 1985). In our opinion, the Luhuitou coral reef ecosystem in most sites of the coast has adapted to conditions of increased (moderate) nutrient concentration. It is currently stable; there are no signs of degradation, except for spots with heavy pollution, for example, the area of water flow from fish ponds. In the latter case, corals could lose their competitive ability in the struggle for the substrate and give way to highly productive algal species, and the coral reef might eventually turn into a “plant reef”. However, our monitoring studies of the benthic flora in the area of constant heavy pollution by nutrients (2012–2017) did not reveal signs of ongoing degradation of the coral reef (alterations either in diversity or species composition of macrophytes and mass species of hermatypic corals) and its turning into a “plant reef” (Li et al., 2021, 2016). This gives reason to assume that the ecosystem of coral reefs can adapt to extremely high concentrations of nutrients. The main adaptive changes in the ecosystem to heavy pollution could be summarized as follows:

- 1) biomass of green algae in the upper and middle intertidal zones (exposed to air at low tide) and brown algae in the submerged zone (lower intertidal) increased significantly (by several times);
- 2) species diversity of green algae in the upper and middle intertidal zones increased, while species diversity of brown and red algae in the submerged zone decreased;
- 3) number of mono- and bidominant communities of algae in the upper intertidal zone increased, while polydominant communities in the middle intertidal zone disappeared;
- 4) in the communities of the upper and middle intertidal zones, absolute and relative numbers of dominant species in green algal communities increased, while the number of dominant red algae decreased over a range of tidal zones;
- 5) in polydominant communities, the species composition of both dominant and accompanying species changed.

Some of the listed above changes in the flora that occurred during nutrient water pollution were previously known, such as accumulation of green algal biomass (Fong & Paul, 2011 ; Lapointe, 1997 ; Littler et al., 2006 ; Raffaelli et al., 1998 ; Rosenberg, 1985) and increase in diversity (Li et al., 2021), while other alterations were recorded for the first time. The significance of these changes representing the ecosystem homeostasis could be ascertained only with a further long-term study of the reef ecosystem under conditions of heavy pollution.

Changes in the ecosystem under sharp decrease in nutrient concentration from heavy to moderate. In (Li et al., 2021), it is shown as follows: after the fish farm liquidation, concentration of nutrients in seawater opposite the outlet (T1) and at 100 m from it (T2) dropped by more than an order of magnitude; it is almost equal to the mean value for the Sanya Bay (Li, 2011 ; Li et al., 2016). At the same time, the values of indicators of other major environmental factors in 2017, 2018, and 2019 did not differ significantly.

In parallel, the following main alterations in the flora were recorded during the transition from heavy to moderate water enrichment with nutrients: for a year and a half, the taxonomic composition changed, the relative number of red algae increased, and the relative number of green algae decreased. The maximum similarity of the flora for T1 and T2 areas increased after the farm liquidation by 18 % and reached the value of 82 %. These alterations occurred mainly due to enrichment of the local benthic flora with unproductive annual species of red algae and depletion of highly productive species of green algae – ephemeral filamentous and membrane forms. These changes in species and taxonomic composition of the flora resulted in a decrease in the number of dominant species (mainly green ones) and a sharp (even 6 months after the farm elimination) decrease in the mass of vegetation cover (Li et al., 2021).

As shown in this paper, within a year and a half after the fish farm liquidation, changes occurred in the number and structure of algal communities. Specifically, in the intertidal zone, the number of monodominant and bidominant algal turf communities decreased; in the middle intertidal zone, a polydominant algal turf community was formed; and in the lower intertidal and upper subtidal zones, the composition of dominant and accompanying species partially changed.

Along the T2 area (moderate pollution), alterations in the marine flora for 1.5 years were barely noticeable, and the only significant interannual change was registered in the composition of dominant and accompanying species in polydominant communities. Nature and dynamics of changes in the benthic flora along T1 give reason to talk about the adaptation of the ecosystem to new conditions of mineral nutrition by establishing homeostasis.

Conclusion. Our current findings once again confirmed our previously obtained data that the benthic flora in the Sanya Bay greatly varies in diversity, species composition, taxonomic composition, and the structure of algal communities in variously polluted coastal areas. Extremely high concentrations of nutrients in seawater near the outlet of polluted wastewater caused significant depletion in species

diversity and abundance of unproductive annual and perennial red and brown algae, as well as enrichment of highly productive green species with opportunistic and often ephemeral algae. For the first time, we showed that a sharp decrease in nutrient concentration near the fish farm one year and a half after its liquidation resulted in a partial-to-complete restoration of macroalgal species diversity. We assumed that coral reef ecosystems on Hainan Island in areas with various (even extreme) nutrient pollution adapted to these conditions.

This work was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (41476134), the Open Project of State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea (DX2017003), the Foundation of Hainan University (KYQD(ZR)1805), and the grant "China–Russia special funds 2018–2019" from the Chinese Academy of Sciences.

REFERENCES

1. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway / M. D. Guiry, G. M. Guiry (Eds) : [site], 2021. URL: <http://www.algaebase.org> [accessed: 20.06.2021].
2. Bell P. R. F. Eutrophication and coral reefs—Some examples in the Great Barrier Reef lagoon. *Water Research*, 1992, vol. 26, iss. 5, pp. 553–568. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(92\)90228-V](https://doi.org/10.1016/0043-1354(92)90228-V)
3. Charpy L., Charpy-Roubaud C., Buat P. Excess primary production, calcification and nutrient fluxes of a patch reef (Tikehau atoll, French Polynesia). *Marine Ecology Progress Series*, 1998, vol. 173, pp. 139–147. <https://doi.org/10.3354/meps173139>
4. Charpy-Roubaud C. J., Charpy L. Nutrients, particulate organic matter, and planktonic and benthic production of the Tikehau Atoll (Tuamotu Archipelago French Polynesia). *Atoll Research Bulletin*, 1994, no. 415, pt. 2, pp. 1–30.
5. Done T. J. Phase shifts in coral reef communities and their ecological significance. *Hydrobiologia*, 1929, vol. 247, pp. 121–132. <https://doi.org/10.1007/BF00008211>
6. Fong P., Paul V. J. Coral reef algae. In: *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition* / Z. Dubinsky, N. Stambler (Eds). Dordrecht ; Heidelberg ; London ; New York : Springer, 2011, pp. 241–272. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4_17
7. Furnas M., Mitchell A., Skuza M. Shelf-scale nitrogen and phosphorus budgets for the central Great Barrier Reef. In: *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium*, Panama, 24–29 June, 1996. Balboa, Panama : Smithsonian Tropical Research Institute, 1997, vol. 1, pp. 809–814.
8. Hughes T. P. Catastrophes, phase shifts, and large-scale degradation of a Caribbean coral reef. *Science*, 1994, vol. 265, pp. 1547–1551. <https://doi.org/10.1126/science.265.5178.1547>
9. Lapointe B. E., Barile P. J., Littler M. M., Littler D. S., Bedford B. J., Gasque C. Macroalgal blooms on southeast Florida coral reefs: I. Nutrient stoichiometry of the invasive green alga *Codium isthmocladum* in the wider Caribbean indicates nutrient enrichment. *Harmful Algae*, 2005a, vol. 4, iss. 6, pp. 1092–1105. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2005.06.004>
10. Lapointe B. E., Barile P. J., Littler M. M., Littler D. S. Macroalgal blooms on southeast Florida coral reefs: II. Cross-shelf discrimination of nitrogen sources indicates widespread assimilation of sewage nitrogen. *Harmful Algae*, 2005b, vol. 4, iss. 6, pp. 1106–1122. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2005.06.002>
11. Lapointe B. E., Littler M. M., Littler D. S. Macroalgal overgrowth of fringing coral reefs at Discovery Bay, Jamaica: Bottom-up versus top-down control. In: *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium*, Panama, 24–29 June, 1996. Balboa, Panama : Smithsonian Tropical Research Institute, 1997, vol. 1, pp. 927–932.
12. Lapointe B. E. Nutrient thresholds for bottom-up control of macroalgal blooms on coral reefs in Jamaica and southeast Florida. *Limnology and Oceanography*, 1997, vol. 42, iss. 5, pt. 2, pp. 1119–1131. https://doi.org/10.4319/lo.1997.42.5_part_2.1119
13. Li X., Ren Y., Titlyanov E. A., Titlyanova T. V., Belous O. S., Guo M., Huang H. Benthic flora of coral reefs in heavily nutrient-polluted areas of Sanya Bay (Hainan Island, China) and its changes recorded after removing the source

- of pollution. *Russian Journal of Marine Biology*, 2021, vol. 47, iss. 2, pp. 105–113. <http://dx.doi.org/10.1134/S1063074021020073>
14. Li X. B. *Identification of Major Factors Influencing the Composition, Spatial and Temporal Variation of Scleractinian Coral Community in Sanya, China*. PhD thesis. Beijing, China : Chinese Academy of Sciences, 2011, 107 p. (in Chinese).
 15. Li X. B., Titlyanov E. A., Zhang J., Titlyanova T. V., Zhang G., Hui H. Macroalgal assemblage changes on coral reefs along a natural gradient from fish farms in southern Hainan Island. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 2016, vol. 19, iss. 1, pp. 74–82. <https://doi.org/10.1080/14634988.2016.1140952>
 16. Littler M. M., Littler D. S., Brooks B. L. Harmful algae on tropical coral reefs: Bottom-up eutrophication and top-down herbivory. *Harmful Algae*, 2006, vol. 5, iss. 5, pp. 565–585. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2005.11.003>
 17. McManus J. W., Polsenberg J. F. Coral–algal phase shifts on coral reefs: Ecological and environmental aspects. *Progress in Oceanography*, 2004, vol. 60, iss. 3–4, pp. 263–279. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2004.02.014>
 18. Morand P., Briand X. Excessive growth of macroalgae: A symptom of environmental disturbance. *Botanica Marina*, 1996, vol. 39, pp. 491–516. <https://doi.org/10.1515/botm.1996.39.1-6.491>
 19. Morand P., Merceron M. Coastal eutrophication and excessive growth of macroalgae. In: *Recent Research Developments in Environmental Biology / S. G. Pandalai* (Ed.). Trivandrum, India : Research Signpost, 2004, vol. 1, pt. 2, pp. 395–449.
 20. Perestenko L. P. *Vodorosli zaliva Petra Velikogo*. Leningrad : Nauka, 1980, 232 p. (in Russ.). <http://www.algae.ru/273>
 21. Raffaelli D. G., Raven J. A., Poole L. A. Ecological impact of green macroalgal blooms. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 1998, vol. 6, pp. 97–125.
 22. Rosenberg R. Eutrophication–The future marine coastal nuisance. *Marine Pollution Bulletin*, 1985, vol. 16, iss. 6, pp. 227–231. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(85\)90505-3](https://doi.org/10.1016/0025-326X(85)90505-3)
 23. Saunders G. W., Hommersand M. H. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *American Journal of Botany*, 2004, vol. 91, iss. 10, pp. 1494–1507. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.10.1494>
 24. Smith S. V., Kimmerer W. J., Laws E. A., Brock R. E., Walsh T. W. Kaneohe Bay sewage diversion experiment: Perspectives on ecosystem responses to nutritional perturbation. *Pacific Science*, 1981, vol. 35, no. 4, pp. 279–397.
 25. Titlyanov E. A., Kiyashko S. I., Titlyanova T. V., Yakovleva I. M., Li X. B., Huang H. Nitrogen sources to macroalgal growth in Sanya Bay (Hainan Island, China). *Current Development in Oceanography*, 2011, vol. 2, pp. 65–84.
 26. Titlyanov E. A., Titlyanova T. V., Li X. B., Huang H. An inventory of marine benthic macroalgae of Hainan Island, China. *Russian Journal of Marine Biology*, 2018, vol. 44, pp. 175–184. <https://doi.org/10.1134/S1063074018030112>
 27. Titlyanov E. A., Titlyanova T. V., Scriptsova A. V., Ren Y., Li X., Hui H. Interannual and seasonal changes in the benthic algae flora of coral reef in Xiaodong Hai (Hainan Island, China). *Journal of Marine Science and Engineering*, 2019, vol. 7, art. no. 243 (12 p.) <https://doi.org/10.3390/jmse7080243>
 28. Titlyanova T. V., Titlyanov E. A., Kalita T. L. Marine algal flora of Hainan Island: A comprehensive synthesis. *Coastal Ecosystems*, 2014, vol. 1, pp. 28–53.
 29. Tsuda R. T. *Checklist and Bibliography of the Marine Benthic Algae From the Mariana Islands (Guam and CNMI)*. Mangilao, Guam : University of Guam Marine Laboratory, 2003, 21 p. (Technical Report ; no. 105). https://www.uog.edu/_resources/files/ml/technical_reports/105Tsuda_2002_UOGMLTechReport105.pdf
 30. Tsuda R. T. *Checklist and Bibliography of the Marine Benthic Algae Within Chuuk, Pohnpei, and Kosrae States, Federated States of Micronesia*. Honolulu, Hawaii : Bishop Museum Press, 2006, 43 p. (Bishop Museum Technical Report ; no. 34). <http://pbs.bishopmuseum.org/pdf/tr34.pdf>

**СООБЩЕСТВА БЕНТОСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ КОРАЛЛОВЫХ РИФОВ
ЗАЛИВА САНЬЯ (ОСТРОВ ХАЙНАНЬ, КИТАЙ)
В МЕСТАХ, СИЛЬНО ЗАГРЯЗНЁННЫХ БИОГЕННЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ,
И ИХ ИЗМЕНЕНИЯ ПОСЛЕ УСТРАНЕНИЯ ИСТОЧНИКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

Э. А. Титлянов¹, Т. В. Титлянова¹, Ш. Ли², О. С. Белоус¹, Х. Хуи^{3,4}

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

²Ключевая государственная лаборатория по использованию морских ресурсов Южно-Китайского моря, Колледж морских наук, Хайнаньский университет, Хайкоу, Китай

³Ключевая лаборатория тропических морских биоресурсов и экологии Института океанологии Южно-Китайского моря Китайской академии наук, Гуанчжоу, Китай

⁴Тропическая морская биологическая исследовательская станция на острове Хайнань, Китайская академия наук, Санья, Китай

E-mail: etilyanov@mail.ru

Ранее установлено, что экстремально высокие концентрации биогенных веществ в морской воде в районе стока загрязнённых вод рыбной фермы на полуострове Лухуэйтоу (залив Санья) приводят к значительному сокращению видового разнообразия и обилия низкопродуктивных одно- и многолетних красных и бурых водорослей, а также к увеличению количества и биомассы высокопродуктивных зелёных водорослей. С 2017 по 2019 г. впервые были изучены изменения в количестве и структуре донных водорослевых сообществ в приливно-отливных зонах залива Санья после устранения источника загрязнения — ликвидации рыбной фермы. Показано, что снижение концентрации растворённого неорганического азота (DIN) (с ~ 20 до 2,5 µM) и ортофосфатов (с 5,0 до 0,2 µM) в морской воде существенно изменило разнообразие, видовой состав и структуру бентосных водорослевых сообществ. Через 1,5 года после ликвидации источника загрязнения основные показатели флоры стали близки в среднем к таковым умеренно загрязнённых участков залива Санья.

Ключевые слова: водоросли, остров Хайнань, Китай, эвтрофикация, восстановление

Приложение

Рис. 2. Сообщества водорослей в районе трансекты 1 (участок сильного загрязнения) в марте 2017 г. А — средняя литораль, район выхода из рыбной фермы; В — верхняя литораль, монодоминантное сообщество красной водоросли *Wilsonosiphonia howei*; С — верхняя литораль, монодоминантное сообщество зелёной водоросли *Cladophoropsis fasciculata*; D — средняя литораль, монодоминантное сообщество зелёной водоросли *Ulva flexuosa*; Е — средняя литораль, бидоминантное сообщество корковых водорослей — красной *Hildenbrandia rubra* и бурой *Ralfsia verrucosa*; F — средняя литораль, монодоминантное сообщество красной водоросли *Centroceras clavulatum*; G — нижняя литораль, полидоминантное сообщество *C. clavulatum* и сопутствующих видов *Acanthophora muscoides*, *Hypnea pannosa*, *Hypnea spinella*, *Spyridia filamentosa* (Rhodophyta) и *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta); H — верхняя сублитораль, полидоминантное сообщество *C. clavulatum*, *H. pannosa*, *Hypnea valentiae*, *Jania adhaerens* (Rhodophyta) и *C. racemosa* (Chlorophyta) среди молодых колоний массивных герматипных кораллов

Рис. 3. Сообщества водорослей вдоль трансекты 2 (участок умеренного загрязнения) в марте 2017 г. А — верхняя литораль у выхода из рыбной фермы во время отлива; В — верхняя литораль, монодоминантное сообщество *Ulva flexuosa* (Chlorophyta); С — верхняя литораль, бидоминантное сообщество *Wilsonosiphonia howei* (Rhodophyta) + *Cladophoropsis fasciculata* (Chlorophyta); D — средняя литораль, бидоминантное сообщество корковых водорослей — красной *Hildenbrandia rubra* и бурой *Ralfsia verrucosa*; Е — средняя литораль, мозаичное полидоминантное сообщество с преобладанием *Palisada perforata*, *Centroceras clavulatum* и *Gelidiella bornetii* (Rhodophyta); F — средняя литораль, полидоминантное сообщество дерновых водорослей с мозаичным преобладанием *Amphiroa fragilissima*,

C. clavulatum и *Jania adhaerens* (Rhodophyta); G — верхняя сублитораль, герматипные кораллы и полидоминантное сообщество *C. clavulatum* (Rhodophyta) и сопутствующих видов; H — участок от нижней до верхней сублиторали с формирующими плотный слой *Sargassum ilicifolium*, *S. polycystum* и *S. sanyaense* (Ochrophyta)

Рис. 4. Сообщества водорослей вдоль трансекты 1 в марте 2018 г. А — средняя литораль, напротив бывшего выхода из рыбной фермы; В — верхняя литораль, бидоминантное сообщество *Siphonogramen abbreviatum* (Chlorophyta) (врезка **a**) + *Bostrychia tenella* (Rhodophyta) (врезка **b**) с эпифитной водорослью *Rhizoclonium riparium* (Chlorophyta) (врезка **c**); С — средняя литораль, полидоминантное сообщество с преобладанием красной водоросли *Millerella pannosa* (врезка) и зелёных водорослей *Ulva clathrata* и *R. riparium*; D — средняя литораль, монодоминантное сообщество *Wilsonosiphonia howei* (Rhodophyta); Е и F — нижняя литораль, полидоминантное сообщество с преобладанием *Tolypocladia glomerulata* (Е, вставка), *Jania adhaerens* (F, вставка), *Centroceras clavulatum* и *Gelidium pusillum* var. *cylindricum* (Rhodophyta); G — верхняя сублитораль, полидоминантное сообщество водорослевого дёрна с преобладанием *J. adhaerens*, *C. clavulatum*, *Asparagopsis taxiformis* и *T. glomerulata* (Rhodophyta); H, верхняя сублитораль, заросли *Sargassum polycystum* (Ochrophyta)



ЗАМЕТКИ

УДК 582.261.1-114.328(262.5)“324”

DOI: 10.21072/mbj.2022.07.3.09

**КОНКУРЕНТНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА ДИАТОМОВОЙ ВОДОРОСЛИ
SKELETONEMA COSTATUM CLEVE, 1873
В ЧЁРНОМ МОРЕ В ЗИМНЕ-ВЕСЕННИЙ ПЕРИОД**

© 2022 г. **Н. Ю. Шоман, А. И. Акимов**

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

Поступила в редакцию 02.04.2021; после доработки 13.05.2021;
принята к публикации 19.08.2022; опубликована онлайн 13.09.2022.

Описаны индивидуальные физиологические особенности вегетации морской диатомовой микроводоросли *Skeletonema costatum* в условиях низкой освещённости и низкой температуры, позволяющие ей занимать доминирующую позицию в фитопланктоне Чёрного моря в зимний и ранневесенний период. Показано, что для *S. costatum* характерна высокая эффективность роста в условиях светового лимитирования ($0,13 \text{ сут}^{-1} \cdot (\text{мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1})^{-1}$), отражающая увеличение удельной скорости роста водорослей при повышении интенсивности света на $1 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, а также низкие значения насыщающей рост интенсивности света ($12 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ при температуре $+5 \text{ }^\circ\text{C}$ и $18 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ при $+10 \text{ }^\circ\text{C}$). При $+5 \dots +10 \text{ }^\circ\text{C}$ скорость роста *S. costatum* примерно в 2 раза выше, чем у других представителей фитопланктона Чёрного моря в зимне-весенний период. Для *S. costatum* характерна повышенная чувствительность к свету высокой интенсивности: при $+10 \text{ }^\circ\text{C}$ фотоингибирование роста микроводоросли отмечено при интенсивности света выше $120 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, *Skeletonema costatum*, интенсивность света, температура

Диатомовая водоросль *Skeletonema costatum* Cleve, 1873 является одним из доминирующих представителей фитопланктона Чёрного моря в зимне-весенний период, когда, по данным натурных наблюдений, в прибрежных районах происходит её цветение. Исследование видового разнообразия микроводорослей в прибрежных водах Крыма, проведённое М. И. Сеничевой в 1983–2006 гг., показало, что в годы с холодными зимами (температура ниже $+8 \text{ }^\circ\text{C}$) при интенсивном конвекционном перемешивании вод вклад *S. costatum* в общую биомассу фитопланктона может достигать 95–98 %. Пик развития вида приходится на раннюю весну (февраль — март); в этот период отмечены температурный минимум ($+6 \dots +8 \text{ }^\circ\text{C}$) и максимальная концентрация минеральных солей. В годы с более тёплой зимой ($+8 \dots +12 \text{ }^\circ\text{C}$) и менее интенсивным конвективным перемешиванием вод видовое разнообразие водорослей значительно увеличивается, но *S. costatum* остаётся одним из доминирующих видов (Сеничева, 2008). По данным Ю. В. Брянцевой (2008), в январе — феврале 2004–2006 гг. вклад *S. costatum* в суммарную численность фитопланктона Севастопольской бухты составил от 89 до 94 %.

Вероятно, преобладание *S. costatum* в условиях низкой освещённости и температуры обусловлено определёнными конкурентными преимуществами диатомеи перед другими представителями фитопланктона, позволяющими ей занимать доминирующую позицию в море в зимний и ранневесенний период. Результаты комплекса собственных экспериментальных исследований [их методические аспекты отражены в (Акимов и Соломонова, 2019 ; Шоман и Акимов, 2012 ; Shoman & Akimov, 2015)] позволили выявить ряд индивидуальных физиологических особенностей вида при культивировании в условиях низкой освещённости и температуры:

1. Для *S. costatum* характерна высокая эффективность роста (α) при световом лимитировании — $0,13 \text{ сут}^{-1} \cdot (\text{мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1})^{-1}$, не зависящая от температуры в диапазоне $+8 \dots +20 \text{ }^\circ\text{C}$. Описываемая величина отражает увеличение удельной скорости роста водорослей в условиях светового лимитирования при повышении интенсивности света на $1 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Согласно результатам одного из недавних обзорных исследований (Edwards et al., 2015), эффективность роста разных представителей фитопланктона при световом лимитировании варьирует от $0,001$ до $0,1 \text{ сут}^{-1} \cdot (\text{мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1})^{-1}$; при этом преобладающая доля значений α у диатомовых водорослей находится в диапазоне $0,015\text{--}0,03 \text{ сут}^{-1} \cdot (\text{мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1})^{-1}$. Ввиду этого значение эффективности роста *S. costatum* сопоставимо с максимальными значениями, зарегистрированными в целом у микроводорослей.
2. У *S. costatum* зафиксированы более низкие значения насыщающей рост интенсивности света (I_k), чем у других видов диатомей. Так, при температуре $+5 \text{ }^\circ\text{C}$ значение I_k у *S. costatum* составило $12 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, а при $+10 \text{ }^\circ\text{C}$ — $18 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. При $+15 \text{ }^\circ\text{C}$ выход световой зависимости скорости роста на плато наблюдался при освещённости $24 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Для сравнения: у *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, 1897 и *Nitzschia* sp. No. 3 величина I_k в сходных условиях роста при $+10 \text{ }^\circ\text{C}$ составляла 40 и $33 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ соответственно (Шоман и Акимов, 2012). По литературным данным, насыщение скорости роста диатомовых водорослей при оптимальной температуре ($+18 \dots +22 \text{ }^\circ\text{C}$) отмечено в среднем при $84 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (Richardson et al., 1983). Имея данные примерно о двукратном снижении величины I_k при $+10 \text{ }^\circ\text{C}$, можно заключить, что она уменьшается до $40 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Минимальные значения фотосинтетически активной радиации, падающей на поверхность моря, в январе — феврале составляют $4\text{--}5 \text{ Э} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$. Ввиду большой протяжённости верхнего квазиоднородного слоя в этот сезон (около 30 м) средняя интенсивность света в нём не превышает $2 \text{ Э} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$ ($\approx 25 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) (Финенко и др., 2018). Таким образом, в январе — феврале фитопланктон существует в условиях температурного минимума, низкой интенсивности света и протяжённого верхнего квазиоднородного слоя.
3. Для *S. costatum* характерна высокая скорость роста при низкой температуре. Так, при $+5 \dots +10 \text{ }^\circ\text{C}$ скорость роста описываемого вида примерно вдвое выше, чем у других представителей диатомового комплекса зимне-весенней сукцессии фитопланктона Чёрного моря. В частности, в экспериментах установлено, что в указанном температурном диапазоне (при прочих одинаковых условиях роста) удельная скорость роста *S. costatum* составляет $0,9\text{--}1,5 \text{ сут}^{-1}$, в то время как у *Chaetoceros curvisetus* Cleve, 1889, *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. C. Lewin, 1964, *Thalassiosira parva* Proschkina-Lavrenko, 1955 и *Ditylum brightwellii* (T. West) Grunow, 1885 эта величина равна $0,3\text{--}0,8 \text{ сут}^{-1}$ (Акимов и Соломонова, 2019).
4. *S. costatum* характеризуется повышенной чувствительностью к свету высокой интенсивности. В условиях лабораторного эксперимента при температуре $+15 \text{ }^\circ\text{C}$ световое ингибирование роста водорослей начинает проявляться при интенсивности света выше $140 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, а при $+10 \text{ }^\circ\text{C}$ — выше $120 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Как известно, пик развития *S. costatum* приходится на ранневесенний период (Брянцева, 2008). В апреле изменение

условий роста (увеличение фотосинтетически активной радиации, повышение температуры, начало формирования температурной стратификации вод) приводит к смене видового состава фитопланктонного сообщества и к значительному увеличению его разнообразия. В ходе зимне-весенней сукцессии черноморского фитопланктона в годы с тёплой весной в апреле — мае холодолюбивые мелкоклеточные диатомовые виды сменяются более теплолюбивыми: *Chaetoceros curvisetus*, *Chaetoceros affinis* Lauder, 1864, *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Cleve) Heiden, 1928, *Proboscia alata* (Brightwell) Sundström, 1986 и *Dactyliosolen fragilissimus* (Bergon) Hasle, 1996. В то же время в годы с холодной весной *S. costatum* может доминировать в планктоне вплоть до конца мая (Сеничева, 2008). Таким образом, сочетание световых и температурных условий, наблюдаемых в Чёрном море в апреле, является неблагоприятным для *S. costatum*, поскольку приводит к значительному снижению скорости роста водорослей и, вероятно, является одной из причин вытеснения *S. costatum* другими видами водорослей в середине весеннего периода.

Заключение. Основными конкурентными преимуществами *Skeletonema costatum* при вегетации в условиях низкой освещённости и температуры являются высокая эффективность роста ($0,13 \text{ сут}^{-1} \cdot (\text{мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1})^{-1}$), низкие значения насыщающей рост интенсивности света ($12 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ при $+5 \text{ }^\circ\text{C}$ и $18 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ при $+10 \text{ }^\circ\text{C}$) и высокая удельная скорость роста при низкой температуре ($0,9\text{--}1,5 \text{ сут}^{-1}$ при $+5 \dots +10 \text{ }^\circ\text{C}$). Это в совокупности с низкой конкуренцией создаёт максимально благоприятные условия для развития *S. costatum* в Чёрном море в зимний и ранневесенний период.

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 121041400077-1).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Акимов А. И., Соломонова Е. С. Характеристики роста и флуоресценции некоторых видов водорослей при акклимации к различным температурам в условиях культур // *Океанология*. 2019. Т. 59, № 3. С. 347–359. [Akimov A. I., Solomonova E. S. Characteristics of growth and fluorescence of certain types of algae under acclimation to different temperatures under conditions of cultures. *Okeanologiya*, 2019, vol. 59, no. 3, pp. 347–359. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.31857/S0030-1574593347-359>
2. Брянцева Ю. В. Особенности сезонной сукцессии фитоценозов Севастопольской бухты в 2004–2006 гг. // *Микроводоросли Чёрного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования* / под ред. Ю. Н. Токарева, З. З. Финенко, Н. В. Шадрина. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2008. С. 18–23. [Bryantseva Yu. V. Features of seasonal succession of phytocenoses of the Sevastopol Bay in 2004–2006. In: *Mikrovodorosli Chernogo morya: problemy sokhraneniya bioraznoobraziya i biotekhnologicheskogo ispol'zovaniya* / Yu. N. Tokarev, Z. Z. Finenko, N. V. Shadrina (Eds). Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2008, pp. 18–23. (in Russ.)]
3. Сеничева М. И. Видовое разнообразие, сезонная и межгодовая изменчивость микроводорослей в планктоне у берегов Крыма // *Микроводоросли Чёрного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования* / под ред. Ю. Н. Токарева, З. З. Финенко, Н. В. Шадрина. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2008. С. 5–17. [Senicheva M. I. Species diversity, seasonal and interannual variability of microalgae in plankton near the coast of Crimea. In: *Mikrovodorosli Chernogo morya: problemy sokhraneniya bioraznoobraziya i biotekhnologicheskogo ispol'zovaniya* / Yu. N. Tokarev, Z. Z. Finenko, N. V. Shadrin (Eds). Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2008, pp. 5–17. (in Russ.)]
4. Финенко З. З., Ковалева И. В., Суслин В. В. Новый подход к оценке биомассы фитопланктона *noobraziya i biotekhnologicheskogo ispol'zovaniya* / Yu. N. Tokarev, Z. Z. Finenko, N. V. Shadrin (Eds). Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2008, pp. 18–23. (in Russ.)]

- и её вариабельности в поверхностном слое Чёрного моря по спутниковым данным // *Успехи современной биологии*. 2018. Т. 138, № 3. С. 294–307. [Finenko Z. Z., Kovaleva I. V., Suslin V. V. A new approach to estimate phytoplankton biomass and its variability in the Black Sea surface water layer based on satellite data. *Uspekhi sovremennoi biologii*, 2018, vol. 138, no. 3, pp. 294–307. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S0042132418030079>
5. 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 biologii, ekologii ta khimii* : zb. materialiv III Mizhnar. konf., Zaporizhzhia, 29 March – 1 April, 2012. Zaporizhzhia, 2012, pp. 61–62. (in Russ.)]
 6. Edwards K. F., Thomas M. K., Klausmeier C. A., Litchman E. Light and growth in marine phytoplankton: Allometric, taxonomic, and environmental variation. *Limnology and Oceanography*, 2015, vol. 60, iss. 2, pp. 540–552. <https://doi.org/10.1002/lno.10033>
 7. Richardson K., Beardall J., Raven J. A. Adaptation of unicellular algae to irradiance: An analysis of strategies. *New Phytologist*, 1983, vol. 93, iss. 2, pp. 157–191. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1983.tb03422.x>
 8. Shoman N. Yu., Akimov A. I. The combined influence of light intensity and temperature on organic carbon to chlorophyll α ratio in three species of marine Bacillariophyta. *International Journal on Algae*, 2015, vol. 17, iss. 1, pp. 82–93. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v17.i1.70>

**COMPETITIVE ADVANTAGES OF THE DIATOM
SKELETONEMA COSTATUM CLEVE, 1873
IN THE BLACK SEA IN THE WINTER–SPRING PERIOD**

N. Yu. Shoman and A. I. Akimov

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

Individual physiological features of the *Skeletonema costatum* vegetation under low light intensity and low temperature are described; these peculiarities allow the species to prevail in the Black Sea phytoplankton in winter and early spring. This marine diatom is characterized by high growth efficiency under light-limiting conditions ($0.13 \text{ day}^{-1} \cdot (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$) which indicates an increase in the specific growth rate of the alga with a rise in light intensity by $1 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Moreover, the species is characterized by low values of the light intensity saturating the growth – $12 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ at $+5 \text{ }^\circ\text{C}$ and $18 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ at $+10 \text{ }^\circ\text{C}$. At $+5 \dots +10 \text{ }^\circ\text{C}$, *S. costatum* growth rate is about 2 times higher than that of other representatives of the Black Sea phytoplankton in the winter–spring period. This diatom shows increased sensitivity to high light intensity: at $+10 \text{ }^\circ\text{C}$, photoinhibition of microalgae growth is observed under light intensity above $120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

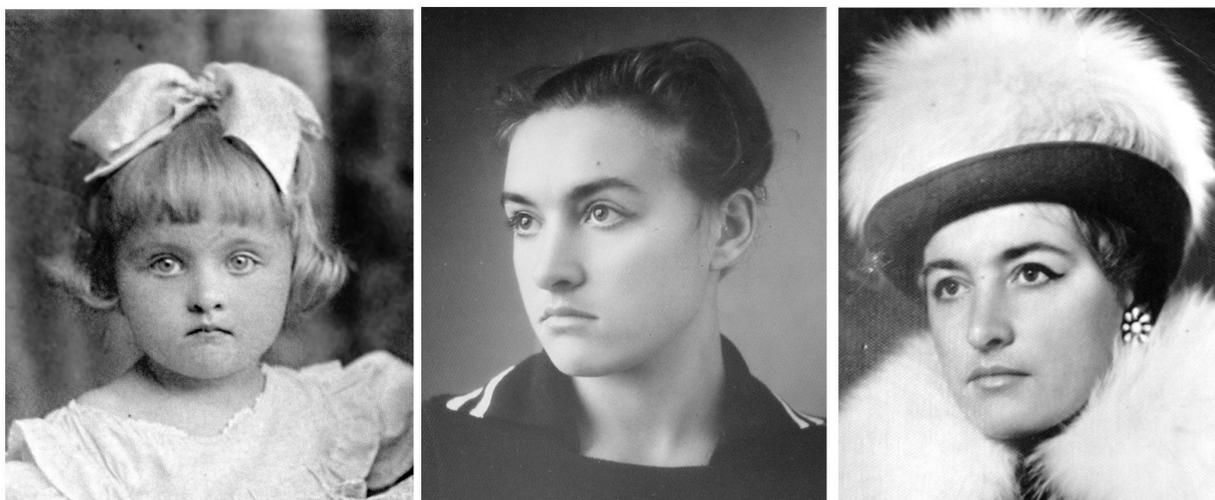
Keywords: diatoms, *Skeletonema costatum*, light intensity, temperature

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

**К 85-ЛЕТИЮ ПАРАЗИТОЛОГА С МИРОВЫМ ИМЕНЕМ —
ПРОФЕССОРА АЛЬБИНЫ ВИТОЛЬДОВНЫ ГАЕВСКОЙ**

Альбина Витольдовна (девичья фамилия — Яцевич) родилась 21 августа 1937 г. в Севастополе. Она была очень красивым ребёнком; возможно, этому способствовало смешение кровей представителей разных народов — поляков, литовцев, итальянцев, украинцев, молдаван, казахов, русских. В детстве Альбина была настоящей грозой мальчишек: она часто вступала с ними в схватки и одерживала маленькие победы. Она всегда считала нужным отстаивать свою правоту, а тогда это был наиболее понятный ей способ.

С самого детства Альбина увлекалась географией, грезила путешествиями, покупала все доступные издания из серии «Путешествия. Приключения. Фантастика», занималась парусным спортом (в её домашнем архиве сохранились почётные грамоты за призовые места на соревнованиях разного уровня — от местных до всесоюзных) и мечтала стать капитаном дальнего плавания. В те годы девушек в мореходку не брали, потому она поступила на географический факультет Крымского пединститута в Симферополе. Практически каждую субботу после лекций, а иногда и сбежав с них, Альбина мчалась в Севастополь, чтобы провести воскресенье в яхт-клубе. Парусный спорт — занятие увлекательное, романтическое, но небезопасное. Так, однажды во время прогулки на яхте «Дружба» на повороте кто-то из ребят не выбрал шкоты грота, и при переброске гика на другой борт эти шкоты, взметнувшись, закрутились вокруг её шеи. Весь удар произвольной «удавки» приняли на себя жемчужные бусы, в три ряда охватывавшие её шею. Жемчужины посыпались в разные стороны, а на шее долгое время оставался шрам.



Альбина Витольдовна Гаевская в 3 года, 21 год и 30 лет

Когда Альбина училась на 3-м курсе, географический факультет пединститута преобразовали в естественно-географический, добавив изучение биологических дисциплин. И жизнь распорядилась так, что, изначально совершенно не имея склонности к биологии, Альбина ни дня не проработала географом. После университета она в течение года по распределению работала учителем биологии в одной из школ Донецка, где вышла замуж и взяла фамилию супруга — Долгих. В 1962 г. она устроилась в сектор паразитологии Севастопольской биологической станции стажёром на бесплатной основе. Начинала в науке Альбина как хороший солдат, планирующий впоследствии стать генералом: для Валентины Митрофановны Николаевой, заведующей сектором паразитологии, она делала переводы научных материалов с английского, выполняла рисунки для статей, расписывала публикации для картотеки, чистила препараты, а заодно штудировала паразитологическую литературу. Затем, уже имея на руках двухмесячного сына, поступила в аспирантуру к известному специалисту по гельминтам, профессору, заведующему кафедрой зоологии Крымского пединститута Семёну Людвиговичу Делямуре. Диссертацию «Личинки трематод — паразиты моллюсков крымского побережья Чёрного моря» (1965) к защите она представила до окончания аспирантуры, получив распределение в Институт биологии южных морей.

Через несколько лет, будучи в разводе, Альбина Витольдовна встретила в Юрмале свою вторую любовь и вышла замуж, взяв фамилию супруга. Под фамилией Гаевская она здравствует и поныне. Решив остаться в Прибалтике, в 1971 г. пришла на работу в АтлантНИРО (Калининград), где организовала сектор паразитологии. В 1986 г., после смерти мужа и защиты докторской диссертации «Паразиты рыб Северо-Восточной Атлантики: фауна, экология, особенности формирования» (1985), Альбина Витольдовна получила приглашение в ИнБЮМ от его директора Аллы Леонтьевны Морозовой. Здесь профессор Гаевская создала отдел экологической паразитологии, которым руководила 25 лет.

Её личная жизнь нашла яркое отражение в прекрасном потомстве: у неё 3 сына, 7 внуков и 4 правнука. Мечты о путешествиях осуществились в экспедициях по черноморскому побережью Крыма, Кавказа и одесских лиманов. Участие в работе научных конференций и симпозиумов позволило побывать во многих европейских регионах СССР (от Мурманска до Тбилиси) и за рубежом (в Германии, тогдашней Чехословакии, Турции, Польше, Венгрии, Великобритании).

За десятилетия плодотворной научной деятельности ею опубликовано более 380 работ, в том числе 30 монографий и 5 патентов. «Паразитология и патология рыб: энциклопедический словарь-справочник» (2003, 2004, 2006), двухтомник «Паразиты и болезни рыб Чёрного и Азовского морей» (2012, 2013) и трёхтомник «Мир паразитов человека» (2015, 2016, 2017) уникальны: подобных им в России нет.

Научный круг вопросов морской паразитологии, изученных А. В. Гаевской, очень широк. Она внесла значительный вклад в систематику паразитов морских рыб и беспозвоночных (ею описаны 14 родов и 1 подсемейство, а также более 100 новых для науки видов паразитов — трематод, моногеней, миксоспоридий и ракообразных). В результате её исследований расширены сведения об ареалах сотен видов паразитов различных систематических групп, их паразито-хозяйственных комплексах, особенностях формирования и функционирования паразитарных систем с учётом биогеографической истории водоёмов, воздействия факторов внешней среды, систематического положения, биологии и экологии хозяев из разных зон Мирового океана.

Ею впервые проведена полная инвентаризация паразитофауны рыб Северо-Восточной Атлантики с составлением списков паразитов всех таксонов с указанием их хозяев и районов обнаружения, а это 1035 видов 423 родов 153 семейств. Выявлена роль разных классов рыб в происхождении и становлении тех или иных крупных таксонов паразитов в этом регионе

и показана роль кальмаров в трофико-паразитарной системе океана. Установлено, что становление паразитизма подавляющего большинства групп морских паразитов связано с донными рыбами, прежде всего рыбами шельфа, а заселение глубин и пелагиали носит вторичный характер. Впервые предложен метод вертикальной зональности экологических группировок для анализа паразитофауны рыб морских акваторий, позволяющий сочетать вопросы генезиса фауны и её современного распространения. Теоретические работы Альбины Витольдовны внесли значительный вклад в развитие представлений о роли паразитов в трансформации вещества и энергии, а также их стабилизирующей функции в экосистемах.

Результаты её исследований имеют большое практическое значение. А. В. Гаевской показано, что паразиты могут служить индикаторами различных сторон биологии рыб, использоваться при выделении единиц запаса промысловых рыб, быть маркерами антропогенного пресса на морские экосистемы. В её публикациях большое внимание уделено эпизоотологическому значению паразитов рыб и беспозвоночных и предложена одна из концепций развития марикультуры, обосновывающая необходимость включения паразитологических работ как составного элемента биотехники культивирования морских организмов. Разработана теоретическая модель становления и функционирования паразитарных систем в условиях искусственных рифов.

В честь Альбины Витольдовны Гаевской коллегами из Индии, Великобритании, России и Украины названы 1 род трематод — *Gaevskajatrema* Gibson & Bray, 1982 — и 15 видов паразитов из разных систематических групп, что является признанием её большого вклада в мировую науку.

По её инициативе в ИнБЮМ был создан «Морской экологический журнал», научным редактором которого она являлась с 2002 по 2014 г. Она была главным редактором «Морского биологического журнала» (2016), заместителем главного редактора сборника «Экология моря» (1997–2010) и научным редактором более чем 10 коллективных монографий. Многие годы она возглавляла диссертационный совет по защите диссертаций по специальности «гидробиология» и была заместителем председателя учёного совета ИнБЮМ.

А. В. Гаевская — заслуженный деятель науки и техники АР Крым, академик Крымской академии наук, лауреат премии имени И. И. Шмальгаузена за достижения в области зоологии, лауреат Государственной премии Украины в области науки и техники и лауреат Общегородского форума «Общественное признание» (Севастополь). Она награждена памятными медалями академика К. И. Скрябина и академика Е. Н. Павловского, Золотой медалью имени В. И. Вернадского и другими медалями, почётными грамотами и благодарственными письмами от Государственной Думы РФ, Верховной рады Украины, Совета министров АР Крым, Президиума НАН Украины, Крымской академии наук, Севастопольской городской администрации, губернатора г. Севастополя, Ленинской районной администрации г. Севастополя, Севастопольского регионального отделения Союза женщин России.

Под руководством Альбины Витольдовны Гаевской успешно защищены 13 кандидатских диссертаций. Её ученики работают в Севастополе, Калининграде, Москве, Мурманске, Одессе, Днепре, Белой Церкви. В настоящее время А. В. Гаевская активно участвует в жизни города, являясь членом совета общественного движения «За наш город-герой Севастополь».

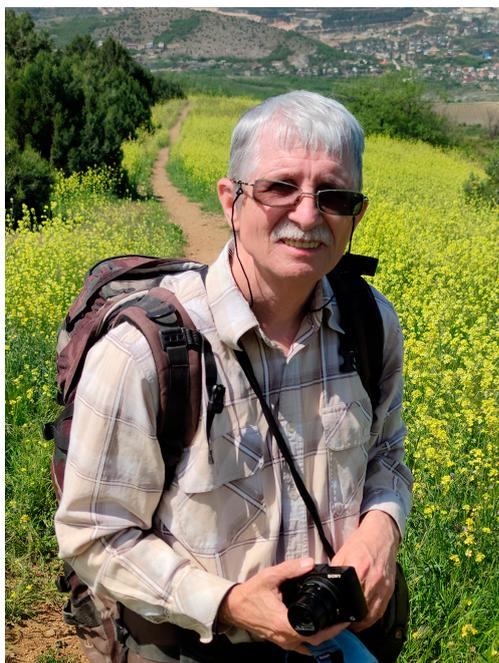
От имени всех учеников, коллег и друзей поздравляем дорогого нашего юбиляра с прекрасной датой и желаем долгих лет жизни в радости и счастье при добром здравии!

*В. н. с. отдела экологической паразитологии ИнБЮМ, к. б. н.
В. М. Юрахно*

**ON THE 85TH ANNIVERSARY OF THE WORLD-FAMOUS PARASITOLOGIST –
PROFESSOR ALBINA GAEVSKAYA**

On 21 August, 2022, professor Albina Gaevskaya celebrates her anniversary. She is an outstanding parasitologist who described 1 subfamily, 14 genera, and over 100 new marine parasite species and published more than 380 scientific papers, *inter alia* 30 monographs and 5 patents. Under her supervision, 13 PhD theses were defended.

К ЮБИЛЕЮ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК АЛЕКСАНДРА ВАСИЛЬЕВИЧА ПРАЗУКИНА



1 сентября 2022 г. исполнилось 70 лет доктору биологических наук, ведущему научному сотруднику лаборатории экстремальных экосистем ФИЦ ИнБИОМ Александру Васильевичу Празукину.

В далёком 1965 г. увлечённый биологией пятиклассник Саша Празукин впервые пришёл в ИнБИОМ, где в созданном сотрудниками института клубе «Дельфин» начал свой научный путь с изучения ихтиологии и зообентоса. Спустя четыре года он познакомился с выдающимся учёным Кириллом Михайловичем Хайловым, верным учеником и последователем научных идей которого остаётся до сих пор.

Окончив Одесский университет, в 1977 г. Александр Васильевич поступил на работу в ИнБИОМ и прошёл путь от лаборанта до ведущего научного сотрудника. За это время им опубликовано около 200 научных работ, 7 монографий, в том числе 5 авторских. Направления его исследований разнообразны: функциональная

морфология многоклеточных водорослей, пространственная организация фитосистем, биологические и экологические аспекты функционирования фитосистем прибрежных мелководий и озёр с разным уровнем солёности. Им разработаны вопросы иерархической организации водных биокосных фитосистем, общие методы измерения обитаемых пространств фитосистем разного уровня организации, способы определения фотосинтетической активности растительных матов и т. д. На всех этапах профессиональной деятельности А. В. Празукина интересуют вопросы практического применения научных знаний — многоцелевое использование биомассы морских водорослей, принципы конструирования искусственных рифов и др.

В 1991 г. Александр Васильевич защитил кандидатскую диссертацию «Структурные и функциональные изменения черноморской цистозеры в условиях эвтрофирования (иерархический подход)» по специальности «гидробиология», а в 2013 г. — докторскую «Структурно-функциональная и экологическая организация наземных и водных фитосистем в условиях юга Украины» по специальности «экология».

А. В. Празукин является членом редколлегий нескольких научных журналов («Морской биологический журнал», «Вестник МГТУ», «Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря») и членом диссертационного совета по защите диссертаций по специальности «гидробиология» при ФИЦ ИнБИОМ. Кроме того, он заместитель председателя Крымского отделения Гидробиологического общества при РАН и член Ботанического общества при РАН.

С годами его научная активность не убывает: в последние пять лет, наряду с выполнением темы государственного задания, он руководил проектом РФФИ и является ответственным исполнителем гранта РФФИ. Александр Васильевич щедро делится своими знаниями с молодёжью — такой же любознательной, как и он когда-то. На протяжении 15 лет он читал курсы лекций «Основы экологии» и «Природоведение» в Севастопольском филиале ОГПИ имени К. Д. Ушинского.

Сделано Александром Васильевичем уже немало, но у него большие научные планы. Коллектив института желает ему крепкого здоровья, вдохновения и осуществления задуманного!

ON THE ANNIVERSARY OF D. SC. ALEXANDER PRAZUKIN

On 1 September, 2022, D. Sc. Alexander Prazukin celebrates his 70th birthday. A. Prazukin, the leading researcher of IBSS laboratory of extreme ecosystems, is the author of about 200 scientific papers, a member of editorial boards of several scientific journals, and a deputy chairman of the Crimean Branch of Russian Hydrobiological Society of the RAS.

НЕСКОЛЬКО СТРАНИЦ ИЗ ЖИЗНИ ВИТАЛИЯ ЕВГЕНЬЕВИЧА ГИРАГОСОВА (АНТИНЕКРОЛОГ)



Почему «антинекролог»? Потому что, хотя уже нельзя услышать его «привет», сказать или написать, что Виталий Гирагосов уже не с нами на этой грешной Земле, просто нелепо. Слово «некролог» не вяжется с ним никак! Начиная с его имени, означающего «жизненный», и заканчивая всеми нашими живыми воспоминаниями и мыслями о нём.

У разных людей — разные ассоциации, разные ощущения, разная память, разные воспоминания. Каждый из тех, кто был знаком с Виталием, мог бы рассказать что-то уникальное — то, что возникало в диалоге с ним. Неважно, был ли это разговор о предмете исследования, о рыбах, птицах или растениях, об экспедициях и поездках, о прочитанных книгах или просмотренных фильмах, о детстве или взрослой жизни, серьёзный ли это был разговор или шуточный.

Любой из его очень разных собеседников сказал бы, что с ним очень интересно и никогда не бывает скучно, ты всегда узнаёшь нечто новое и ждёшь следующую встречу. И сказал бы непременно, что он никогда не жаловался и не ссыался на свои проблемы или болезни и всегда старался помочь. Никогда не влезавший в дразги и сплетни, он умел поддерживать ровные отношения даже с очень непростыми и, возможно, неприятными ему людьми. В любой ситуации это был самый надёжный товарищ, оплот во всём. При полном отсутствии мачизма и брутальности это был человек с исключительно мужским характером — исключительной порядочности, исключительной эрудиции и исключительной скромности. Его исследования были кропотливы и надёжны, как он сам.

Если не знать о спортивном прошлом Виталия, то, не будучи знакомым с ним лично, но прочитав его статьи, можно было подумать, что он педант и книжный червь. О да, он очень много читал и знал. Однако с детства в его жизни было много спорта, соревнований и свободы передвижения. В школьное время он облазил и изучил все терриконы вокруг родного Стаханова, где дома разводил всяческую живность; летом он узнавал всё больше о жизни моря в Геленджике.

Детство этого советского мальчика, пожалуй, во многих чертах оказалось сходным с детством английского мальчика Джеральда Даррелла на острове Корфу (см. «Моя семья и другие звери»). И того, и другого судьба привела в натуралисты. Виталия она сначала направила на биофак Кубанского университета и позволила ему исследовать Кубань и Прикавказье.



Потом поманила аспирантурой в ИнБЮМ с темой изучения миктофид Мирового океана, которая обещала ему экспедиции в дальние моря и океаны, куда его так ни разу загадочным образом не допустили. А жизнь миктофид по законсервированному материалу он исследовал настолько досконально и кандидатскую диссертацию написал настолько уникальную, что в Институте гидробиологии, в котором он защищался, хотели присвоить (но так и не смогли из-за бюрократизма) докторскую степень.

Немного ему удалось попутешествовать в дальние страны. В мексиканском Университете моря в 2001 г. он был уникальным преподавателем и единственным специалистом по репродукции рыб. А изучение возраста по отолитам океанических миктофид планомерно привело его к знакомству с известным экспертом в этой области — доктором Томашем Линковски, директором Института рыболовства в Гдыне, который в 2009 г. пригласил Виталия исследовать собранную коллекцию отолитов калкана на уникальном специализированном оборудовании. Вот и все его Дальние страны.

Зато он вернулся к любви юности, самой верной — к птицам — и посвятил много времени изучению водоплавающих мигрирующих птиц в Севастопольском регионе. Здесь он тоже оказался уникальным специалистом — на этот раз орнитологом. За последние годы он открыл много нового в их жизни, причём совсем недалеко, в черте нашего города. Снял сотни уникальных кадров и увлекательно и профессионально рассказал о них в Интернете и по ТВ бесчисленному множеству людей. Своей увлечённостью он заразил других и помог им полюбить этих вольных созданий.

И вдруг, 20 февраля 2022 г., внезапно для всех, улетел из нашего мира. Возможно, он устал от многого и поэтому ушёл рано. Сейчас его душа вольна и может быть где угодно. Может парить в небесах с птицами, а может оказаться в глубинах океанов. А нам всем всё ещё кажется, что он пошутил и вот сейчас внезапно войдёт или позвонит и скажет, что задержался.

Нам всем очень его не хватает.



Но, включив видеофильм «Долгий путь морских экспедиций» (<https://media.marine-research.ru/items/show/1610>), можно на протяжении десяти минут слушать его чудесный голос, который, возможно, именно Вам лично рассказывает «Зачем человек изучает Океан?»

*В. н. с. отдела аквакультуры и морской фармакологии ФИЦ ИнБЮМ, к. б. н.
А. Н. Ханайченко*

A FEW PAGES FROM THE LIFE OF VITALY GIRAGOSOV (ANTI-OBITUARY)

On 20 February, 2022, our dear friend and colleague, Vitaly Giragosov, suddenly passed away. He was a well-known specialist in ichthyology and ornithology and the author of numerous scientific papers.

Учредитель и издатель журнала:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт биологии южных морей
имени А. О. Ковалевского РАН»
(ОГРН 1159204018478)

Соиздатель журнала:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Зоологический институт РАН

Рекомендовано к печати решением учёного совета
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра
«Институт биологии южных морей
имени А. О. Ковалевского РАН»
(протокол № 11 от 19.08.2022).

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций
(свидетельство о регистрации средства массовой информации
ПИ № ФС 77 - 76872 от 24.09.2019).

Выпускающий редактор номера:

д. б. н. Рябушко В. И.

Корректор:

Копытова О. Ю.

Перевод:

Тренкеншу Т. А., Надточенко И. А.

Компьютерная вёрстка:

Баяндин А. С.

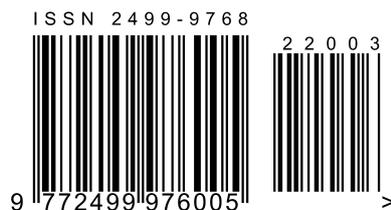
Оригинал-макет подготовлен в пакете \LaTeX (TeX Live 2015 / Debian Linux)
с использованием свободных шрифтов FreeSerif и FreeSans.

Материалы журнала доступны на условиях лицензии
Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0).



Подп. к печати 19.08.2022	Дата выхода в свет 13.09.2022	Заказ № 57397	Тираж 100 экз.
Формат 60 × 84/8	Уч.-изд. листов 9,3	Усл. печ. листов 13,25	Печать цифровая

Отпечатано в типографии: ИП Ермолов М. П., ОГРНИП 314920436710081 от 26.12.2014;
ул. Кулакова, д. 59, г. Севастополь, 299011;
тел.: +7 978 70-45-111; e-mail: print-e@yandex.ru.



Вниманию читателей!

*Институт биологии южных морей
имени А. О. Ковалевского РАН,
Зоологический институт РАН*

*издают
научный журнал*

*Морской биологический журнал
Marine Biological Journal*

- 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 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 54-06-49.
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*

*Морской биологический журнал
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 the 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.
Tel.: +7 8692 54-06-49.
E-mail: mbj@imbr-ras.ru.