

ISSN 0134-3475

Том 49, Номер 3

Май - Июнь 2023



БИОЛОГИЯ МОРЯ

www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 49, номер 3, 2023

Обзор

Объединение мускулов челюстного аппарата некоторых видов костистых рыб (Teleostei):
строение и функционирование

Е. С. Громова, В. В. Махотин

149

Оригинальные статьи

Биохимические и ультраструктурные изменения микроводоросли *Tisochrysis lutea*
El M. Bendif & I. Probert, 2013 (Haptophyta) на разных стадиях роста
в накопительной культуре

Т. Ю. Орлова, Ж. В. Маркина, А. А. Карпенко, В. И. Харламенко, А. А. Зинов

166

Структура зоопланктонного сообщества в водах Шпицбергена в зимний период

И. В. Берченко, А. А. Олейник

175

Содержание микроэлементов в тканях брюхоногих моллюсков семейства
Vissiniidae (Gastropoda) у берегов юго-восточного Сахалина (Охотское море)

Ю. Н. Полтев, Т. Г. Коренева, В. Е. Марыжухин

186

Размерные и физиолого-биохимические показатели эритроцитов, индексы жабр
и сердца некоторых донных рыб черноморского побережья юго-восточного Крыма

Ю. А. Силкин, Е. Н. Силкина, М. Ю. Силкин, В. Н. Черняева

195

Морфофункциональный анализ клеточного состава гемолимфы двустворчатого
моллюска *Anadara broughtonii* (Schrenck, 1867) (Японское море)

Е. С. Кладченко, Т. А. Кухарева, В. Н. Рычкова, Э. С. Челебиева, А. Ю. Андреева

205

Краткие сообщения

Alorpiidae – новое для вод России семейство акул-лисиц

В. Н. Долганов, Л. Н. Ким

215

Contents

Volume 49, No 3, 2023

Review

- Muscle Complexes in the Jaw Apparatus of Teleost Fishes: Structure and Function
E. S. Gromova and V. V. Makhotin 149
-

Original papers

- Biochemical and Ultrastructural Changes in the Microalgae *Tisochrysis lutea* (Bendif et Probert) (Haptophyta) at different stages of growth in enhancement culture
T. Yu. Orlova, Zh. V. Markina, A. A. Karpenko, V. I. Kharlamenko, and A. A. Zinov 166
- The Structure of the Zooplankton Community in Spitsbergen Waters during the Winter Period
I. V. Berchenko and A. A. Oleinik 175
- Content of Trace Elements in Tissues of Gastropod Mollusks of the Family Buccinidae (Gastropoda) off the Coasts of South-Eastern Sakhalin (the Sea of Okhotsk)
Yu. N. Poltev, T. G. Koreneva, and V. Ye. Maryzhikhin 186
- Dimensional and Physiological-Biochemical Parameters of Erythrocytes and Gill and Heart Indices in Some Benthic Fish of the Black Sea Coast of the Southeastern Crimea
Yu. A. Silkin, E. N. Silkina, M. Yu. Silkin, and V. N. Chernyaeva 195
- Morphological Analysis of the Hemolymph Cell Composition in the Bivalve Mollusk *Anadara broughtonii* Schrenck, 1867 (Sea of Japan)
E. S. Kladchenko, T. A. Kukhareva, V. N. Rychkova, E. S. Chelebieva, and A. Yu. Andreyeva 205
-

Brief notes

- Alopiidae – A New Record of the Thresher Shark Family for the Fauna of Russia
V. N. Dolganov and L. N. Kim 215
-
-

УДК 597.5

ОБЪЕДИНЕНИЕ МУСКУЛОВ ЧЕЛЮСТНОГО АППАРАТА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ КОСТИСТЫХ РЫБ (TELEOSTEI): СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ

© 2023 г. Е. С. Громова¹, *, В. В. Махотин¹

¹Московский государственный университет (МГУ), Москва 119991, Россия

*e-mail: zhenya_s@inbox.ru

Поступила в редакцию 06.10.2022 г.

После доработки 10.12.2022 г.

Принята к публикации 26.01.2023 г.

Поперечнополосатые мышцы Teleostei иногда объединяются в сложные “надмышкульные” комплексы. При этом отдельные мускулы у рыб соединяются между собой параллельно и/или последовательно. Группа параллельно расположенных мускулов объединяет свои силы для осуществления единого мощного функционального акта. Последовательно расположенные мускулы соединяются между собой, получая тем самым увеличенную амплитуду и скорость совершаемых движений. Для описываемых “надмышкульных” комплексов предложен термин “сверхмускул”. В работе приведен обзор особенностей строения и функционирования сверхмускулов головы костистых рыб с параллельным и последовательным устройством. Обсуждается разнообразие причин формирования мышечных комплексов для разных таксонов Teleostei.

Ключевые слова: костистые рыбы Teleostei, функциональная морфология, челюстной аппарат, питание, объединение мышц, сверхмускулы

DOI: 10.31857/S0134347523030063, **EDN:** SBDNGJ

Устройство мускулов головы разных представителей костистых рыб неоднократно становилось темой ихтиологических исследований (Bruch, 1862; Greene, Greene, 1913; Alexander, 1967a, 1967b; Howes, 1976; Pietsch, 1989; Sanford, 2000; Datovo, Vari, 2013, 2014; Ghasemzadeh, 2016; Ziermann, Diogo, 2018; Deprá, 2019; Johnson, 2019; Cohen et al., 2023). В отличие от более примитивных хрящевых рыб Chondrichthyes, у большинства видов Teleostei мускулы висцерального скелета хорошо отделены друг от друга (Winterbottom, 1974a; Huby, Parmentier, 2019; Dutra et al., 2021; Pastana et al., 2022). Во второй половине XX века изучение аспектов работы дифференцированных (отдельных) мышц Teleostei получило активное развитие, главным образом, благодаря появлению разнообразных методов анализа, таких как электромиография (ЭМГ) (Lauder, Liem, 1980; Sanford, Lauder, 1989), рентген (Osse, 1969), компьютерная томография (Kenaley, 2012; Brocklehurst et al., 2019; Velasco-Hogan et al., 2021; Tran et al., 2021), скоростная видеосъемка (Sanford, 2001; Konow, Sanford, 2008a, 2008b; Martinez et al., 2022), комплексные статистические способы обработки собранных данных (Grubich, 2001; Konow et al., 2013; MacDonald, 2015; Farina, Bemis, 2016; Finley, 2017; Huby et al., 2019; Olivier et al., 2021). Однако вслед-

ствие огромного разнообразия костистых рыб, определенные особенности анатомии мускулов пищедобывательного аппарата ряда таксономических групп Teleostei до сих пор остаются слабо изученными (Dial et al., 2017), отсутствует функциональная интерпретация результатов их активности в системе висцерального механизма. Сложно предсказать итог совместного сокращения мускулов (особенно многосуставных) пищедобывательного аппарата рыбы исключительно по ЭМГ, без изучения анатомии. У некоторых видов Teleostei в повторяющихся экспериментах при кормлении одной и той же особи каким-либо определенным типом пищи обнаруживались вариации ЭМГ одних и тех же мускулов. Высказано предположение, что такая изменчивость сокращения может быть обусловлена различиями в морфологии областей мускула, в которые были имплантированы электроды (Sanderson, 1988).

В ходе анатомических исследований показано, что у некоторых представителей Teleostei висцеральные и/или соматические мускулы соединяются (по-видимому, вторично), формируя разного рода комплексы (Winterbottom, 1974a). Подобные структуры обнаруживаются как у примитивных (Громова, Махотин, 2016; Громова и др., 2017; Махотин, Громова, 2019), так и у продвинутых

Таблица 1. Препараты четырех исследованных видов Teleostei

Вид	Спиртовые препараты (шт.)	Сухие препараты (шт.)	Свежие препараты (шт.)
Семга <i>Salmo salar</i>	4	3	2
Серебряная аравана <i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	2	—	1
Белый толстолобик <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	5	3	3
Рубиново-пепельная рыба-попугай <i>Scarus rubroviolaceus</i>	3	2	3

(Громова, Махотин, 2020) таксонов костистых рыб. В русскоязычной и английской литературе отсутствуют обзоры, в которых описание вариантов слияния различных мышц головы у ряда костистых рыб сопровождается анализом функционального значения этих преобразований. При рассмотрении вариантов объединения мышц в челюстном аппарате Teleostei можно выделить два типа их устройства — с параллельным и последовательным соединением входящих в них компонентов (у большинства рыб — отдельных мышц). В результате подобного слияния формируются сверхмышцы, в которых обособленные у большинства костистых рыб мышцы рассматриваются как “порции”. У Teleostei объединение мышц висцерального черепа в некоторых случаях может быть обусловлено их иннервацией одинаковыми ветвями черепно-мозговых нервов или развитием из одного и того же эмбрионального зачатка (Winterbottom, 1974a). Однако в ряде примеров соединение отдельных мышц несет в себе функциональные причины: преимущества работы образованных комплексов.

Цель обзора — суммирование имеющихся сведений о морфологии мышечных объединений (сверхмышц) челюстной дуги у Teleostei с качественной оценкой их функциональной роли у ряда таксономических групп этих рыб. В нашей работе мы рассматриваем слияние мышц челюстей, суспензориума и жаберной крышки рыб. Для исследования разнообразия вариантов строения сверхмышц у особей Teleostei мы отобрали несколько характерных представителей, которые послужили “центрами кристаллизации” для сравнительного описания упомянутых анатомических конструкций у ряда таксонов костистых рыб. Таким образом, мы создали ключевые точки, “сетку” для накопления данных внутри Teleostei для изучения разнообразия устройства и работы этих мышечных комплексов. На основе подробного анализа анатомии групп мышц головы серебряной араваны *Osteoglossum bicirrhosum* (Cuvier, 1829), семги *Salmo salar* Linnaeus, 1758, белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844) и рубиново-пепельной рыбы-попугая *Scarus rubroviolaceus* Bleeker, 1847 сделаны функциональные интерпретации роли сверхмышц в процессе питания этих рыб.

В работе использованы сокращения: ААР — m. adductor arcus palatini, АД НУО — m. adductor hyo-mandibularis, АМ — m. adductor mandibulae, АО — m. adductor operculi, ДО — m. dilatator operculi, ЕР — m. epaxialis, ГН — m. geniohyoideus, НУХ — m. hypaxialis, ЛАР — m. levator arcus palatini, лиг. — связка (ligamentum), ЛО — m. levator operculi, м. — мускул (musculus), пр. — отросток (processus) и СН — m. sternohyoideus.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследовали строение мышц и соединительнотканых элементов висцерального черепа четырех видов Teleostei: половозрелых особей семги *Salmo salar*, серебряной араваны *Osteoglossum bicirrhosum*, белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* и рубиново-пепельной рыбы-попугая *S. rubroviolaceus*. Отмечены некоторые особенности устройства скелета их головы. Особи рубиново-пепельной рыбы-попугая *S. rubroviolaceus* находились на начальной стадии онтогенеза IP (initial phase) (Bruggemann et al., 1994; Howard et al., 2013). Материал приобретали на личные средства авторов.

В ходе работы изготавливали спиртовые, свежие и сухие препараты голов рыб (табл. 1). Препараты исследовали при помощи бинокляров МБС-1 (СССР) и Carl Zeiss Stemi SV11 (Германия).

Спиртовые препараты для исследования мускулатуры и соединительнотканых элементов головы готовили по традиционной методике (Ромейс, 1953). Изначально материал фиксировали в 4%-ном формалине, а затем переводили в 70%-ный этанол. Мускулатуру препарировали вручную, постепенно углубляясь в ее толщу. При изучении внутреннего строения внимание уделяли определению областей начала и окончания мышц, основного направления следования волокон, характеру перистости, а также конструкции содержащихся внутри них соединительнотканых структур.

Свежие препараты головы, предназначенные для анализа движений ротового аппарата рыбы, готовили, полностью очистив весь череп, оставляя лишь связки, или же оставив аддукторы нижней челюсти и часть мускулатуры латеральной области головы. На свежих препаратах голов каждого из указанных выше видов изучали возмож-

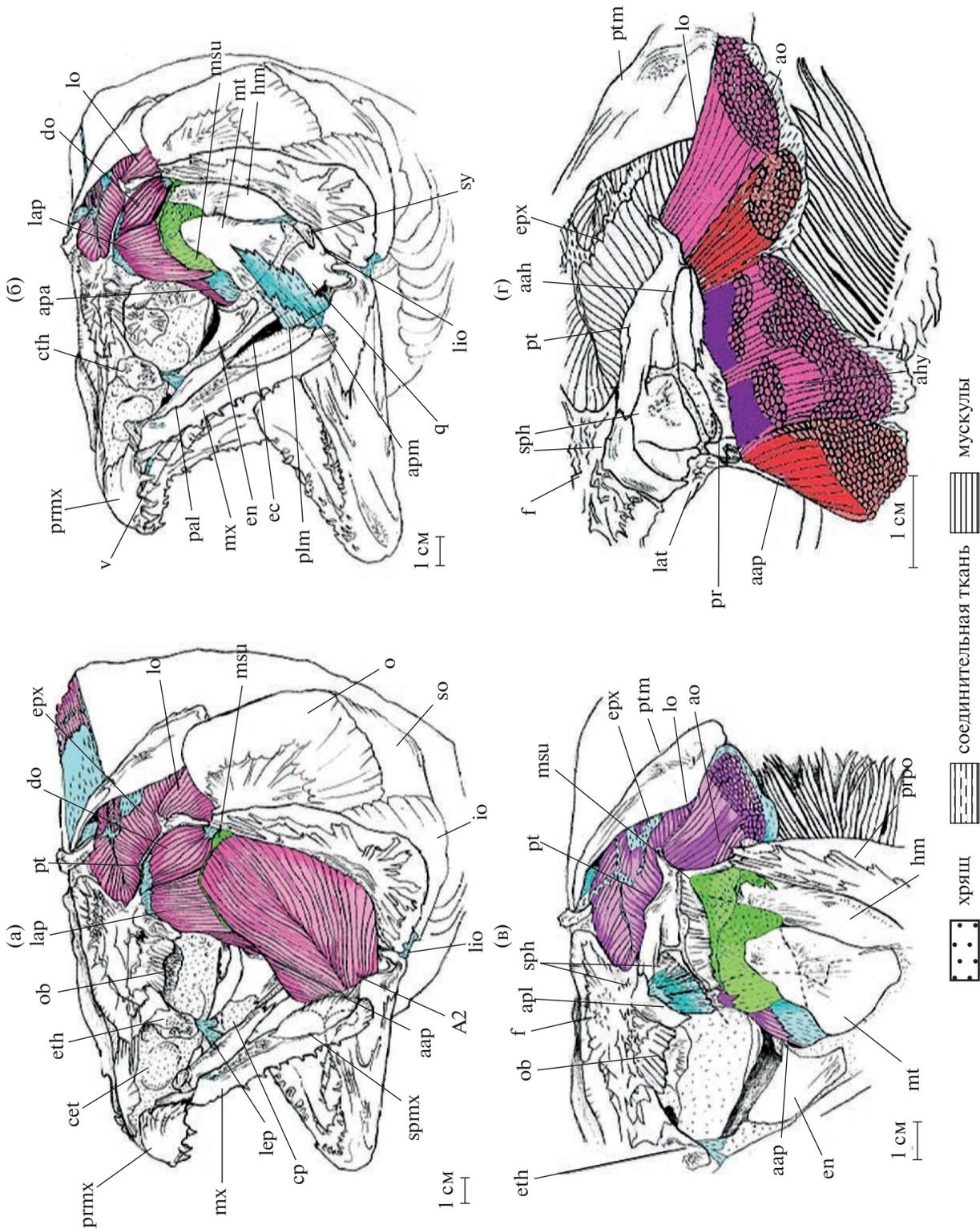


Рис. 1. Голова семги *Salmo salar*, вид сбоку, после снятия окологлазничных костей (а) и части мускулатуры (б). Мембрана suspensoria (отмечена зеленым), вид сбоку. Начальные апоневрозы *m. levator arcus palatini* (LAP) перерезаны (в). Некоторые висцеральные мускулы после снятия hyomandibulare и жаберной крышки (г). Связки, апоневрозы и соединительнотканые пленки выделены голубым.

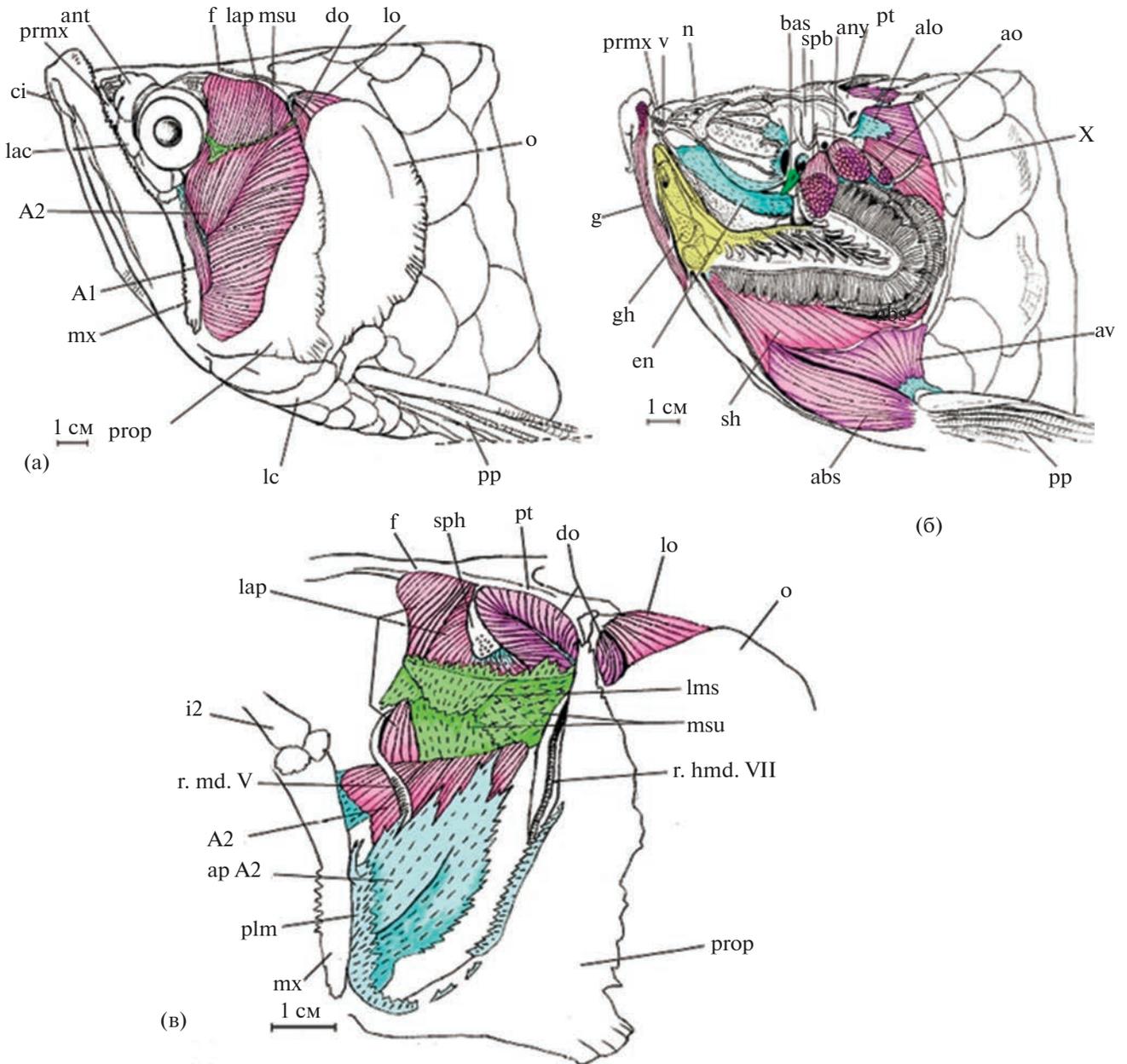


Рис. 2. Голова серебряной араваны *Osteoglossum bicirrhosum*, вид сбоку, после снятия части окологлазничных костей (а), суспензориума (б). Некоторые мускулы и соединительнотканые структуры головы, вид сбоку, после снятия большей части *m. adductor mandibulae* (в). *Membrana suspensoria* выделена зеленым, другие соединительнотканые образования отмечены голубым; базиптеригоидный отросток выделен салатовым. Язык рыбы показан желтым цветом.

ность кинетизма отделов спланхнокраниума. Для определения допустимого размаха перемещений костных элементов исследовали характер их соединений, а также состав и расположение связок в местах этих контактов.

Особенности остеологии черепа выбранных видов анализировали на очищенных по отдельности и высушенных вторичных передних челюстях, суспензориуме, аппарате гиоида, жаберных дугах и нейрокраниуме.

На основе цифровых цветных фотографий препаратов, выполненных с помощью камеры Panasonic Lumix DMC-FZ8 (Япония), сделаны подробные изображения структур головы рыб. Фотографии обрабатывали в программе Adobe Photoshop CS2, создавая по ним точные контурные рисунки, которые затем корректировали, сравнивая с исходным объектом. Для спиртовых препаратов выполняли серии послойных рисунков (в точном масштабе и с сохранением пропор-

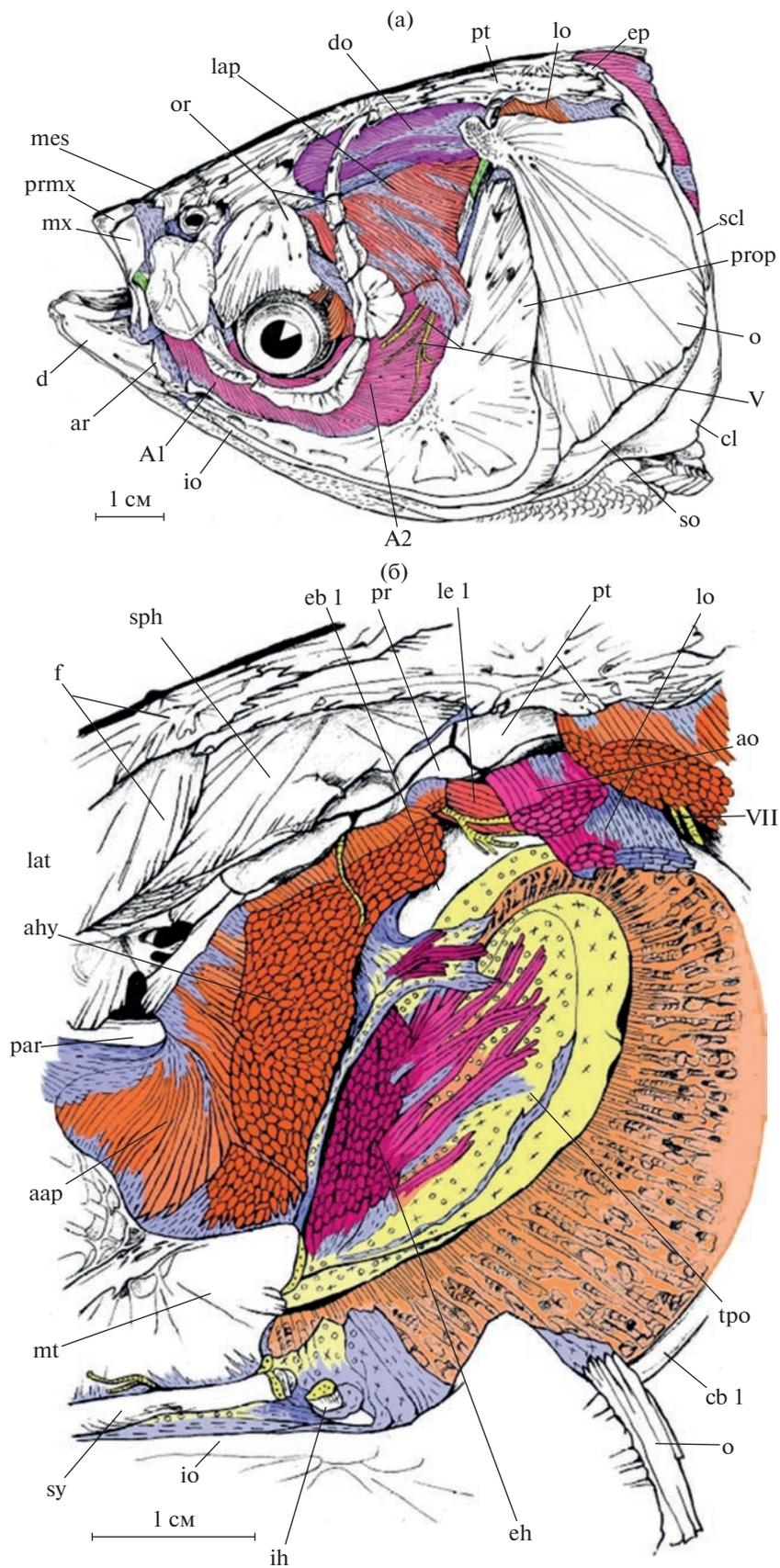


Рис. 3. Некоторые мускулы и соединительнотканые структуры головы белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix*, вид сбоку (а), после снятия суспензориума (б). Ткань небного органа показана желтым, фильтрующие элементы – бежевым.

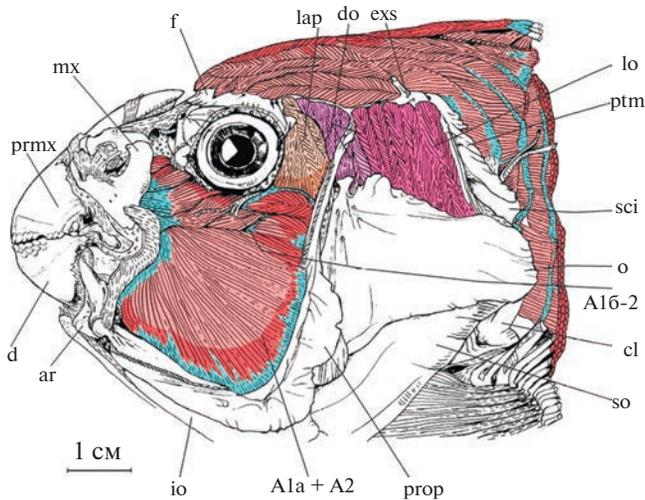


Рис. 4. Некоторые мускулы и соединительнотканые структуры висцерального аппарата рубиново-пепельной рыбы-попугая *Scarus rubroviolaceus*, вид сбоку, после снятия окологлазничных костей. Включения соединительной ткани показаны голубым.

ций), отображавших все особенности выявленных анатомических составляющих пищеводывательного аппарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Описаны мускулы висцерального черепа, участвующие в образовании мышечных комплексов (сверхмускулов), четырех видов рыб.

Семга *Salmo salar* (по: Громова, Махотин, 2016)

M. adductor mandibulae (AM) (рис. 1а) состоит из двух порций – верхнечелюстной (A2) и нижнечелюстной (Aw). Мускул оканчивается на нижней челюсти. Внешне порция A2 имеет вид единого мускульного “пера”. Волокна этой порции начинаются на наружной поверхности суспензориума. Вершина “пера” окружена обширной апоневротической оболочкой – подвешивающей перепонкой суспензориума (*membrana suspensoria*) (рис. 1а, 1б, 1в). *Membrana suspensoria* крепится к краю *metapterygoideum*, областям *hyomandibulare* и переднему краю *praeorperculum*.

Волокна LAR, AAP, AD NYO, AO и LO берут начало с латеральной поверхности нейрокраниума.

M. levator arcus palatini (LAR) (рис. 1а, 1б) расположен над AM и непосредственно граничит с ним через участок *membrana suspensoria*. Задняя часть мускула частично непрерывна с волокнами DO. Наиболее передние наружные волокна прикрепляются к верхней и внутренней поверхности перепонки суспензориума, нависая над AM и, по сути, совместно образуя “двухпорционный” сверхмускул. Более глубокие волокна LAR оканчиваются на *hyomandibulare*, *metapterygoideum* и ча-

стично на конечном апоневрозе AAP, который крепится к *hyomandibulare*.

M. adductor arcus palatini (AAP) (рис. 1а–1г) тянется между черепом и суспензориумом. Мускул имеет конечный апоневроз, крепящийся к *entopterygoideum*, *metapterygoideum* и *hyomandibulare*.

Зона прикрепления волокон *m. adductor hyomandibularis* (AD NYO) (рис. 1г) включает внутреннюю поверхность *hyomandibulare*.

Волокна *m. adductor operculi* (AO) (рис. 1г) и *m. levator operculi* (LO) (рис. 1а–1г) обслуживают верхнюю область *operculum* с наружной (LO) и внутренней (AO) сторон.

Границы между AAP, AD NYO, AO и LO отчетливо не прослеживаются.

Серебряная аравана *Osteoglossum bicirrhosum* (по: Громова и др., 2017)

M. adductor mandibulae (AM) (рис. 2а, 2в) состоит из трех порций: маленькой (A1), крупной верхнечелюстной (A2) и нижнечелюстной (Aw). Область начала порции A2 не затрагивает слуховой отдел нейрокраниума. Волокна порции A2 оканчиваются на обширном треугольном верхнечелюстном апоневрозе. Порция A2 сверху начинается с наружной чашеобразной поверхности подвешивающей перепонки суспензориума. Более глубокие волокна порции берут начало с *metapterygoideum*, *hyomandibulare*, *entopterygoideum*, верхушки *quadratum* и переднего края *praeorperculum*.

M. levator arcus palatini (LAR) (рис. 2а, 2в) расположен над AM, образуя совместно с ним “двухпорционный” сверхмускул. Волокна LAR начинаются с нейрокраниума. Мускул, словно муфта, полностью охватывает DO сверху и снизу, однако их волокна не смешиваются. Волокна LAR оканчиваются на верхней поверхности “чаши” *membrana suspensoria*, *hyomandibulare*, *metapterygoideum* и *entopterygoideum*.

Границы между AAP, AD NYO, AO и LO хорошо заметны (рис. 2б).

Белый толстолобик *Hypophthalmichthys molitrix* (по: Махотин, Громова, 2019)

M. adductor mandibulae (AM) состоит из трех порций: двух верхнечелюстных (A1 и A2) (рис. 3а) и нижнечелюстной (Aw). Точную границу между порциями A1 и A2 провести нельзя. *Membrana suspensoria* развита слабо. Волокна порции A2 начинаются с *praeorperculum*, нижнего отростка *hyomandibulare* и *metapterygoideum*.

Волокна LAR, AAP, AD NYO берут начало с латеральной поверхности нейрокраниума.

Волокна *m. levator arcus palatini* (LAR) (рис. 3а) оканчиваются на *hyomandibulare* и *praeorperculum*, а также захватывают маленький фрагмент *metapterygoideum*. Часть конечных сухожилий LAR, расположенных в области слабо развитой *membrana suspensoria*, проникают между волокнами начала

порции A2 AM. Волокна LAP в задней области непрерывны с глубинными волокнами DO. DO имеет вид продольно растянутого веера, расходящегося по верхней поверхности нейрокраниума.

Область окончания волокон сравнительно большого *m. adductor arcus palatini* (AAP) (рис. 3б) включает *metapterygoideum* и его отросток, накладывающийся на *entopterygoideum*. Основная масса волокон прикрепляется к дорсальной поверхности ткани небного органа. Каудально мускул сливается с AD NYO.

M. adductor hyomandibularis (AD NYO) (рис. 3б) сравнительно крупного размера. Волокна оканчиваются на медиальной поверхности *hyomandibulare*, мускул также прикрепляется к передней поверхности небного органа при помощи коротких, но очень прочных прозрачных соединительнотканых спаек.

Рубиново-пепельная рыба-попугай *Scarus rubroviolaceus* (по: Громова, Махотин, 2020)

Абдукторный комплекс суспензориума рыбы включает в себя три слабодифференцированных друг от друга мускула: *m. levator arcus palatini* (LAP), *m. dilatator operculi* (DO) и *m. levator operculi* (LO). Волокна LAP, DO и LO берут начало с латеральной поверхности нейрокраниума.

Конусовидный *m. levator arcus palatini* (LAP) (рис. 4) дорсально прикрепляется к черепной коробке непосредственно над сочленовной впадиной для *hyomandibulare*. Местом окончания мускульных волокон служит латеральная поверхность *hyomandibulare* и внутренняя поверхность чрезвычайно слабо развитой *membrana suspensoria*.

Область начала *m. dilatator operculi* (DO) (рис. 4) включает не только черепную коробку, но и верхний отдел *hyomandibulare*. Малая доля поверхностных волокон мускула, берущих начало с нейрокраниума, собирается на вершине *hyomandibulare*. Основная масса волокон устремляется вентрокаудально, оканчиваясь на внутренней стороне верхней области *operculum*.

Широкий, сильно уплощенный в парасагитальной плоскости *m. levator operculi* (LO) (рис. 4) начинается (помимо нейрокраниума) с латеральной поверхности апоневротической пленки *m. eraxialis* (EP), с маленького фрагмента наружной стороны *hyomandibulare*, нижнего края *extrascapulare* и переднего края *posttemporale*. LO оканчивается на медиальной поверхности верхнего отдела *operculum*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности функционирования дифференцированных мускулов в челюстном аппарате Teleostei

В работах, описывающих особенности функционирования пищедобывательного аппарата Teleostei, приводятся данные о наличии установленной последовательности сокращения дифференцированных мускулов черепа в процессе начального захвата добычи (Lauder, 1980b, 1981; Lauder, Liem, 1981; Wainwright et al., 1989; Grubich, 2001). Отмечено присутствие тенденции группирования активности определенных отдельных мускулов (LAP, DO, LO, SH, EP) в фазу расширения головы животного во время схватывания корма, тогда как другие мышцы (AM, GH, AAP, AO, NYX) сокращались в основном в процессе фазы сжатия (Liem, Osse, 1975; Lauder, Liem, 1980; Kopow et al., 2008). Однако наряду с этими исследованиями имеются работы, авторы которых зафиксировали у Teleostei одновременное сокращение мышц челюстного аппарата, работающих в разные фазы акта питания, например у обыкновенного ерша *Gymnocephalus cernua* (см. Elshoud-Oldenhav, Osse, 1976), обыкновенного окуня *Percu fluviatilis* (см. Osse, 1969), рыбоядных Cichlidae (см. Liem, 1979, 1980a, 1980b) и королевского спинорога *Balistes vetula* (см. Turingan, Wainwright, 1993). Некоторым представителям Teleostei свойственно одновременное функционирование мускулов-антагонистов (Humphrey, Reed, 1983; Lucas, Mambrito, 1987), которое служит разным целям: питанию, звукопроизводству и др. (Lauder, 1981, 1985; Boyle, Tricas, 2011). Антагонистической активностью обладают пары AAP и LAP, AO и DO/LO, SH и AM, а также EP и NYX и др. Одновременное сокращение мышц-антагонистов фиксировали у Teleostei, использующих всасывание в качестве начального захвата добычи (Osse, 1969; Elshoud-Oldenhav, Osse, 1976; Elshoud-Oldenhav, 1979; Lauder, Lanyon, 1980; Lauder, 1980a, 1980b, 1983, 1985). Например, в процессе всасывания корма петротилапией *Petrotilapia tridentiger* наблюдали одновременное сокращение AM и LAP. Амплитуда открывания рта модулировалась единовременной активностью AM, LO и SH (Liem, 1980b). У прибойного окуня *Embiotoca jacksoni* динамический антагонизм проявлялся в процессе единовременной активности AM, GH и LAP во время поведения “веяния” (Drucker, Jensen, 1991).

Обширное перекрытие сокращения мускулов, расширяющих и сжимающих ротовую полость рыб в процессе фазы начального схватывания добычи, обеспечивает присутствие так называемого эффекта предварительного напряжения мышц (Aerts, 2009). При сокращении мышц-антагонистов и/или мускулов, работающих в раз-

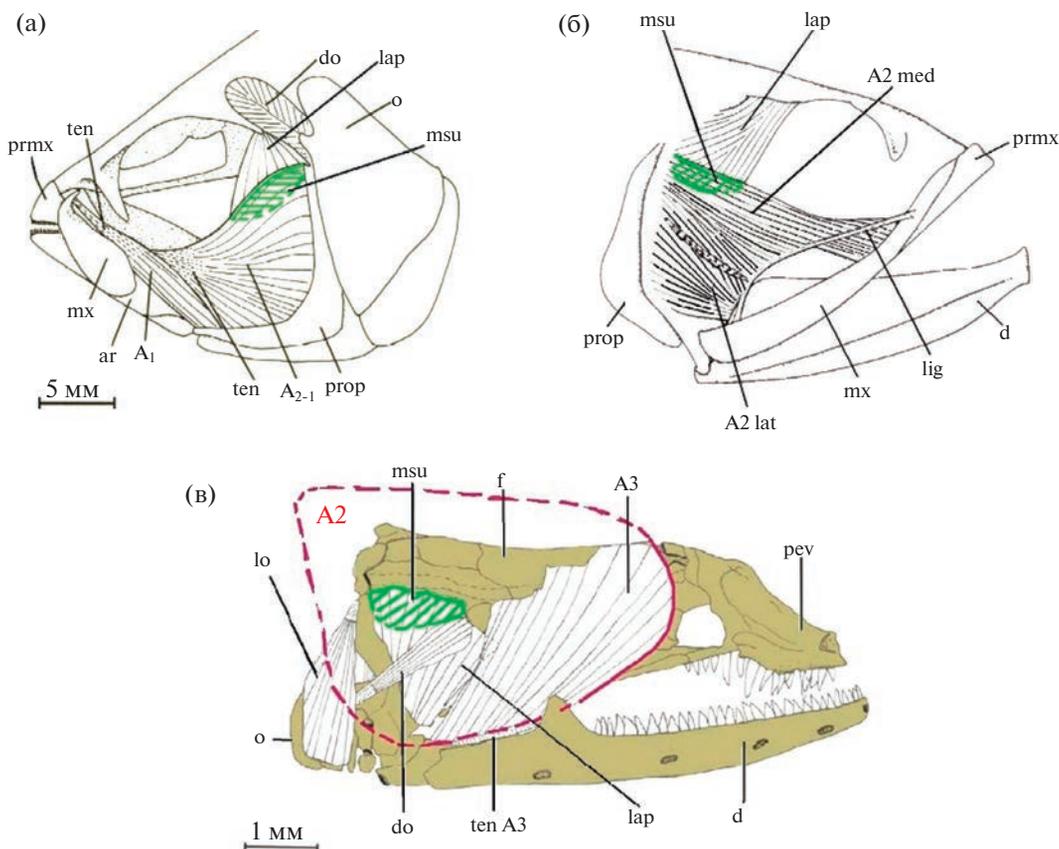


Рис. 5. Соединение *m. adductor mandibulae* (AM) с *m. levator arcus palatini* (LAP) в верхнем мускуле последовательной конструкции: а – у ксенохаракса *Xenocharax spilurus* (по: Vari, 1979), б – диплофоса *Diplophos taenia* (по: Fink, Weitzman 1982), в – анархиаса *Anarchias allardicei* (по: Eagderi, 2010). Область контакта AM и LAP – соединительнотканная мембрана – отмечена зеленым. У анархиаса порция A2 челюстного аддуктора, контактирующая с LAP, удалена и отмечена красным пунктиром.

ные фазы процесса питания, у Teleostei происходит запасание эластической (упругой) энергии натяжения в структурах головы рыбы. При расслаблении этих мускулов энергия высвобождается, вкладываясь в перемещение ранее неподвижных структур ротового аппарата животного. Механизм запасания эластической энергии необходим для выполнения быстрых и силовых движений элементов черепа, например для осуществления ловли ускользящей добычи (Wassenbergh et al., 2014). Результативное преобладание активности какой-либо одной или группы мышц-антагонистов может быть обусловлено наличием дифференцированного нервного контроля (например, увеличенной стимуляции) этих мускулов со стороны нервной системы (Lauder, 1980b). Ингибирование при помощи обратного периферического нервного импульса активности мышц-антагонистов первой группы будет вызывать вспышку сокращения мускулов второй категории. Так происходит модуляция амплитуды открывания рта рыбы, степени расширения ротовой и оперкулярной полостей и т.д. (Lauder, 1983).

Последовательное объединение мускулов

В процессе захвата добычи у ряда костистых рыб LAP сокращается в ходе фазы расширения головы для увеличения ее внутреннего объема путем абдукции суспензориумов, тогда как AM действует в фазе сжатия ротовой полости, приводя нижнюю челюсть (Liem, Osse, 1975). У большинства Teleostei эти мышцы хорошо отделены друг от друга (Tulenko, Currie, 2020; Vita et al., 2020; Reixoto, Pinna, 2022). Однако у некоторых видов определенных семейств костистых рыб, например у семги (рис. 1а) (Salmonidae) и серебряной араваны (рис. 2а) (Osteoglossidae), эти мускулы на своей обширной площади плотно контактируют друг с другом, объединяясь в крупный сверхмускул. На основании полученных нами анатомических данных, мы приводим доказательства в пользу одновременного сокращения этих мышц в ходе начального захвата добычи (Громова, Махотин, 2016; Громова и др., 2017). У семги и серебряной араваны AM и LAP контактируют между собой посредством мощно развитой подвешивающей перепонки суспензориума (*membrana sus-*

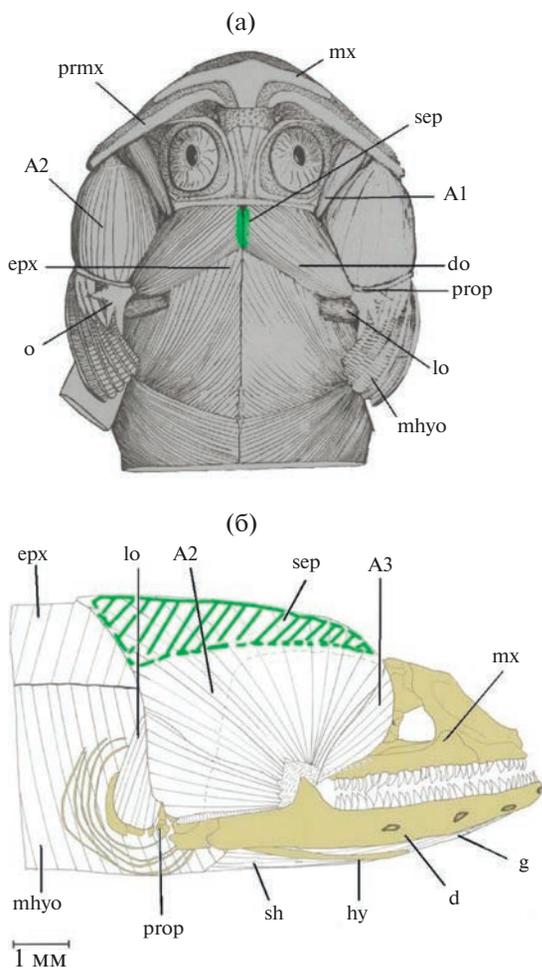


Рис. 6. Объединение гипертрофированных мышц контрлатеральных сторон головы: а – *mm. dilatatores operculi* (DO) у жабуна *Opsanus tau* (по: Pankratz, 1927), б – *mm. adductores mandibulae* (AM) у анархиаса *Anarhichas allardicei* (по: Eagderi, 2010). Расположенные в сагиттальной плоскости сухожильные зоны контакта челюстей для просмотра мускулов выделены зеленым.

pensoria) (рис. 1б, 1в, 2в). *Membrana suspensoria* предстает в виде сухожильного промежутка в составе единого двухпорционного сверхмускула с последовательным соединением его компонентов. Пленка представляет собой комплекс мускульных апоневрозов от двух встретившихся мускулов AM и LAP в результате наползания аддуктора снизу и снаружи на леватор. У серебряной араваны и семги соединительнотканые волокна двух слоев *membrana suspensoria* одинаковым образом разнонаправлены. Это означает, что передача силы между AM и LAP у этих рыб происходит сходным образом. Благодаря последовательному расположению AM и LAP в составе двухпорционного сверхмускула, скорость и амплитуда сокращения комплекса возрастают (Иорданский, 1990), что важно во время ловли ускользящей добычи, которую потребляют сем-

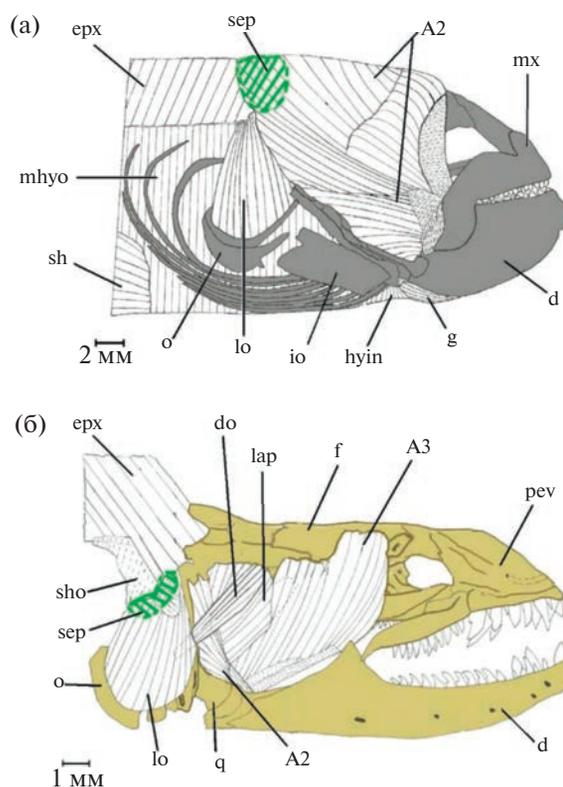


Рис. 7. Последовательное соединение висцеральных и соматических по происхождению мускулов: а – *m. adductor mandibulae* (AM) и *m. eraxialis* (EP) у курнозого угря *Simenchelys parasitica* (по: Eagderi et al., 2016), б – *m. levator operculi* (LO) и *m. eraxialis* (EP) у гимноторакса *Gymnothorax prasinus* (по: Eagderi, 2010). Область контакта челюстей для просмотра мускулов отмечена зеленым.

га и аравана. Ранее неоднократно отмечали высокую скорость приведения нижней челюсти аравановых (Westneat, 2004; Konow, Sanford, 2008a, 2008b). Питаясь, семга и серебряная аравана используют скобление – внутриворотную обработку добычи при помощи своего озубленного языка (Громова, Махотин, 2016; Громова и др., 2017). Мы предполагаем, что у этих рыб в процессе скобления возникает эффект предварительного напряжения AM и LAP для запасания эластической энергии, которая затем высвобождается ударом языка рыбы по добыче. Кроме того, соединение AM и LAP у исследуемых представителей обусловлено необходимостью поддерживать целостность заднего сустава суспензориума с нейроркраниумом, т.к. в процессе скобления он испытывает значительную нагрузку в результате переднезадних смещений языка.

Определенные виды Teleostei формируют двухпорционный мышечный комплекс с той же целью – для увеличения скорости ловли добычи. Соединение AM с LAP при помощи соединительнотканного промежутка описано для стомиаса

Stomias (см. Fink, 1985), диплофоса *Diplophos* (см. Fink, Weitzman, 1982) и ксенохаракса *Xenocharax* (см. Vari, 1979), посредством фасции – для мурен *Anarchias allardicei* (рис. 5) и *Gymnothorax prasinus* (см. Eagderi, 2010). Стоит отметить, что у мурен *A. allardicei* и *G. prasinus*, помимо увеличения скорости приведения dentale, имеется еще одна причина соединения АМ и LAR (Eagderi, 2010). Эти рыбы не применяют внутриротовое скобление добычи, но у них происходят обширные перемещения аппарата гиоида и жаберных дуг для высокоамплитудного внутриротового переноса схваченной добычи в каудальном направлении. Гиоид соединен с внутренней стороной суспензориума связками. Мы полагаем, что во время передвижения корма в каудальном направлении, сустав hyomandibulare с нейрокраниумом подвергается значительным нагрузкам со стороны вырывающейся, часто крупной, добычи, которая с усилием затягивается в рот рыбы. Решением проблемы поддержания целостности черепа стало формирование двухпорционного сверхмускула АМ + LAR. Похожая ситуация отмечена у некоторых представителей Stomiiformes (см.: Fink, Weitzman, 1982; Fink, 1985), которые также заглатывают крупную добычу. У белого толстолобика небольшая часть конечных волокон LAR проникает между начальными волокнами порции A2 АМ. Поскольку эти волокна обоих мускулов разнонаправлены, говорить о функциональном слиянии АМ и LAR не приходится. Описываемая особенность свидетельствует о доминировании функции LAR над АМ на данном участке черепа ввиду слабого развития АМ и гипертрофии LAR.

Возможность образования сверхмускула АМ + LAR также может быть обусловлена общей иннервацией его компонентов пятым черепно-мозговым нервом (n. trigeminus), хотя и разными его ветвями: АМ – r. mandibularis; LAR – r. maxillo-mandibularis (Winterbottom, 1974a). Однако мы полагаем, что главной причиной объединения АМ и LAR у семги и серебряной араваны являются сходные и независимо приобретенные особенности работы их ротового аппарата. По-видимому, это может быть примером возникновения конвергентного морфологического сходства у неродственных филогенетических таксонов.

У некоторых Teleostei можно обнаружить интересную разновидность сверхмускулов с последовательным расположением компонентов. Объединение одних и тех же мышц контрлатеральных сторон головы приводит к повышению эффективности работы обеих. Как правило, такие комплексы образуют гипертрофированные мускулы. Так, у жабуна *Opsanus tau* разросшиеся DO контрлатеральных сторон головы контактируют друг с другом через сухожильный промежуток (рис. 6a) (Pankratz, 1928). У мурен (рис. 6б) (Mehta, 2009; Eagderi, 2010) и европейского угря *Anguilla anguilla*

(см.: Eagderi, Adriaens, 2010; Meyer et al., 2018) чрезмерно гипертрофированные АМ левой и правой сторон головы граничат друг с другом соединительнотканым промежуток, встречаясь по средней линии на верхней поверхности нейрокраниума.

Интересны примеры последовательного соединения висцеральных и соматических по происхождению мускулов Teleostei. Разросшийся АМ рыб может контактировать с позади расположенной ЕР посредством сухожильных промежуток, что служит приспособлением для увеличения способности рыться в грунте головой вперед. Подобная морфологическая адаптация характерна для многих Anguilliformes (De Schepper et al., 2005; Eagderi, 2010), например для рисового угря *Pisodonophis boro* и угря-спагетти *Moringua edwardsi* (см. De Schepper et al., 2007). Подобное поведение использует курносый угорь *Simenchelys parasitica* при проникновении в тушу мертвой жертвы или в тело животного-хозяина. Контакт двух мышц увеличивает производительность работы обеих, создавая вариант системы многопорционного сверхмускула, сочетающего компоненты висцерального (АМ) и соматического (ЕР) происхождения (рис. 7а). При этом совместная активность ЕР и АМ помогает рыбе выполнять движения головы вверх и назад, а также более прочно фиксировать нижнюю челюсть. Силовое приведение dentale необходимо угребразным для поддержания целостности челюстного сустава, поскольку нагрузка, возникающая при встрече с грунтом или тканями жертвы, ориентирована назад и стремится разъединить суставные поверхности. Таким образом, единовременное сокращение АМ и ЕР позволяет этим животным поднимать голову с плотно закрытой нижней челюстью, осуществляя эффективное проникновение в толщу субстрата или тело добычи (Eagderi, 2010; Eagderi et al., 2016). У мурены *Gymnothorax prasinus* разросшийся LO берет начало с ЕР и передней части septum horizontale (рис. 7б) (Eagderi, 2010). Возможная причина этого в сильном разрастании у данного вида АМ, приводящем к смещению в каудальном направлении областей прикрепления части висцеральных мускулов.

Параллельное объединение мускулов

У ряда представителей костистых рыб встречается объединение отдельных мышц, расположенных параллельно относительно друг друга. При этом между соединяющимися мускулами отсутствуют развитые сухожильные септы. Области начала мышц, включенных в описываемый комплекс, находятся по соседству. Для семги характерен сверхмускул на основе объединения ААР, АД НУО и АО – мускулов, сокращающихся во время фазы сжатия в процессе захвата добычи.

Такое объединение описано ранее в литературе (Winterbottom, 1974a) без функционального анализа мышечного комплекса. Упомянулось сходство процессов внутриротовой обработки добычи (скобление) у Salmoniformes и Osteoglossiformes (Sanford, Lauder 1989, 1990; Konow, Sanford, 2008a, 2008b). Такого рода поведение накладывает отпечаток на строение мышц и костей всего пищедобывательного аппарата этих рыб. У представителей Osteoglossiformes ранее обнаружено приспособление задействованной в процессе скобления костно-мышечной системы языка к высокой скорости работы. Аппарат глоточных челюстей видов Salmoniformes, например американского гольца *Salvelinus fontinalis*, демонстрировал морфологические адаптации и к большой скорости, и к значительной силе функционирования (Camp et al., 2009). Авторы этих работ отмечали редкость таких особенностей функционирования пищедобывательного аппарата у представителей Teleostei, не давая объяснений обнаруженным ими приспособлениям. Основываясь на анализе строения мышц и скелета их суспензориума, мы приводим новые морфофункциональные причины описываемых выше характеристик процесса питания семги и серебряной араваны.

При внутриротовом скоблении добычи у семги преобладает скорее режущий и разрывающий, нежели давящий компонент (Громова, Махотин, 2016). В процессе такой внутриротовой обработки basihyale выполняет силовые переднезадние перемещения, оказывая значительную нагрузку на суспензориум в том же направлении посредством interhyale. Двойное приращение передней области суспензориума к нейрокраниуму семги тугое и малоподвижное. Вероятно, такой способ крепления первичной верхней челюсти к черепу недостаточно эффективен для сохранения его целостности в процессе скобления добычи. Потому у семги развивается крупный аддукторный комплекс AAP, AD NYO и AO – сверхмускул с параллельным устройством (рис. 1г). Его сокращение блокирует возникающие во время скобления переднезадние смещения суспензориума относительно нейрокраниума. Данный сверхмускул увеличивает силу аддукции суспензориума и служит эффективной заменой базиптеригоидному суставу, имеющемуся у серебряной араваны. Добавление к этому сверхмускулу LO, вероятно, объясняется необходимостью блокировки смещений operculum вперед-назад. В целом, для мышечной системы головы семги характерна консолидация мускулов друг с другом, которая выражается в присоединении мышц-антагонистов LO и LAP к медиальному аддукторному сверхмускулу суспензориума с целью создания эффекта предварительного напряжения. Используя разные комбинации областей совместно сокращающихся компонентов такого сверхмускула, рыба может

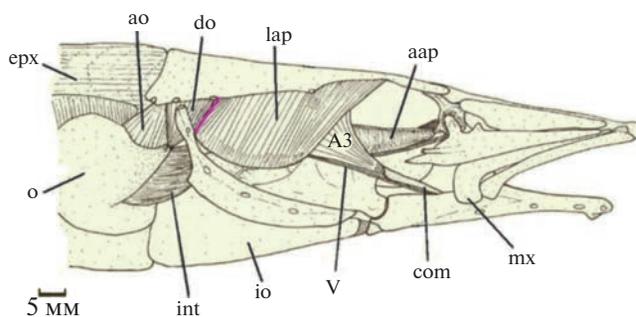


Рис. 8. Взаимный переход волокон *m. dilatator operculi* (DO) и *m. levator arcus palatini* (LAP) при образовании сверхмускула параллельного устройства у хоботнорыла *Mastacembelus mastacembelus* (по: Travers, 1984). Область контакта DO и LAP выделена розовым.

добиться разнообразия движений суспензориумов и нижней челюсти, обеспечивая оптимальное приращение сил к удерживаемому в челюстях объекту (Иорданский, 1990).

Отсутствие развитого аддукторного сверхмускула суспензориума у серебряной араваны, также примитивного представителя Teleostei, вызвано наличием у нее базиптеригоидного отростка (рис. 2б), который в ее пищедобывательном аппарате анатомически заменяет комплекс AAP, AD NYO, AO и LO. У *Osteoglossum bicirrhosum* имеется примитивное базиптеригоидное сочленение, образованное за счет конусовидного *pr. basiptyergoideus os parasphenoideum*, которым обладали еще ископаемые Palaeonisciformes (см. Кэрролл, 1992). Из ныне живущих костистых рыб такой сустав имеется только у некоторых представителей Osteoglossomorpha (см. Hilton, 2003). У *O. bicirrhosum* для каждого базиптеригоидного отростка на заднемедиальной поверхности entopterygoideum формируется небольшая трубкообразная ямка, покрытая плотной соединительной тканью, в которую этот отросток вкладывается в состоянии покоя, когда суспензориумы находятся в приведенном положении и рот рыбы закрыт. Иной по происхождению базиптеригоидный отросток (Moritz, Britz, 2005) присутствует у определенных мормировых Mormyridae, а также у платитроктовых Platytroctidae (например, на парасфеноиде у *Searsia koefoedi*) и *Bathylaco nigricans* из Alepoccephalidae (см. Johnson, Patterson, 1996). В литературе отсутствуют данные о функциональном значении базиптеригоидного сочленения для процесса питания у современных Teleostei. Подробное изучение спланхнокраниума серебряной араваны позволило нам сделать ряд заключений, касающихся данного вопроса.

Pr. basiptyergoidei серебряной араваны в процессе скобления обеспечивают надежную опору для entopterygoideum каждой стороны головы, на которые при этом снизу давит basihyale (рис. 2б)

(Громова и др., 2017). Расположенные на внутренней поверхности суспензориума серебряной араваны многочисленные маленькие и неострые зубы указывают на то, что в процессе скобления у нее преобладает скорее давящий, нежели режущий компонент. Схожее анатомическое решение, как адаптация к дурофагии, проявляется в устройстве суспензориума большинства *Albulidae*: впереди он имеет прочное сочленение с крыловидным латеральным отростком парасфеноида (Figueiredo et al., 2002).

В процессе скобления язык серебряной араваны выполняет обширные переднезадние перемещения относительно суспензориума рыбы. За счет наличия *interhyale* эти движения оказывают значительную нагрузку в ростокаудальном направлении на суспензориум с его внутренней стороны. В данной ситуации конструкция первичной верхней челюсти могла бы подвергаться разрушающей ее деформации. Решением послужило развитие базиптеригоидного отростка, который полностью блокирует какие-либо смещения суспензориума в переднезаднем направлении. Базиптеригоидный сустав араваны настолько надежен, что у ее суспензориума за ненадобностью отсутствует сильное развитие аддукторной мускулатуры. Базиптеригоидный отросток ограничивает аддукцию суспензориумов, поэтому ААР и AD NYO у этой рыбы небольшого размера. В ходе внутриворотной манипуляции добычей могут иметь место и асимметричные движения *basihyale*, поэтому необходима прочная фиксация суспензориума. Базиптеригоидный отросток не препятствует обширной абдукции суспензориумов рыбы, происходящей во время схватывания добычи.

Во время фильтрации пищи белым толстолобиком (*Cyprinidae*) происходит принудительная аддукция суспензориумов, энергично уменьшающая пространство ротовой полости. Поэтому в висцеральном механизме этой рыбы присутствует сверхмускул с параллельным устройством, сформированный на основе слияния волокон разросшихся ААР и AD NYO, работающих при сжатии ротовой полости рыбы (рис. 3б). Причина формирования данного комплекса, по-видимому, в присутствии области внутреннего кинетизма в суспензориуме белого толстолобика. Она расположена между малым передним сегментом суспензориума (*palatinum*) и его более крупной задней частью, передний край которой составлен *epipterygoideum*. Комплекс ААР и AD NYO обслуживает каудальный костный сегмент черепа. Аддукция заднего сегмента суспензориума широко задействована в процессе работы внутреннего гидравлического механизма, играющего важную роль в ходе пульсирующей всасывательной фильтрации толстолобика на базе тупикового отсеивания (Махотин, Громова, 2019). Таким образом, сокращение сверхмускула ААР + AD NYO спо-

собствует увеличению силы всасывания у данного вида. Вероятно, в определенной мере та же причина лежит в основе формирования мышечного комплекса ААР и AD NYO с нечеткими границами (Winterbottom, 1974a) у утконосого угря *Hoplunnis punctata*, садового угря Гилберта *Ariosoma gilberti* (см. Eagderi, 2010), ханоса *Chanos chanos* (см. Howes, 1985) и европейского удильщика *Lophius piscatorius* (см. Field, 1966).

У представителей *Teleostei* можно найти ряд примеров наличия абдукторного комплекса LAP, DO и LO, контролирующего расширение ротовой и оперкулярной полостей (Werneburg, 2015). Взаимный переход медиальных и/или передних волокон DO в состав LAP присутствует у королевского спинорога *Balistes vetula* (см. Winterbottom, 1974b), хоботнорыла *Mastacembelus mastacembelus* (рис. 8) (Travers, 1984) и обыкновенного угольщика *Aphanopus carbo* (см. De Schepper et al., 2008). Гипертрофированный DO иглобрюховых *Tetraodontidae* демонстрирует взаимный переход с волокнами редуцированного LAP, перенимая у последнего функцию отведения суспензориумов (Winterbottom, 1974b).

LAP, DO и LO рубиново-пепельной рыбы-попугая вторично теряют свои границы, формируя единый сверхмускул, отводящий суспензориум и жаберную крышку (рис. 4). Причиной такого объединения служит необходимость повышения силы сокращения, достигаемая за счет увеличения массы мускульных волокон, входящих в состав такого единого сложноперистого образования. Компактный размер описываемого абдукторного комплекса свидетельствует о присутствии небольшой амплитуды увеличения внутреннего пространства головы, и основная сила всасывания у данного вида, вероятно, создается путем приведения суспензориумов сокращением ААР, предваряющим расширение ротовой полости. У белого толстолобика кости жаберной крышки крепко соединены между собой, DO и LAP (рис. 3а) взаимно переходят друг в друга: сокращение LAP вкладывается в DO за счет хорошо развитых *tt. levator arcus palatini*, оканчивающихся на *praeperculum*. У семги также имелось частичное слияние волокон LAP и DO.

Таким образом, морфологически обособленные у большинства *Teleostei* мускулы головы у некоторых таксонов этих рыб оказываются анатомически объединенными, что свидетельствует в пользу сложного комплексного управления элементами висцерального черепа. Функциональные причины соединения отдельных мышц весьма разнообразны. У четырех подробно исследованных нами видов *Teleostei* присутствуют признаки объединения висцеральных мускулов пищедобывательного аппарата как на функциональном, так и на морфологическом уровнях.

Последовательно расположенные АМ и LAP, сокращающиеся в пределах двухпорционного сверхмускула семги и серебряной араваны, можно интерпретировать как адаптацию, повышающую общую скорость и амплитуду сокращения такого единого мышечного комплекса. В отличие от араваны, пищедобывательный аппарат семги демонстрирует более широкие функциональные возможности за счет обладания дополнительной морфологической адаптацией к увеличению силы его работы – параллельным соединением, которое на небольшом участке формируют мускулы-антагонисты ААР и LAR. Работа фильтра белого толстолобика требует дополнительной нагрузки к его поверхности. Морфологическая адаптация в виде образования сложноперистого сверхмускула с параллельным устройством (ААР + AD НУО) обеспечивает увеличение производства силы в ходе движений суспензориума толстолобика. С наружной стороны суспензориум и жаберная крышка обслуживаются параллельным сверхмускулом на основе слияния LAR и DO. У рубиново-пепельной рыбы-попугая параллельное слияние LAR, DO и LO служит для увеличения эффективности отведения костных “щек” рыбы латерально.

Условные обозначения

V – m. trigeminus, VII – n. facialis, X – n. vagus, A1 – portio A1 m. adductor mandibulae, A1a + A2 – portio A1a + A2 m. adductor mandibulae, A1b-2 – portio A1b-2 m. adductor mandibulae, A2 – portio A2 m. adductor mandibulae, A2-1 – portio A2-1 m. adductor mandibulae, A2 lat – portio lateralis m. adductor mandibulae, A2 med – portio medialis m. adductor mandibulae, A3 – portio A3 m. adductor mandibulae, aah – fossa hyomandibulare, aap – m. adductor arcus palatini, abs – m. abductor superficialis, ahy – m. adductor hyomandibularis, alo – aponeurosis m. levator operculi, am – m. adductor mandibulae, ant – antorbitale, ao – m. adductor operculi, ap A2 – aponeurosis portio m. adductor mandibulae, apa – aponeurosis palatinus m. adductor arcus palatini, apl – aponeurosis m. levator arcus palatini, apm – aponeurosis maxillaris portio superior m. adductor mandibulae, ar – articulare, av – m. arrector ventralis, bas – pr. basipterygoideus os parasphenoideum, cb 1 – ceratobranchiale 1, cet – cartilago ethmoidale, ci – cirri, cl – cleithrum, com – os coronomeckeli, cp – cartilago palatini, d – dentale, do – m. dilatator operculi, eb 1 – epibranchiale 1, ec – ectopterygoideum, eh – m. pharyngo-hyomandibularis, en – entopterygoideum, ep – epioticum, epх – m. epaxialis, eth – ectoethmoideum, exs – extrascapulare, f – frontale, g – m. geniohyoideus, gh – basihyale, hm – hyomandibulare, hy – hyoideum, hyin – m. hyohyoideus interioris, i2 – infraorbitale 2, ih – interhyale, int – m. intraoperculi, io – interoperculum, lac – lacrimale, lap – m. levator arcus palatini, lat – laterosphenoideum, lc – lobus coriaceus os interoperculum, le 1 – m. levator

branchialis 1, lep – lig. palato-ethmoidale, lig – ligamentum, lio – lig. interoperculare, lms – lingua membrana suspensoria, lo – m. levator operculi, mes – mesethmoideum, mhyo – mm. hyohyoidei, msu – membrana suspensoria, mt – metapterygoideum, mx – maxillare, n – nasale, o – operculum, ob – orbitosphenoideum, or – orbitale, pal – palatinum, par – parasphenoideum, pev – premaxilloethmovomer, plm – pars lateralis aponeurosis maxillaris m. adductor mandibulae, pp – pinna pectoralis, pr – prooticum, prmx – praemaxillare, prop – praeoperculum, pt – pteroticum, ptm – posttemporale, q – quadratum, r. hmd. VII – ramus hyomandibularis VII, r. md. V – ramus mandibularis V, scl – supracleithrum, sep – septum textus conjunctivus, sh – m. sternohyoideus, sho – septum horizontale, so – suboperculum, sph – sphenoticum, spmx – supramaxillare, sy – symplecticum, ten – tendo, ten A3 – tendo portio A3 m. adductor mandibulae, tpo – textus organum palatinum, v – vomer.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Громова Е.С., Махотин В.В. Функциональная морфология висцерального аппарата семги *Salmo salar* // Вопр. ихтиол. 2016. Т. 56. № 4. С. 410–426.
- Громова Е.С., Махотин В.В. Морфофункциональные особенности висцерального аппарата рубиново-пепельной рыбы-попугая *Scarus rubroviolaceus* (Scaridae) // Вопр. ихтиол. 2020. Т. 60. № 2. С. 137–164.
- Громова Е.С., Держинский Ф.Я., Махотин В.В. Морфофункциональные особенности висцерального аппарата серебряной араваны *Osteoglossum bicirrhosum* // Вопр. ихтиол. 2017. Т. 57. № 4. С. 379–392.
- Иорданский Н.Н. Эволюция комплексных адаптаций. Челюстной аппарат амфибий и рептилий. М.: Наука. 1990. 310 с.
- Кэрролл Р. Палеонтология и эволюция позвоночных. М.: Мир. 1992. Т. 1. 280 с.
- Махотин В.В., Громова Е.С. Детали строения скелета, мышц и соединительнотканых элементов головы белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* (Surpinidae) в связи с особенностями функционирования его висцерального аппарата // Вопр. ихтиол. 2019. Т. 59. № 1. С. 3–27.
- Ромейс Б. Микроскопическая техника // М.: Изд. иностранной литературы. 1953. 719 с.

- Aerts P.* Variability of the fast suction feeding process in *Astatotilapia elegans* (Teleostei: Cichlidae): a hypothesis of peripheral feedback control // *J. Zool.* 2009. V. 220. № 4. P. 653–678.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1990.tb04741.x>
- Alexander R.McN.* The functions and the mechanisms of the protrusible upper jaws of some acanthopterygian fish // *J. Zool.* 1967a. V. 151. P. 43–64.
- Alexander R.McN.* Mechanisms of the jaws of some atheriniform fish // *J. Zool.* 1967b. V. 151. № 2. P. 233–255.
- Boyle K.S., Tricas T.C.* Sound production in the longnose butterflyfishes (genus *Forcipiger*): cranial kinematics, muscle activity and honest signals // *J. Exp. Biol.* 2011. V. 214. № 22. P. 3829–3842.
<https://doi.org/10.1242/jeb.062554>
- Brocklehurst R., Porro L., Herrel A. et al.* A digital dissection of two teleost fishes: comparative functional anatomy of the cranial musculoskeletal system in pike (*Esox lucius*) and eel (*Anguilla anguilla*) // *J. Anat.* 2019. V. 235. P. 189–204.
- Bruch K.* Die Wirbeltheorie des Schädels, am Skelette des Lachsesgepruft // Aus den Abhandlungen der Senckenbergischen naturforschenden Gesellschaft. 1862. V. 4. Frankfurt am Main: V. Kramer. P. 1–58.
- Bruggemann J.H., Kuyper M.W.M., Breeman A.M.* Comparative analysis of foraging and habitat use by the sympatric Caribbean parrotfish *Scarus vetula* and *Sparisoma viride* (Scaridae) // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1994. V. 12. P. 51–66.
- Camp A.L., Konow N., Sanford C.P.J.* Functional morphology and biomechanics of the tongue bite apparatus in salmonid and osteoglossomorph fishes // *J. Anatomy.* 2009. V. 214. № 5. P. 717–728.
- Cohen K.E., Lucanus O., Summers A.P., Kolmann M.A.* Lip service: Histological phenotypes correlate with diet and feeding ecology in herbivorous pacus // *Anat. Rec.* 2023. V. 306. № 2. P. 326–342.
<https://doi.org/10.1002/ar.25075>
- Datovo A., Vari R.P.* The jaw adductor muscle complex in teleostean fishes: evolution, homologies and revised nomenclature (Osteichthyes: Actinopterygii) // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 4. P. 1–23.
- Datovo A., Vari R.P.* The adductor mandibulae muscle complex in lower teleostean fishes (Osteichthyes: Actinopterygii): comparative anatomy, synonymy, and phylogenetic implications // *J. Linn. Soc. London, Zool.* 2014. V. 171. P. 554–622.
- De Schepper N., Adriaens D., De Kegel B.* *Moringua edwardsi* (Moringuinae: Anguilliformes): cranial specialization for head-first burrowing? // *J. Morphol.* 2005. V. 266. № 3. P. 356–368.
- De Schepper N., De Kegel B., Adriaens D.* *Pisodonophis boro* (Ophichthidae: Anguilliformes): specialization for headfirst and tail-first burrowing? // *J. Morphol.* 2007. V. 268. № 2. P. 112–126.
- De Schepper N., Wassenbergh S.V., Adriaens D.* Morphology of the jaw system in trichiurids: trade-offs between mouth closing and biting performance // *J. Linn. Soc. London, Zool.* 2008. V. 152. № 4. P. 717–736.
- Deprá G.C.* Relações filogenéticas em Geophagini (Acanthopterygii, Cichlidae), utilizando caracteres morfológicos. Tese (doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais). Universidade Estadual de Maringá. 2019. 234 p.
- Dial T.R., Hernandez L.P., Brainerd E.L.* Morphological and functional maturity of the oral jaws covary with offspring size in Trinidadian guppies // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 1–10, 5771.
- Drucker E.G., Jensen J.S.* Functional analysis of a specialized prey processing behavior: winnowing by surfperches (Teleostei: Embiotocidae) // *J. Morphol.* 1991. V. 210. № 3. P. 267–287.
- Dutra G.M., Peixoto L.A.W., Abrahao V.P. et al.* Morphology-based phylogeny of Eigenmanniinae Mago-Leccia, 1978 (Teleostei: Gymnotiformes: Sternopygidae), with a new classification // *J. Zool. Syst. Res.* 2021. P. 1–50.
<https://doi.org/10.1111/jzs.12535>
- Eagderi S.* Structural diversity in the cranial musculoskeletal system in *Anguilliformes*: an evolutionary-morphological study // *Cand. Sci. (Biol.) Dissertation.* Gent (Belgium): Universiteit Gent. 2010. P. 1–157.
- Eagderi S., Adriaens D.* Cephalic morphology of *Pythonichthys macrurus* (Heterenchelyidae: Anguilliformes): specializations for head-first burrowing // *J. Morphol.* 2010. V. 271. P. 1053–1065.
- Eagderi S., Christiaens J., Boone M. et al.* Functional morphology of the feeding apparatus in *Simenchelys parasitica* (Simenchelyinae: Synaphobranchidae), an alleged parasitic eel // *Copeia.* 2016. V. 104. № 2. P. 421–439.
- Elshoud-Oldenhave M.* Prey-capture in the pikeperch *Stizostedion lucioperca* (Linnaeus, 1758) (Teleostei, Percidae): A structural and functional analysis // *Zoomorphologie.* 1979. V. 93. P. 1–32.
- Elshoud-Oldenhave M.J.W., Osse J.W.M.* Functional morphology of the feeding system in the ruff – *Gymnocephalus cernua* (L. 1758) (Teleostei, Percidae) // *J. Morph.* 1976. V. 150. № 2. P. 399–422.
<https://doi.org/10.1002/jmor.1051500210>
- Farina S.C., Bemis W.E.* Functional morphology of gill ventilation of the goosefish, *Lophius americanus* (Lophiiformes: Lophiidae) // *Zoology.* 2016. V. 119. P. 207–215.
- Field J.G.* Contributions to the functional morphology of fishes. Part II. The feeding mechanism of the anglerfish, *Lophius piscatorius* Linnaeus // *Zool. Afr.* 1966. V. 2. № 1. P. 45–67.
- Figueiredo F.J., Gallo V., Santos H.R.S.* A new appraisal of the suspensorium of albulid fishes // *Arq. Mus. Nac. Rio de Janeiro.* 2002. V. 60. № 3. P. 127–130.
- Fink W.L.* Phylogenetic interrelationships of the stomiid fishes (Teleostei: Stomiiformes) // *Misc. Publ. - Mus. Zool. Univ. Michigan.* 1985. № 171. P. 1–127.
- Fink W.L., Weitzman S.H.* Relationships of the stomiiform fishes (Teleostei), with a description of *Diplophos* // *Bull. Mus. Comp. Zool.* 1982. V. 150. № 2. P. 31–93.
- Finley N.L.* Jaw-dropping sculpins: comparative functional morphology and evolution of the cottoid feeding apparatus. Honors Theses, Whitman College. 2017. 29 p.
- Ghasemzadeh J.* Musculoskeletal anatomy of the flathead grey mullet *Mugil cephalus* // *Biology, Ecology and Culture of Grey Mullet (Mugilidae).* Florida: CRC Press. 2016. P. 128–164.

- Greene C.W., Greene C.H. The skeletal musculature of the king salmon // Bull. US Bureau Fish. 1913. V. 33. P. 21–60.
- Grubich J.R. Prey capture in Actinopterygian fishes: a review of suction feeding motor patterns with new evidence from an elopomorph fish, *Megalops atlanticus* // Amer. Zool. 2001. V. 41. P. 1258–1265.
- Hilton E.J. Comparative osteology and phylogenetic systematics of fossil and living bony-tongue fishes (Actinopterygii, Teleostei; Osteoglossomorpha) // J. Linn. Soc. London, Zool. 2003. V. 137. P. 1–100.
- Howard K.G., Claisse J.T., Clark T.B. et al. Home range and movement patterns of the redlip parrotfish (*Scarus rubroviolaceus*) in Hawaii // Mar. Biol. 2013. V. 160. № 7. P. 1583–1595.
<https://doi.org/10.1007/s00227-013-2211-y>
- Howes G.J. The cranial musculature and taxonomy of characoid fishes of the tribes Cynodontini and Characini // Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Zool. 1976. V. 29. № 4. P. 203–248.
- Howes G.J. Cranial muscles of gonorynchiform fishes, with comments on generic relationships // Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Zool. 1985. V. 49. № 2. P. 273–303.
- Huby A., Lowie A., Herrel A. et al. Functional diversity in biters: the evolutionary morphology of the oral jaw system in pacus, piranhas and relatives (Teleostei: Serrasalminae) // Biol. J. Linn. Soc. 2019. V. 127. № 4. P. 722–741.
- Huby A., Parmentier E. Actinopterygians: head, jaws and muscles // Heads, jaws and muscles. Fascinating Life Sciences. Springer, Cham. 2019. P. 93–117.
- Humphrey D.R., Reed D.J. Separate cortical systems for control of joint movement and joint stiffness: reciprocal activation and coactivation of antagonist muscles // Adv. Neurol. 1983. V. 39. P. 347–372.
- Johnson G.D. Revisions of anatomical descriptions of the pharyngeal jaw apparatus in moray eels of the family Muraenidae (Teleostei: Anguilliformes) // Copeia. 2019. V. 107. № 2. P. 341–357.
<https://doi.org/10.1643/CI-19-211>
- Johnson G.D., Patterson C. Relationships of Lower Euteleostean Fishes / Interrelationships of Fishes. Eds M.L.J. Stiassny, L.R. Parenti, G.D. Johnson. New York: Acad. Press. 1996. P. 251–332.
- Kenaley C.P. Exploring feeding behaviour in deep-sea dragonfishes (Teleostei: Stomiidae): jaw biomechanics and functional significance of a loosejaw // Biol. J. Linn. Soc. 2012. V. 106. № 1. P. 224–240.
- Konow N., Sanford C.P.J. Biomechanics of a convergently derived prey-processing mechanism in fishes: evidence from comparative tongue-bite apparatus morphology and raking kinematics // J. Exp. Biol. 2008a. V. 211. P. 3378–3391.
- Konow N., Sanford C.P.J. Is a congruently derived muscle-activity pattern driving novel raking behaviours in teleost fishes? // J. Exp. Biol. 2008b. V. 211. P. 989–999.
<https://doi.org/10.1242/jeb.013078>
- Konow N., Bellwood D.R., Wainwright P.C., Kerr A.M. Evolution of novel jaw joints promote trophic diversity in coral reef fishes // Biol. J. Linn. Soc. 2008. V. 93. P. 545–555.
- Konow N., Krijestorac B., Sanford C.P.J. et al. Prey processing in the Siamese fighting fish (*Betta splendens*) // J. Comp. Physiol. 2013. V. 199. P. 641–651.
<https://doi.org/10.1007/s00359-013-0819-5>
- Lauder G.V. Evolution of the feeding mechanism in primitive actinopterygian fishes: a functional anatomical analysis of *Polypterus*, *Lepisosteus* and *Amia* // J. Morph. 1980a. V. 163. № 3. P. 283–317.
- Lauder G.V. The suction feeding mechanism in sunfishes (*Lepomis*): an experimental analysis // J. Exp. Biol. 1980b. V. 88. № 1. P. 49–72.
- Lauder G.V. Intraspecific functional repertoires in the feeding mechanism of the characoid fishes *Lebiasina*, *Hoplias* and *Chalceus* // Copeia. 1981. P. 154–168.
- Lauder G.V. Food capture. Fish biomechanics. Eds P.W. Webb, D. Weihs. Praeger Publishers, New York. 1983. 311 p.
- Lauder G.V. Aquatic feeding in lower vertebrates / Functional vertebrate morphology. Eds M. Hildebrand, D.M. Bramble, K.F. Liem, D.B. Wake. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press. 1985. 229 p.
- Lauder G.V., Lanyon L.E. Functional anatomy of feeding in the bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*: *in vivo* measurement of bone strain // J. Exp. Biol. 1980. V. 84. P. 33–55.
- Lauder G.V., Liem K.F. The feeding mechanism and cephalic myology of *Salvelinus fontinalis*: form, function, and evolutionary significance // Charrs: Salmonids of the Genus *Salvelinus*. Ed. E.K. Balon. Netherlands: Junk Publishers. 1980. P. 365–390.
- Lauder G.V., Liem K.F. Prey capture by *Luciocephalus pulcher*: implications for models of jaw protrusion in teleost fishes // Environ. Biol. Fishes. 1981. V. 6. № 3/4. P. 257–268.
- Liem K.F. Modulatory multiplicity in the feeding mechanism in cichlid fishes, as exemplified by the invertebrate pickers of Lake Tanganyika // J. Zool. 1979. V. 189. № 1. P. 93–125.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1979.tb03954.x>
- Liem K.F. Adaptive significance of intra- and interspecific differences in the feeding repertoires of cichlid fishes // Amer. Zool. 1980a. V. 20. P. 295–314.
- Liem K.F. Acquisition of energy by teleosts: adaptive mechanisms and evolutionary patterns. Environmental physiology of fishes // Plenum Press. New York. 1980b. P. 299–334.
- Liem F.K., Osse J.W.M. Biological versatility, evolution, and food resource exploitation in african cichlid fishes // Am. Zool. 1975. V. 15. № 2. P. 427–454.
- Luca C.J., Mambrito B. Voluntary control of motor units in human antagonist muscles: coactivation and reciprocal activation // J. Neurophysiol. 1987. V. 58. № 3. P. 525–542.
- MacDonald I. Burial mechanics of the pacific sandfish: the role of the ventilatory pump and physical constraints on the behavior // MSc Thesis, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ. 2015. 49 p.
- Martinez C.M., Tovar A.J., Wainwright P.C. A novel intra-mandibular joint facilitates feeding versatility in the sixbar

- distichodus // *J. Exp. Biol.* 2022. V. 225. № 2. P. 1–16.
<https://doi.org/10.1242/jeb.243621>
- Mehta R.S.* Ecomorphology of the moray bite: relationship between dietary extremes and morphological diversity // *Physiol. Biochem. Zool.* 2009. V. 82. № 1. P. 90–103.
- Meyer J., Herrel A., Belpaire C. et al.* Broader head, stronger bite: *In vivo* bite forces in European eel *Anguilla anguilla* // *J. Fish Biol.* 2018. V. 92. № 1. P. 268–273.
- Moritz T., Britz R.* Ontogeny and homology of the basipterygoid articulation in *Pantodon buchholzi* (Teleostei: Osteoglossomorpha) // *Zool. J. Linn. Soc.* 2005. V. 144. № 1. P. 1–13.
- Olivier D., Wassenbergh S., Parmentier E., Frederich B.* Unprecedented biting performance in herbivorous fish: how the complex biting system of Pomacentridae circumvents performance trade-offs // *Am. Nat.* 2021. V. 197. № 5. P. 156–172.
- Osse J.W.M.* Functional morphology of the head of the perch (*Perca fluviatilis* L.): an electromyographic study // *Neth. J. Zool.* 1969. V. 19. P. 289–392.
- Pankratz D.S.* The cranial musculature of the toadfish (*Opsanus tau*) // *J. Morph. Physiol.* 1927. V. 45. P. 209–231.
- Pastana M.N.L., Johnson G.D., Datovo A.* Comprehensive phenotypic phylogenetic analysis supports the monophyly of stromateiform fishes (Teleostei: Percomorphaea) // *Zool. J. Linn. Soc.* 2022. V. 195. № 3. P. 841–963.
- Peixoto L.A.W., Pinna M.* Patterns of diversification and phylogenetic structure in the dorsolateral head musculature of Neotropical electric eels (Ostariophysi: Gymnotiformes), with a myological synonymy // *Neotrop. Ichthyol.* 2022. V. 20. № 1. P. 1–117.
<https://doi.org/10.1590/1982-0224-2021-0009>
- Pietsch T.W.* Phylogenetic relationships of trachinoid fishes of the family *Uranoscopidae* // *Copeia.* 1989. V. 1989. № 2. P. 253–303.
- Sanderson S.L.* Variation in neuromuscular activity during prey capture by trophic specialists and generalists (Pisces: Labridae) // *Brain Behav. Evol.* 1988. V. 32. № 5. P. 257–268.
<https://doi.org/10.1159/000116554>
- Sanford C.P.J.* Salmonoid fish osteology and phylogeny (Teleostei: Salmonoidei) // *Thes. Zool.* 2000. V. 33. P. 1–264.
- Sanford C.P.J.* Kinematic analysis of a novel feeding mechanism in the brook trout *Salvelinus fontinalis* (Teleostei: Salmonidae): behavioral modulation of a functional novelty // *J. Exp. Biol.* 2001. V. 204. P. 3905–3916.
<https://doi.org/10.1242/jeb.204.22.3905>
- Sanford C.P., Lauder G.V.* Functional morphology of the “tongue-bite” in the osteoglossomorph fish *Notopterus* // *J. Morphol.* 1989. V. 202. P. 379–408.
- Sanford C.P.J., Lauder G.V.* Kinematics of the tongue-bite apparatus in osteoglossomorph fishes // *J. Exp. Biol.* 1990. V. 154. P. 137–162.
- Tran L.X., Maekawa Y., Soyano K., Ishimatsu A.* Morphological comparison of the feeding apparatus in herbivorous, omnivorous and carnivorous mudskippers (Gobiidae: Oxudercinae) // *Zoomorphology.* 2021. V. 140. № 3. P. 387–404.
<https://doi.org/10.1007/s00435-021-00530-8>
- Travers R.A.* A review of the Mastacembeloidei, a suborder of synbranchiform teleost fishes. Part 1. Anatomical descriptions // *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Zool.* 1984. V. 46. № 1. P. 1–133.
- Tulenko F.J., Currie P.* Zebrafish myology // *The zebrafish in biomedical research. Biology, husbandry, diseases and research applications.* Academic Press. 2020. P. 115–121.
- Turingan R.G., Wainwright P.C.* Morphological and functional bases of durophagy in the queen triggerfish, *Balistes vetula* (Pisces, Tetraodontiformes) // *J. Morphol.* 1993. V. 215. P. 101–118.
- Vari R.P.* Anatomy, relationships and classification of the families Citharinidae and Distichodontidae (Pisces, Characoidea) // *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.), Zool.* 1979. V. 36. № 2. P. 261–344.
- Velasco-Hogan A., Huang W., Serrano C. et al.* Tooth structure, mechanical properties, and diet specialization of Piranha and Pacu (Serrasalminae): a comparative study // *Acta Biomater.* 2021. V. 134. P. 531–545.
- Vita G., Zanata A.M., Datovo A.* Anatomy and ontogenetic changes of the facial and gular musculature of the tetra *Astyanax brucutu*: a remarkable case of adaptation to durophagy // *J. Anat.* 2020. V. 237. № 2. P. 1–15.
<https://doi.org/10.1111/joa.13280>
- Wainwright P.C., Sanford C.P.J., Reilly S.M., Lauder G.V.* Evolution of motor patterns: aquatic feeding in salamanders and ray-finned fishes // *Brain Behav. Evol.* 1989. V. 34. № 6. P. 329–341.
- Wassenbergh S., Dries B., Herrel A.* New insights into muscle function during pivot feeding in seahorses // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 10. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109068>
- Werneburg I.* Morphology of the jaw, suspensorial, and opercle musculature of Beloniformes and related species (Teleostei: Acanthopterygii), with a special reference to the m. adductor mandibulae complex // *PeerJ.* 2015. V. 3. P. 1–53.
- Westneat M.W.* Evolution of levers and linkages in the feeding mechanisms of fishes // *Integr. Comp. Biol.* 2004. V. 44. № 5. P. 378–389.
- Winterbottom R.* A descriptive synonymy of the striated muscles of the Teleostei // *Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia.* 1974a. V. 125. P. 225–317.
- Winterbottom R.* The familial phylogeny of the Tetraodontiformes (Acanthopterygii: Pisces) as evidenced by their comparative myology // *Smiths. Contrib. Zool.* 1974. V. 155. P. 1–201.
<https://doi.org/10.5479/si.00810282.155>
- Ziermann J.M., Diogo R.* Development of head muscles in fishes and notes on phylogeny-ontogeny links. A basis for evo-devo and developmental research on fish muscles // *Evolution and development of fishes.* Cambridge Univ. Press. 2018. V. 172. P. 172–187.
<https://doi.org/10.1017/9781316832172.011>

Muscle Complexes in the Jaw Apparatus of Teleost Fishes: Structure and Function

E. S. Gromova^a and V. V. Makhotin^a

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia*

Striated muscles of the teleost fishes sometimes combine into complicated “supramuscular” complexes. In these complexes, individual muscles are connected into parallel combinations and/or in sequential series. A group of parallel muscles combines their forces to carry out a single powerful functional act. Consistently connected muscles obtain thereby an increased amplitude and speed of movements. For the described “supramuscular” complexes, the term “supermuscle” has been proposed. The paper provides an overview of the features of the structure and the function of the supermuscles of the teleost fishes heads with parallel and sequential structures. A variety of causes for the formation of muscle complexes is discussed for different taxa of *Teleostei*.

Keywords: Teleostei, functional morphology, jaw apparatus, feeding, muscle complexes, supermuscles

УДК 586.6:581.1

БИОХИМИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОВОДОРОСЛИ *TISOCHRYSIS LUTEA* EL M. BENDIF & I. PROBERT, 2013 (НАРТОРНУТА) НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РОСТА В НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ

© 2023 г. Т. Ю. Орлова¹*, Ж. В. Маркина¹, А. А. Карпенко¹, В. И. Харламенко¹, А. А. Зинов¹

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

*e-mail: torlova06@mail.ru

Поступила в редакцию 28.06.2022 г.

После доработки 12.12.2022 г.

Принята к публикации 26.01.2023 г.

Исследованы рост, биохимический состав и ультраструктура микроводоросли *Tisochrysis lutea* в накопительной культуре в течение 30-суточного эксперимента. Численность клеток *T. lutea* возрастала на протяжении всего опыта. В экспоненциальной и стационарной фазах роста отмечено увеличение размеров и количества липидных капель, содержащих жирные кислоты и каротиноиды, в том числе фукоксантин. Установлено, что суммарное содержание каротиноидов достигает максимума на стационарной фазе и снижается на фазе отмирания. В период стационарной фазы в клетках наблюдается экзоцитоз с выделением липидных капель. Настоящее исследование демонстрирует потенциал клона *T. lutea* MBRU_Tiso-08 из Биоресурсной коллекции “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН в качестве сырья для отечественной биотехнологии, направленной на совместное извлечение каротиноидов (включая фукоксантин) и липидов (включая докозагексаеновую и эйкозапентаеновую жирные кислоты).

Ключевые слова: *Tisochrysis lutea*, микроводоросли, экзоцитоз, биотехнология, каротиноиды, фукоксантин, жирные кислоты, докозагексаеновая кислота, эйкозапентаеновая кислота

DOI: 10.31857/S0134347523030099, **EDN:** SBMQTT

В последние два десятилетия микроводоросли стали рассматривать как реальные “клеточные фабрики” для получения биологически активных веществ (De Vera et al., 2018). Микроводоросли производят ценные соединения, в том числе антиоксиданты, ферменты, полимеры, липиды, полиненасыщенные жирные кислоты, пептиды, витамины, токсины и стеролы, которые широко используются в фармакологии и косметологии, производстве продуктов питания и кормов, а также в других биотехнологических производствах (Vignesh, Varik, 2019). Они содержат такие пигменты, как хлорофиллы, каротиноиды, кето-каротиноиды и фикобилипротеины (Zullaikah et al., 2019). Микроводоросли характеризуются активным ростом и коротким временем генерации, что позволяет им почти ежедневно удваивать биомассу клеток. Это также увеличивает их привлекательность для биотехнологического производства.

Фукоксантин остается одним из наиболее востребованных каротиноидов благодаря своим антиоксидантным, противоопухолевым и противовоспалительным свойствам (Mohibullah et al.,

2022). Микроводоросли рассматривают как перспективный источник фукоксантина не только из-за высокого содержания в них этого соединения (до 15–40 мг в одном грамме сухого веса микроводорослей), но и благодаря возможности их массового культивирования с помощью биореакторов и в открытых прудах (Zarekarizi et al., 2019).

Микроводоросли продуцируют полиненасыщенные жирные кислоты (ω -3 LC-PUFAs), такие как эйкозапентаеновая (ЭПК) и докозагексаеновая (ДГК) (Koller et al., 2014). Ценность этих кислот заключается в их способности снижать риск сердечно-сосудистых заболеваний, диабета и артрита, улучшать состояние пациентов с деменцией, депрессивными состояниями и астмой. Эти кислоты важны для нормального эмбрионального развития организма (Hu et al., 2018). Микроводоросли продуцируют и нейтральные липиды, например триацилглицериды (ТАГ) (Соловченко, 2012), широко используемые для получения биотоплива (Custodio et al., 2014).

Среди морских микроводорослей наиболее высоким содержанием ДГК и ЭПК характеризу-

ются представители семейства Isochrysidaceae (Bendif et al., 2013). Их выращивают в марикультуре, используя затем в качестве корма для личинок морских беспозвоночных и сырья для фармацевтической и косметической промышленности (Perez-Garcia et al., 2011). Вид *Tisochrysis lutea*, ранее известный как *Isochrysis* aff. *galbana* клон T-ISO (см. Bendif et al., 2013), – один из самых широко используемых объектов биотехнологического производства (Araújo et al., 2021). В клетках этой водоросли в высоких концентрациях содержатся омега-3 жирные кислоты, в том числе ДГК и ЭПК (до 14% от общего содержания жирных кислот), а также омега-6 жирные кислоты (Del Pilar Sánchez-Saavedra et al., 2016). Установлено, что *T. lutea* может накапливать каротиноиды в рекордно высоких концентрациях (Alkhamis, Qin, 2016) и обладает способностью одновременно синтезировать фукоксантин и ДГК (Premaratne et al., 2021).

Цель настоящей работы – исследовать состав жирных кислот и фотосинтетические пигменты у *T. lutea* из Биоресурсной коллекции “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН, а также оценить изменения липидных капель на разных фазах роста микроводоросли.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служила культура одноклеточной водоросли *T. lutea* El M. Bendif & I. Probert, 2013 из отдела Haptophyta – штамм MBRU_Tiso-08 из Биоресурсной коллекции “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН (<http://mar-bank.dvo.ru>). Культура выделена из прибрежных вод зал. Петра Великого (Японское море) в 2012 г., ее идентификация подтверждена с помощью молекулярно-генетических методов (Ефимова и др., 2016). Культуру выращивали на среде *f*, приготовленной на основе стерилизованной морской воды в 250 мл колбах Эрленмейера с объемом культуральной среды 100 мл, при температуре 20°C, интенсивности освещения 70 мкмоль/с/м² в области видимого света и свето-темновым периодом 14 ч свет : 10 ч темнота (Guillard, Ryther, 1962). В качестве инокулята использовали культуру на экспоненциальной стадии роста. Показатели pH культуральной среды измеряли pH-метром HI 8314F (Hanna Instruments, США).

Размер клеток и флуоресценцию хлорофилла *a* измеряли на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Для анализа записывали данные 10000 клеток водоросли в течение каждого измерения. Гейтирование для выбора клеток из общего числа событий проводили по флуоресценции хлорофилла *a*. Флуоресценцию хлорофилла *a* возбуждали лазером с длиной волны 488 нм и регистрировали при 690 ± 25 нм (Маркина, 2019). Размер клеток водоросли определяли с помощью калибровочных бусин (Molecular Probes,

США) по показателю прямого светорассеяния. Получение данных и их первичный анализ проводили в программе CytExpert 2.0 (Beckman Coulter, США).

Для анализа содержания фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и суммарного содержания каротиноидов) использовали образцы, собранные на мембранный фильтр. Пигменты экстрагировали 90%-ным ацетоном, затем центрифугировали для удаления взвеси в течение 15 мин при 7000 об/мин. Супернатант сливали и определяли на следующих длинах волн: 480, 630, 647, 664 и 750 нм с помощью спектрофотометра Shimadzu UV-2550 (Япония). Расчет концентраций пигментов проводили по стандартным формулам (Jeffrey, Humphrey, 1975).

Липиды экстрагировали с помощью метода Блая и Дайера (Bligh, Dyer, 1959) и разделяли одномерной тонкослойной хроматографией на силикагеле. В качестве системы растворителей использовали смесь гексана, диэтилового эфира и уксусной кислоты (80 : 20 : 1). Зоны силикагеля, содержащие ТАГ, сразу же собирали шпателем и затем элюировали липиды смесью хлороформа и метанола (1 : 1). Метилловые эфиры жирных кислот получали переэтерификацией липидов по известной методике (Carreau, Dubacq, 1978) и очищали тонкослойной хроматографией в бензоле. Метилловые эфиры жирных кислот анализировали на хроматографе Shimadzu GC-14A (Япония) с пламенно-ионизационным детектором с использованием капиллярной кварцевой колонки, при температуре 210°C; газ-носитель – гелий.

Спектры комбинационного рассеяния получали с помощью рамановского микроскопа-спектрометра inVia Reflex (Renishaw, Великобритания), объединенного с микроскопом падающего света Leica DM2500 M (Leica Microsystems, Германия). Для возбуждения использовали диодный лазер 532 нм при 1.0 мВт мощности на уровне объекта и времени экспозиции 0.1 с в 100 повторах. Лазерное пятно диаметром около 1.6 мкм на образце формировалось объективом ×20, NA = 0.6 (Leica). Измерили 20 спектров в диапазоне от 100 до 1800 см⁻¹, в том числе 10 из центральной области клетки и 10 из периферийной (цитоплазма и мембрана). Для обработки спектров использовали функции сглаживания, вычитания базовой линии и подгонки пиков (Tschirner et al., 2008). Качественную оценку содержания каротиноидов в клетках проводили с учетом особенностей амплитуд рамановского спектра.

Для трансмиссионной электронной микроскопии клетки водорослей фиксировали в течение 2 ч в 2.5%-ном глутаральдегиде, приготовленном на фосфатном буфере (pH 7.4), а затем в 1%-ной четырехокиси осмия на том же буфере в течение 1 ч. Для повышения контрастности клетки окраши-

вали 0.15%-ным раствором рутения красного в течение 15 мин. Материал обезжизняли в серии спиртов возрастающей концентрации и ацетона и заливали в смесь эпона и аралдита (Fluka, Швейцария) по стандартной методике (Luft, 1961). Срезы толщиной 70 нм изготавливали с помощью алмазного ножа (Diatome, Швейцария) на ультрамикротоме Ultracut-R (Leica Microsystems, Германия) и контрастировали 2%-ным раствором уранилацетата и цитратом свинца по стандартной методике (Reynolds, 1963). Исследование срезов проводили на трансмиссионном электронном микроскопе Libra 120 (Carl Zeiss, Германия), ускоряющее напряжение 120 кВ.

Эксперименты проведены в трех биологических повторностях. На графиках и в таблицах представлены средние значения и стандартные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Численность клеток в культуре *T. lutea* увеличивалась в течение 30 суток. На протяжении первых трех недель культивирования соотношение клеток размером 2–4 и 5–6 мкм было одинаковым, с 21-х суток и до конца эксперимента преобладали клетки меньшего размера (рис. 1).

Содержание хлорофилла *a* и каротиноидов соответствовало динамике численности клеток (табл. 1). К началу стационарной фазы роста содержание хлорофилла *a* и каротиноидов увеличилось соответственно в 4 и 5 раз по сравнению с таковым на экспоненциальной фазе роста. На стадии отмирания содержание фотосинтетических пигментов снизилось.

В течение всего периода наблюдений в клетках *T. lutea* отмечали липидные капли (рис. 2а, 2б), которые экстрагировались между органическими чешуйками, покрывающими клетку микроводоросли (рис. 2г, 2д). На стационарной фазе роста культуры липидные капли были обнаружены и у бактерий, ассоциированных с *T. lutea* (рис. 2в), и в культуральной среде (рис. 2е). Через 30 сут культивирования выделение липидных капель у *T. lutea* (рис. 3) хорошо заметно на световом уровне.

Таблица 1. Показатель рН культуральной среды и содержание фотосинтетических пигментов *Tisochrysis lutea* в зависимости от фазы роста

Фаза роста культуры	Показатель				
	рН	Хлорофилл <i>a</i> , мкг/л	Каротиноиды, мкг/л	Хлорофилл <i>a</i> , г/10 ¹³ на клетку	Каротиноиды, г/10 ¹³ на клетку
Экспоненциальная	8.61	381 ± 43	482 ± 84	1.73 ± 0.08	2.17 ± 0.41
Стационарная	8.66	1505 ± 280	2572 ± 562	1.65 ± 0.32	2.79 ± 0.67
Фаза отмирания	8.36	561 ± 116	1314 ± 271	2.31 ± 0.24	5.54 ± 0.52

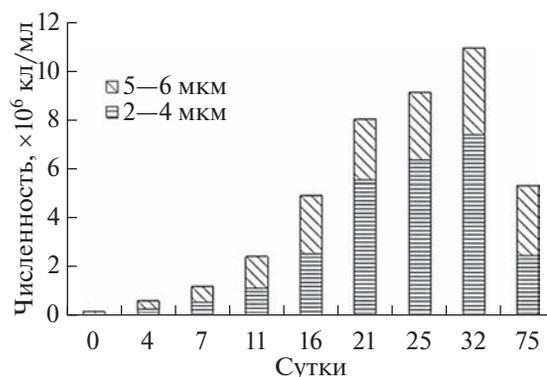


Рис. 1. Динамика численности популяции *Tisochrysis lutea* и ее размерная структура в течение культивирования.

На рамановских спектрах липидных капель отмечено увеличение значений пиков β-каротина при 1157 и 1526 см⁻¹ (рис. 4а, 4б). Это явление характерно как для экспоненциальной, так и стационарной фазы роста. Также при исследовании *T. lutea* получены моды 1525, 1160 и 1010 см⁻¹, соответствующие изомерам каротиноида фукоксантина (рис. 5а, 5б).

Содержание ТАГ на клетку *T. lutea* на экспоненциальной стадии роста составляло 0.61 пкг/10³ клеток, на стационарной — 0.61 пкг/10³ клеток и на стадии снижения численности — 0.67 пкг/10³ клеток.

На стадии экспоненциального роста и в начале стадии стационарного роста (30 сут) в составе жирных кислот *T. lutea* (табл. 2) преобладали полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), содержание которых составляло 40.9%, содержание насыщенных и мононенасыщенных (МНЖК) жирных кислот было ниже. В конце стационарной фазы (60 сут) содержание ПНЖК было выше, чем содержание МНЖК. Среди ПНЖК наибольшая концентрация в клетке отмечена для жирных кислот 18:4n-3 (15.3–20.9%) и 22:6n-3 (7.7–11.3%). Концентрации 20:5n-3 и 20:4n-6 на всех стадиях были минимальными. Можно отметить заметные концентрации 22:5n-6, содержание которой со временем возрастало. Соотношение n-3/n-6

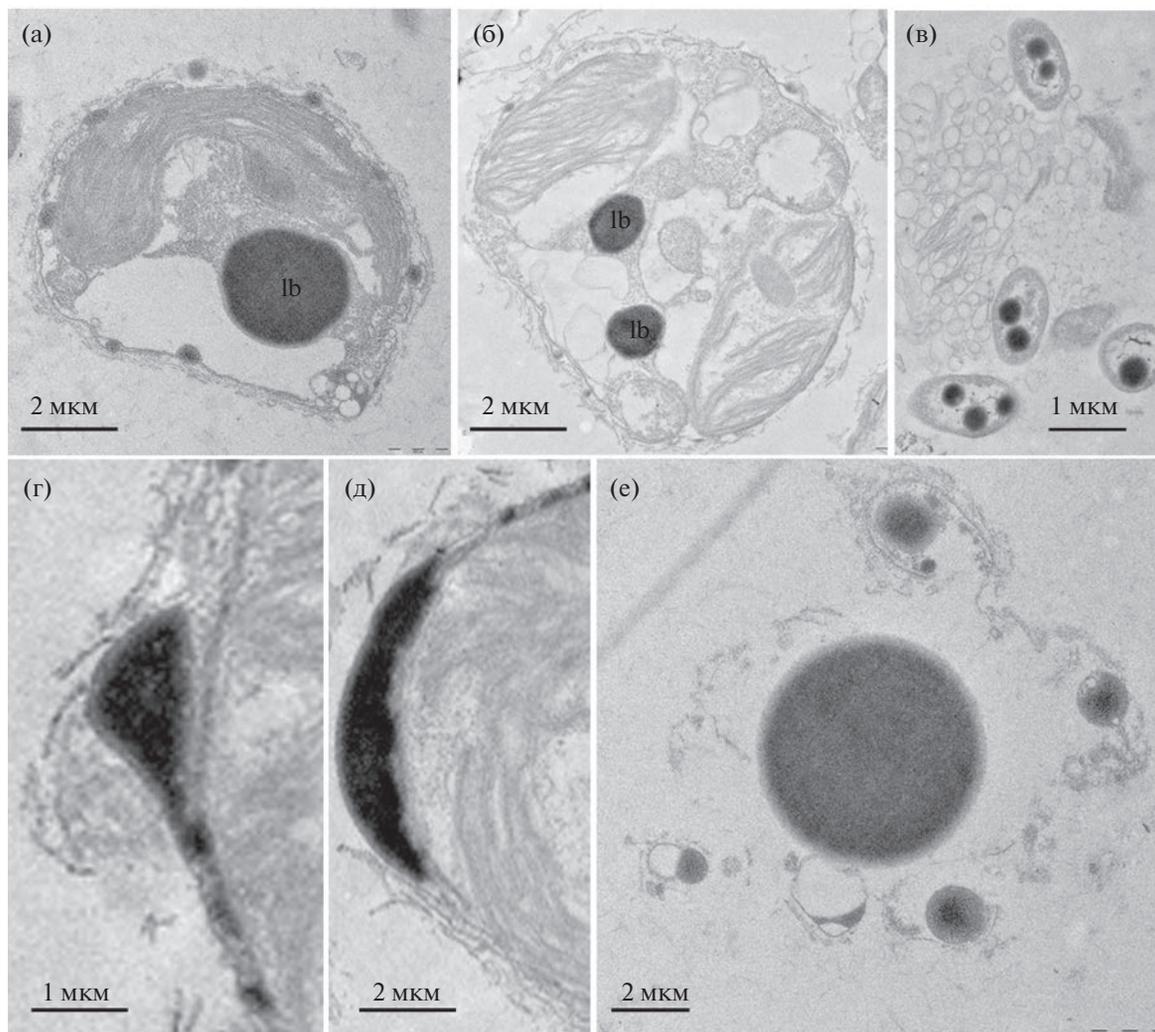


Рис. 2. Изменения липидных телц внутри клеток *Tisochrysis lutea* и их экскреция в среду: а, б – общий вид клетки, содержащей липидные капли (трансмиссионная электронная микроскопия), lb – липидная капля; в – бактерии, содержащие липидные капли, в культуре микроводоросли; г, д – выделение липидных капель в среду; е – липидные капли в культуральной среде.

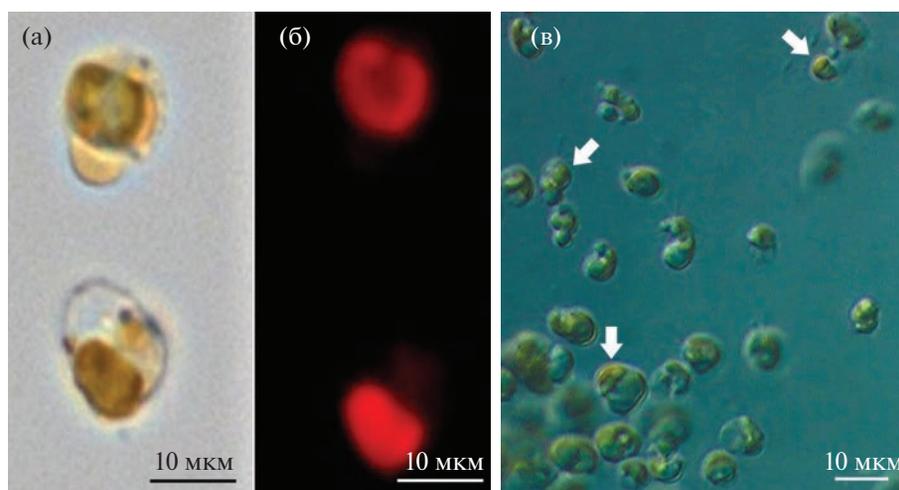


Рис. 3. Клетки *Tisochrysis lutea* (световая микроскопия): а – клетки в проходящем свете; б – автофлуоресценция хлоропласта; в – клетки с DIC-контрастированием, стрелками обозначены липидные капли.

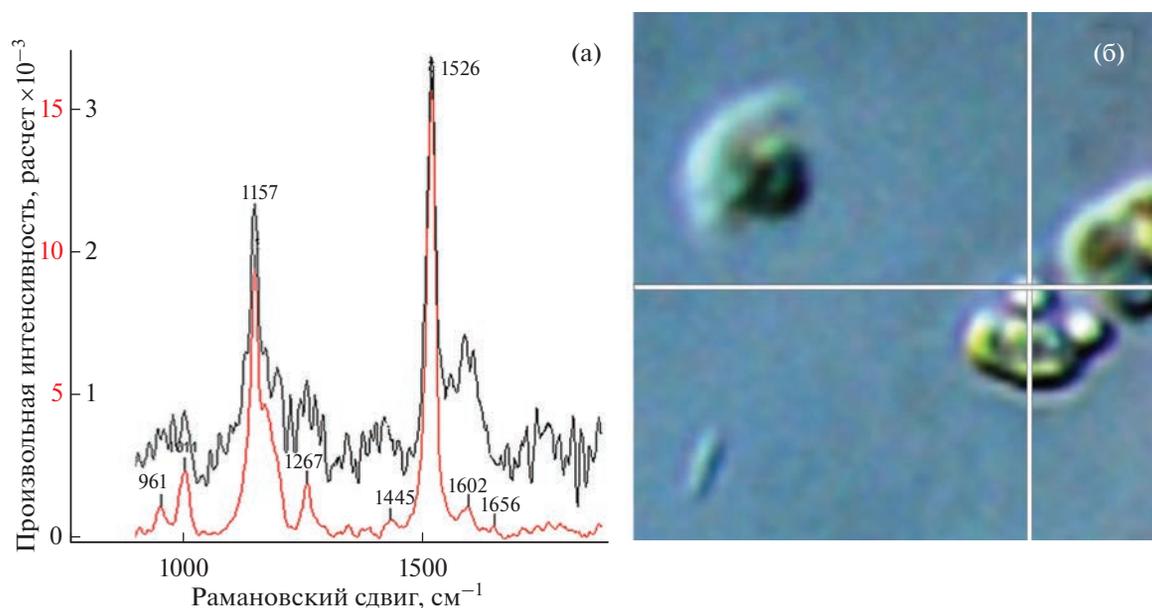


Рис. 4. Рамановский спектр *Tisochrysis lutea* на разных фазах роста культуры (а), черной линией обозначена экспоненциальная фаза роста, красной – стационарная; б – точка получения рамановского спектра (липидная капля).

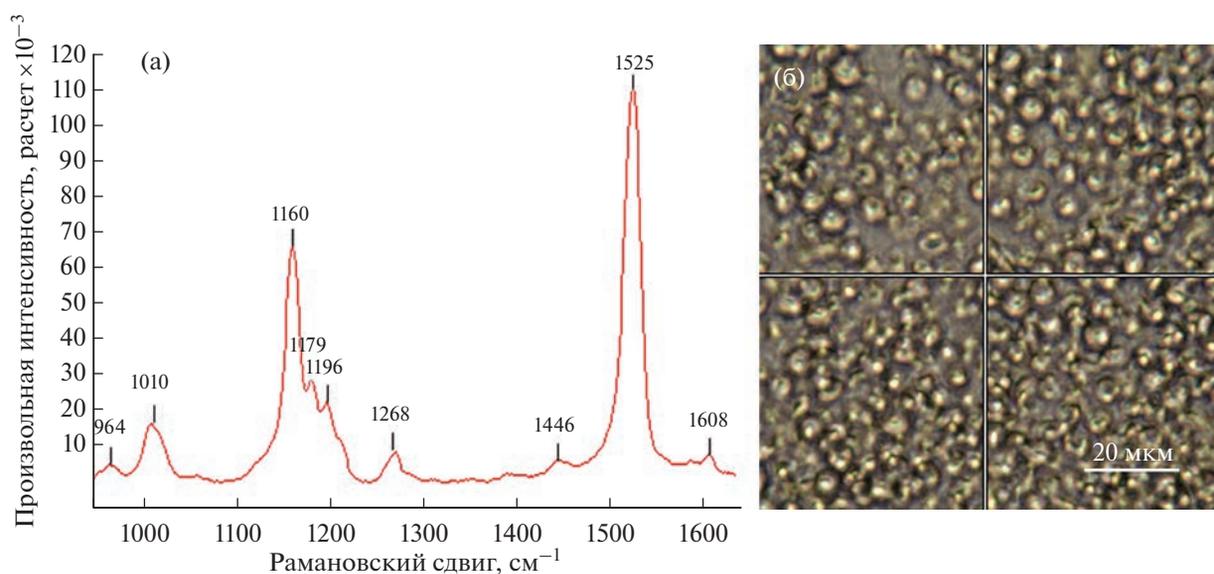


Рис. 5. Рамановский спектр *Tisochrysis lutea*: а – моды фукоксантина (ν_1 1525, ν_2 1160, ν_3 1010 cm^{-1}); б – точка получения рамановского спектра (клетка).

ПНЖК значительно уменьшалось в конце стационарной фазы. Концентрация докозагексаеновой кислоты, составлявшая на экспоненциальной фазе 0.82 мг/л, на стационарной достигала максимума (1.62 мг/л) и с началом отмирания культуры клеток снижалась до значений в экспоненциальной фазе.

Среди МНЖК преобладала жирная кислота 18:1n-9 (17.1–28.2%), в поздней стационарной фазе значительно увеличивалось содержание 18:1n-7.

Среди НЖК преобладали 14:0 и 16:0 кислоты, содержание 18:0 было невелико. Концентрация 22:6n-3, которая была максимальной в начале стационарной фазы, составляя 1.544 мг/л культуры, к концу опыта заметно уменьшалась.

ОБСУЖДЕНИЕ

Микроводоросль *T. lutea* продуцирует ряд каротиноидов, в том числе β -каротин и фукоксан-

Таблица 2. Состав жирных кислот (% от суммы жирных кислот) на разных фазах роста культуры микроводорослей *Tisochrysis lutea*

Жирные кислоты	Экспоненциальная	Стационарная	Фаза отмирания
	N = 3	N = 4	N = 4
14:0	19.7 ± 1.2	14.6 ± 0.6	12.2 ± 0.8
15:0	1.2 ± 0.2	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.1
16:1n-7	5.2 ± 0.2	3.6 ± 0.3	3.8 ± 0.1
16:0	14.1 ± 1.9	12.8 ± 0.3	12.6 ± 0.4
18:4n-3	20.9 ± 2.8	18.8 ± 0.6	15.3 ± 0.9
18:2n-6	3.4 ± 0.1	1.8 ± 0.0	2.8 ± 0.1
18:3n-3	1.6 ± 0.3	2.4 ± 0.4	2.0 ± 0.5
18:1n-9	17.1 ± 0.4	28.2 ± 0.9	23.8 ± 1.2
18:1n-7	1.2 ± 0.1	1.0 ± 0.2	7.8 ± 0.7
18:0	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.2	2.9 ± 0.5
19:1n-6	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.3	1.9 ± 0.1
20:4n-6	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.6 ± 0.2
20:5n-3	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.5 ± 0.0
21:5n-3	0.5 ± 0.0	0.8 ± 0.1	1.4 ± 0.0
22:5n-6	2.1 ± 0.3	3.1 ± 0.2	4.2 ± 0.1
22:6n-3	11.3 ± 1.4	10.5 ± 0.5	7.7 ± 0.3
НЖК	35.7	28.6	28.5
МНЖК	23.4	33.0	35.8
n-3 ПНЖК	35.3	33.4	28.1
n-6 ПНЖК	5.6	5.0	7.6
n-3/n-6	6.0	6.2	3.4

Примечание. НЖК – насыщенные жирные кислоты; МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; N – число проб.

тин, содержание которых варьирует на разных этапах роста культуры и определяется параметрами культивирования (Pajot et al., 2022). Согласно полученным нами данным, содержание липидов и каротиноидов увеличивалось на стационарной фазе роста культуры (табл. 1, 2; рис. 4а). Максимальное содержание липидов в накопительной культуре на стадии стационарного роста показано для многих видов микроводорослей. При снижении количества питательных веществ в среде наступает так называемая липогенная фаза, которая характеризуется замедлением или остановкой клеточного деления и накоплением нейтральных липидов (Соловченко, 2012; Орлова и др., 2019).

Наибольшее содержание жирных кислот в культуре *T. lutea* также регистрировали на стационарной фазе. В разных штаммах *Isochrysis galbana* и *T. lutea* концентрация ПНЖК 22:6n-3 составила от 3.6 до 25.3% от общего содержания жирных кислот. Нами установлено, что содержание 18:4n-3 в клетках *T. lutea* значительно превышало тако-

вое у большинства ранее исследованных штаммов (Liu et al., 2013).

Содержание ДГК и ЭПК свидетельствует о биотехнологическом потенциале культуры, поддерживаемой в Биоресурсной коллекции “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН (табл. 3).

В ходе нашего эксперимента обнаружено значительное увеличение размеров липидных капель в клетках, что является ответом на недостаток питательных веществ (Соловченко, 2012). Известно, что у представителей *Isochrysidaceae* липидные капли примыкают к хлоропласту и могут содержать каротиноиды (Pílát et al., 2012).

На стадии стационарного роста наблюдался экзоцитоз – выделение во внешнюю среду липидных капель, содержащих каротиноиды. На стадиях стационара и отмирания в культуре *T. lutea* отмечены бактерии, в клетках которых также содержались липидные капли. Их количество варьировало от 1 до 3. Подобное явление, отмеченное ранее на штаммах *T. lutea* ССАР 927/14 и ССАР 927/14 Т+, связывают с увеличением выде-

Таблица 3. Максимальное содержание докозагексаеновой (ДГК) и эйкозапентаеновой (ЭПК) кислот (% от суммы жирных кислот) в клетках разных клонов *Tisochrysis lutea*

Клон, место содержания	ДГК	ЭПК	Литературный источник
CCAP 927/14 T+ Institute for Exploitation of the Sea an oceanographic institution in Brest, France	18.0 ± 0.5	—	Da Costa et al., 2017
T-ISO-LB 2307 Collection of Algae at the University of Texas (UTEX) at Austin, Texas, USA	15.21 ± 0.00	3.43 ± 0.41	Sancez-Saavedra et al., 2015
CCMP 1324 National Center for Marine Algae and Microbiota (NCMA), East Boothbay, USA	14.4 ± 0.7	—	Lin et al., 2007
CCMP 1324 National Center for Marine Algae and Microbiota (NCMA), East Boothbay, USA	12.72 ± 0.17	—	Hu et al., 2018
Australian National Algae Culture Collection (ANACC) Hobart CSIRO, Australia	10.1 ± 0.22	0.5 ± 0.01	Alkhamis, Qin, 2016
CS-177 Australian National Algae Culture Collection (ANACC) Hobart CSIRO, Australia	11.1 ± 2.8	0.6 ± 0.2	Mai et al., 2021
Adelaide, Australia South Australian Research and Development Institute Aquatic Science Centre, Adelaide	8.20 ± 0.10	0.57 ± 0.06	Rasdi, Qin, 2015
RCC1349 Roscoff Culture Collection of Marine Microalgae Roscoff, France	4.8 ± 0.5	—	Gnouma et al., 2017
MBRU_Tiso-08 Биоресурсная коллекция “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН, Владивосток, Россия (The Resource Collection Marine Biobank on the basis of the National Scientific Center of Marine Biology (NSCMB), Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences Vladivostok, Russia)	11.3 ± 1.4	0.5 ± 0.0	Настоящая работа

Примечание. “—” — нет данных.

ления вторичных метаболитов (Da Costa et al., 2017).

Таким образом, рост популяции *T. lutea* продолжается до 30-х суток. С увеличением времени экспозиции растет количество липидных капель, содержащих липиды и каротиноиды, в том числе фукоксантин. В период стационарной фазы у большинства клеток наблюдается явление экзоцитоза. Показано, что суммарное содержание каротиноидов увеличивается на стационарной фазе. Содержание докозагексаеновой и эйкозапентаеновой жирных кислот нарастает на экспоненциальной и стационарной фазах роста. Полученные нами данные свидетельствуют о высоком биотехнологическом потенциале штамма MBRU_Tiso-08 из Биоресурсной коллекции “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-30004).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят сотрудника ННЦМБ ДВО РАН М.А. Сабуцкую за помощь в проведении электронно-микроскопического анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ефимова К.В., Орлова Т.Ю., Брыков Вл.А. Молекулярно-генетическая идентификация нового штамма *Tisochrysis lutea* (Bendif et Probert, 2013) из акватории российских прибрежных вод Японского моря // Микробиология. 2016. Т. 85. № 3. С. 309–316.
- Маркина Ж.В. Проточная цитометрия как метод исследования морских одноклеточных водорослей: развитие, проблемы, перспективы // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 5. С. 291–298.
- Орлова Т.Ю., Сабуцкая М.А., Маркина Ж.В. Изменение ультраструктуры морских микроводорослей из разных отделов в накопительной культуре // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 3. С. 188–196.
- Соловченко А.Е. Физиологическая роль накопления нейтральных липидов эукариотическими микроводорослями при стрессах // Физиология растений. 2012. Т. 59. № 2. С. 192–192.
- Alkhamis Y., Qin J.G. Comparison of pigment and proximate compositions of *Tisochrysis lutea* in phototrophic and mixotrophic cultures // J. Appl. Phycol. 2016. V. 28. P. 35–42.
- Araújo R., Vázquez Calderón F., Sánchez López J. et al. Current status of the algae production industry in Europe: an emerging sector of the blue bioeconomy // Frontiers Mar. Sci. 2021. V. 7. № 626389.
- Bendif E.M., Probert I., Schroeder D.C., Vargas C. On the description of *Tisochrysis lutea* gen. nov. sp. nov. and *Isochrysis nuda* sp. nov. in the Isochrysidales, and the transfer of Dicrateria to the Prymnesiales (Haptophyta) // J. Appl. Phycol. 2013. V. 25. P. 1763–1776.
- Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. V. 37. P. 911–917.
- Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts // J. Chromatogr. 1978. V. 151. P. 384–390.
- Custodio L., Soares F., Pereira H. et al. Fatty acid composition and biological activities of *Isochrysis galbana* T-ISO, *Tetraselmis* sp. and *Scenedesmus* sp.: possible application in the pharmaceutical and functional food industries // J. Appl. Phycol. 2014. V. 26 P. 151–161.
- Da Costa F., Le G.E., Quéré C. Effects of growth phase and nitrogen limitation on biochemical composition of two strains of *Tisochrysis lutea* // Algal Res. 2017. V. 27. P. 177–189.
- Del Pilar Sánchez-Saavedra M., Maeda-Martínez A.N., Acosta-Galindo S. Effect of different light spectra on the growth and biochemical composition of *Tisochrysis lutea* // J. Appl. Phycol. 2016. V. 28. P. 839–847.
- De Vera C.R., Díaz Crespín G., Hernández Daranas A. et al. Marine microalgae: promising source for new bioactive compounds // Mar. Drugs. 2018. V. 16. № 9.
- Gnounta A., Sadovskaya I., Souissi A. et al. Changes in fatty acids profile, monosaccharide profile and protein content during batch growth of *Isochrysis galbana* (T. iso) // Aquacult. Res. 2017. V. 48. P. 4982–4990.
- Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. // Can. J. Microbiol. 1962. V. 8. P. 229–239.
- Hu H., Ma L.L., Shen X.F. et al. Effect of cultivation mode on the production of docosahexaenoic acid by *Tisochrysis lutea* // AMB Expr. 2018. V. 8. P. 1–12.
- Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a*, *b*, *c1* and *c2* in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Plantz. 1975. V. 167. P. 191–194.
- Koller M., Muhr A., Braunegg G. Microalgae as versatile cellular factories for valued products // Algal Res. 2014. V. 6. P. 52–63.
- Lin Y.-H., Chang F.-L., Tsao C.-Y., Leu J.-Y. Influence of growth phase and nutrient source on fatty acid composition of *Isochrysis galbana* CCMP 1324 in a batch photoreactor // Biochem. Engineer. 2007. V. 37 P. 166–176.
- Liu J., Sommerfeld M., Hu Q. Screening and characterization of *Isochrysis* strains and optimization of culture conditions for docosahexaenoic acid production // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2013. V. 97. P. 4785–4798.
- Luft J.H.J. Improvements in epoxy resin embedding methods // Biophys. Biochem. Cytol. 1961. V. 9. P. 409–414.
- Mai T.D., Lee-Chang K.J., Jameson I.D. et al. Fatty Acid Profiles of Selected Microalgae Used as Live Feeds for Shrimp Postlarvae in Vietnam // Aquac. J. 2021. № 1. P. 26–38.
<https://doi.org/10.3390/aquacj1010004>
- Mohibbullah M., Haque M.N., Sohag et al. A systematic review on marine algae-derived fucoxanthin: an update of pharmacological insights // Mar. Drugs. 2022. V. 20. № 5.
- Pajot A., Hao Huynh G., Picot L. et al. Fucoxanthin from algae to human, an extraordinary bioresource: insights and advances in up and downstream processes // Mar. Drugs. 2022. V. 20. P. 222.
- Perez-Garcia O., Escalante F.M.E., de-Bashan L.E., Bashan Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products // Water Res. 2011. V. 45. P. 11–36.
- Pilát Z., Bernatová S., Ježek J. et al. Raman microspectroscopy of algal lipid bodies: β -carotene quantification // J. Appl. Phycol. 2012. V. 24 P. 541–546.
- Premaratne M., Liyanaarachchi V.C., Nimarshana P.H.V. et al. Co-production of fucoxanthin, docosahexaenoic acid (DHA) and bioethanol from the marine microalga *Tisochrysis lutea* // Biochem. Engineer. J. 2021. V. 176. № 108160.
- Rasdi N.W., Qin J.G. Effect of N:P ratio on growth and chemical composition of *Nannochloropsis oculata* and *Tisochrysis lutea* // J. Appl. Phycol. 2015. V. 27. P. 2221–2230.
- Reynolds E. The use of lead citrate at high pH as an electron opaquestain in electron microscopy // J. Cell Biol. 1963. V. 17. P. 208–212.
- Tschirner N., Schenderlein M., Brose K. et al. Raman excitation profiles of β -carotene—novel insights into the nature of the v1-band // Phys. Stat. Sol. (B). 2008. V. 245. P. 2225–2228.
- Vignesh G., Barik D. Energy From toxic organic waste for heat and power generation, chapter 6: Toxic waste from biodiesel production industries and its utilization. Sawston: Woodhead Publishing. 2019. P. 69–82.
- Zarekarizi A., Hoffmann L., Burritt D. Approaches for the sustainable production of fucoxanthin, a xanthophyll with potential health benefits // J. Appl. Phycol. 2019. V. 31. P. 281–299.
- Zullaikah S., Utomo A.T., Yasmin M. et al. Ecofuel conversion technology of inedible lipid feedstocks to renewable fuel // Advances in eco-fuels for a sustainable environment woodhead publishing series in energy. Amsterdam: Elsevier Ltd. 2019. P. 237–276.

Biochemical and Ultrastructural Changes in the Microalgae *Tisochrysis lutea* (Bendif et Probert) (Haptophyta) at different stages of growth in enhancement culture

T. Yu. Orlova^a, Zh. V. Markina^a, A. A. Karpenko^a, V. I. Kharlamenko^a, and A. A. Zinov^a

^aZhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia

In our study we investigated the growth, biochemical composition, and ultrastructure of *Tisochrysis lutea* microalgae in enrichment culture during 30 days experiment. The number of *T. lutea* cells increased throughout the experiment. We noted an increase in the size and number of lipid droplets containing fatty acids and carotenoids, including fucoxanthin, in the exponential and stationary phases of their growth. It has been established that the total content of carotenoids reaches a maximum in the stationary phase and decreases in the dying phase. During the stationary phase, exocytosis is observed in cells with the release of lipid droplets. This study demonstrates the potential of the *T. lutea* clone MBRU_Tiso-08 from the Marine Biobank Bioresource Collection of the NSCMB FEB RAS as a raw material for domestic biotechnology aimed at the combined extraction of carotenoids (including fucoxanthin) and lipids (including docosahexaenoic and eicosapentaenoic fatty acids).

Keywords: *Tisochrysis lutea*, microalgae, exocytosis, biotechnology, carotenoids, fucoxanthin, fatty acids, docosahexaenoic acid, eicosapentaenoic acid

УДК 577.475

СТРУКТУРА ЗООПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА В ВОДАХ ШПИЦБЕРГЕНА В ЗИМНИЙ ПЕРИОД

© 2023 г. И. В. Берченко¹, *, А. А. Олейник¹, **

¹Мурманский морской биологический институт РАН, Мурманск 183010, Россия

*e-mail: berchenko.igor@gmail.com

**e-mail: oleinik@mmbi.info

Поступила в редакцию 10.03.2022 г.

После доработки 26.10.2022 г.

Принята к публикации 26.01.2023 г.

В зимний период с 30 ноября по 6 декабря 2015 г. исследовали планктонное сообщество Ис-фьорда (центральная часть западного побережья о-ва Западный Шпицберген). Отбор проб производили с борта НИС “Дальние Зеленцы” сетными и батометрическими ловами. Установлен качественный и количественный состав микро- и мезопланктона в разных частях Ис-фьорда, отличающихся гидрологической структурой вод. Отмечено, что данные по числу науплиев мелких копепод в пробах значительно различались в зависимости от способа лова. Основной акцент в обсуждении результатов исследований сделан на рассмотрении методических особенностей планктонных исследований на арктических акваториях в зимний период.

Ключевые слова: Шпицберген, зоопланктон, микропланктон, зимний период

DOI: 10.31857/S0134347523030038, **EDN:** SAYGLE

В полярных широтах неравномерность распределения солнечной энергии, поступающей в течение года, является основополагающим условием в формировании структуры арктических планктонных сообществ и ее сезонных изменений (Eilertsen, Degerlund, 2010). Данный фактор значительно воздействует на фитопланктонное сообщество – основу пищевой сети пелагиали – и опосредованно проявляется на всех трофических уровнях.

По общепринятым представлениям, активные процессы репродукции и роста в популяциях зоопланктонных организмов протекают в весенне-летний период, когда наблюдается максимальное обилие пищевых ресурсов, в данном случае фитопланктона. В зимний период в условиях практически полного отсутствия света (полярная ночь) продукционные характеристики фитопланктона минимальны и виды-фитофаги в большинстве своем пребывают в состоянии диапаузы, выживая за счет снижения биологической активности и использования запасенных ранее внутренних резервов (Lee et al., 2006).

По мере увеличения внимания к структурно-функциональным характеристикам планктонных сообществ в зимнее время критически важное значение приобретает объем доступной для анализа информации. Получение новых данных позволит как уточнить и детализировать существую-

щие представления, так и вписать в общую картину уже имеющиеся противоречивые факты. Например, Берг с соавторами (Berge et al., 2015) указывают на высокие значения численности науплиев некоторых видов зоопланктона зимой, что, по мнению авторов, является свидетельством высокой биологической активности видов в это время.

Несмотря на уже проделанную работу (Daase et al., 2014; Morata, Søreide, 2015; Morata et al., 2015), мы все еще мало знаем о многих аспектах популяционной экологии зоопланктонных видов, активных в течение полярной ночи. Это относится не только к всеядным/хищным, но и к организмам-фитофагам, участвующим в пелагической жизни в зимнее время (Bathmann et al., 1990; Pedersen et al., 1995). Нераскрытыми остаются вопросы смертности и продукции яиц, уровней метаболизма и биохимического состава особей, а в более широком смысле – роли зоопланктона в передаче энергии другим участникам пищевых сетей.

Основная цель нашей работы, посвященной изучению планктона в акватории Ис-фьорда (архипелаг Шпицберген), – установить структурные особенности зоопланктонного сообщества в период полярной ночи и сравнить полученные данные с результатами других исследований.

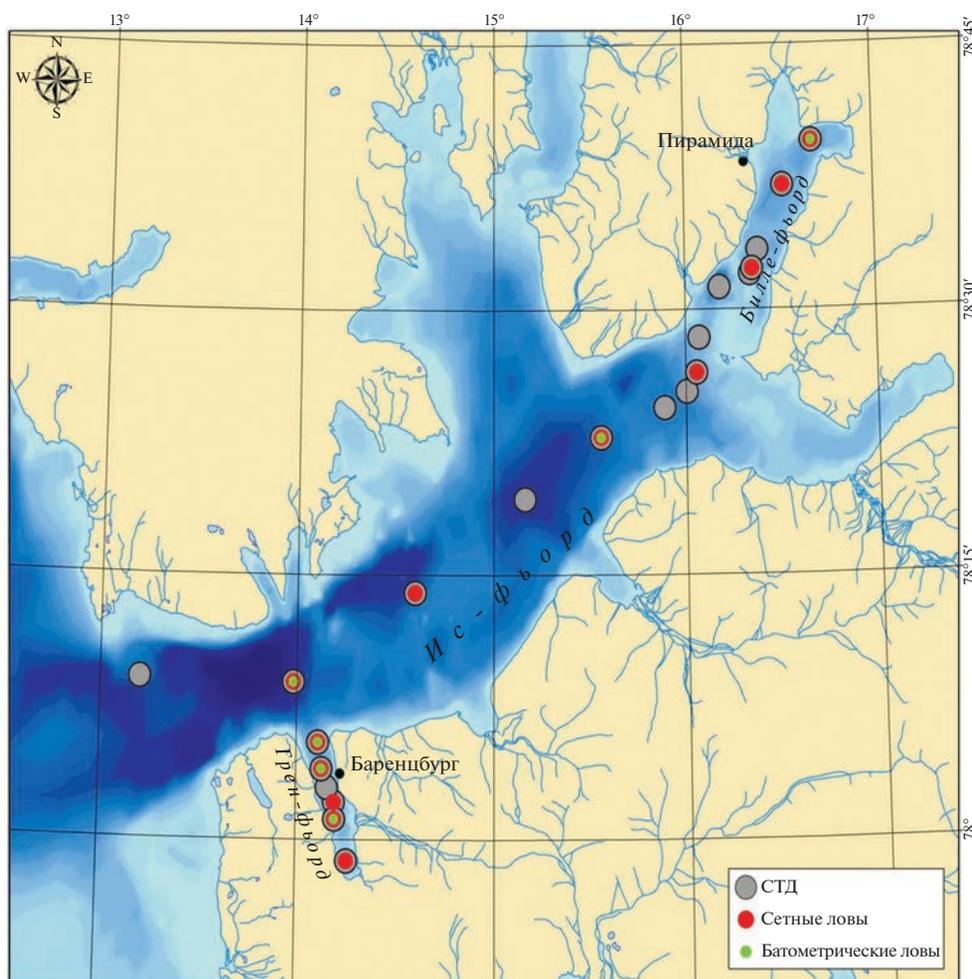


Рис. 1. Карта-схема расположения станций отбора проб, выполненных на исследованной территории.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Характеристика района исследования

Исследованная акватория представляет собой крупнейшую фьордовую систему западного побережья архипелага Шпицберген. Станции отбора проб располагались в центральной части Ис-фьорда, а также во входящих в его состав Грен-фьорде и Билле-фьорде (рис. 1). Основная акватория Ис-фьорда не имеет подводного порога и открыта для беспрепятственного проникновения атлантических водных масс Западно-Шпицбергенского течения, что оказывает значительное воздействие на формирование гидрологической структуры водной толщи в течение всего года (Nilsen et al., 2008). Грен-фьорд, расположенный на южной стороне Ис-фьорда вблизи от его выхода, сравнительно небольшой (длина около 16 км), относительно мелководный. Его внешняя, более глубокая (до 150 м) часть, подвержена влиянию залива атлантических вод, а относительно мелководная внутренняя находится под воз-

действием пресного стока с нескольких ледников, расположенных неподалеку (Мещеряков, 2017). Структура вод Билле-фьорда значительно отличается от основной акватории. Его внутренний бассейн, максимальная глубина которого достигает 190 м, от основной части Ис-фьорда отделяют два подводных порога (глубина 50–70 м), которые ограничивают приток теплых атлантических вод. В результате в течение всего года в Билле-фьорде преобладают отрицательные температуры ниже -0.5°C , что способствует поддержанию здесь популяций арктических видов зоопланктона (Arnkvaern et al., 2005).

Сбор материала

Исследования проводили в период с 30 ноября по 6 декабря 2015 г. в ходе экспедиции НИС «Дальние Зеленцы» (рис. 1, табл. 1).

Соленость воды и температуру водной толщи на станциях определяли с помощью STD-зонда SBE 19 plus SEACAT (США).

Таблица 1. Характеристики станций отбора проб, выполненных на исследованной акватории

Номера станций	Дата	Время	N	E	Глубина, м	СТД-зонд	Сетные ловы	Батометрические ловы, горизонты, м
Грен-фьорд								
27	30.11.2015	13:00	78.0353	14.1920	132	+	0 – дно	–
29	02.12.2015	11:40	77.9800	14.2567	87	+	0 – дно	–
30	02.12.2015	13:20	78.0492	14.1552	149	+	–	–
31	02.12.2015	14:00	78.0192	14.1942	125	+	0 – дно	0, 10, 25, 50, 75, 100
32	02.12.2015	16:50	78.0667	14.1283	145	+	0 – дно	0, 10, 20, 50, 100, 145
33	02.12.2015	18:40	78.0917	14.1083	136	+	0 – дно	0, 10, 25, 60, 80, 135
Ис-фьорд								
38	03.12.2015	14:00	78.5212	16.1810	183	+	–	–
39	03.12.2015	14:40	78.4735	16.0704	69	+	–	–
40	03.12.2015	15:10	78.4227	16.0043	157	+	–	–
41	03.12.2015	15:40	78.4076	15.8888	195	+	–	–
46	05.12.2015	02:00	78.4408	16.0562	108	+	0 – дно	–
47	05.12.2015	05:20	78.3800	15.5567	228	+	0 – дно	0, 10, 25, 50, 100, 228
48	05.12.2015	08:20	78.3217	15.1617	280	+	–	–
49	05.12.2015	10:00	78.2333	14.5983	260	+	0 – дно	–
50	06.12.2015	13:40	78.1485	13.9828	302	+	0 – дно	0, 10, 25, 65, 125, 200
51	12.06.2015	16:40	78.1517	13.2000	280	+	–	–
Билле-фьорд								
35	03.12.2015	08:10	78.6583	16.6767	191	+	0 – дно	0, 20, 30, 50, 75, 100
36	03.12.2015	13:00	78.5562	16.3837	152	+	–	–
37	03.12.2015	13:30	78.5336	16.3410	85	+	–	–
44	04.12.2015	20:30	78.6167	16.5217	143	+	0 – дно	–
45	04.12.2015	23:10	78.5383	16.3533	104	+	0 – дно	–

Примечание. “+” – отбор проб проводился, “–” – отбор проб не проводился.

Отбор проб микропланктона осуществляли батометром Нискина объемом 1 л на шести станциях; на каждой станции пробы отбирали с шести горизонтов (табл. 1). Всего было отобрано 36 проб. Весь материал фиксировали нейтральным формалином в конечной концентрации 1–2% и затем концентрировали способом обратной фильтрации с последующим отстаиванием (Макаревич, Дружков, 1989). Фильтрацию проводили через ядерные лавсановые фильтры с порами 0.95 мкм. После отстаивания остаток с отфильтрованной взвесью объемом 10–15 мл декантировали до объема 1.5–2 мл с помощью трубки с U-образно изогнутым капилляром на конце. Микроскопирование проводили в проходящем свете при увеличениях $\times 100$ –400 в камере Нажотта. Объем клеток определяли методом геометрического подобия (Кольцова, 1970; Hillebrand et al., 1999; Olenina et al., 2006). Биомассу клеток рассчитывали, исходя из принятой удельной плотности клеточного содержимого, равной 1.

Пробы зоопланктона брали на 12 станциях, в качестве орудия лова использовали планктонную сеть Джели с диаметром входного отверстия 37 см и величиной ячеи 155 мкм. Ловы осуществляли тотально, от дна до поверхности. Всего отобрано 12 проб, которые фиксировали 4%-ным раствором формалина. Камеральную обработку проводили, используя микроскоп МБС-10 и камеру Богорова.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Океанографические параметры среды

Главная особенность гидрологической структуры водной толщи Ис-фьорда – разная степень влияния теплых атлантических вод, поступающих из открытой части моря, на отдельные участки акватории. Так, в Грен-фьорде (ст. 27, 29–33) наиболее теплые и соленые воды отмечены в придонном слое ниже 100–110 м. Вышележащие слои характеризовались постепенным снижением температуры и солености до минимальных для этого

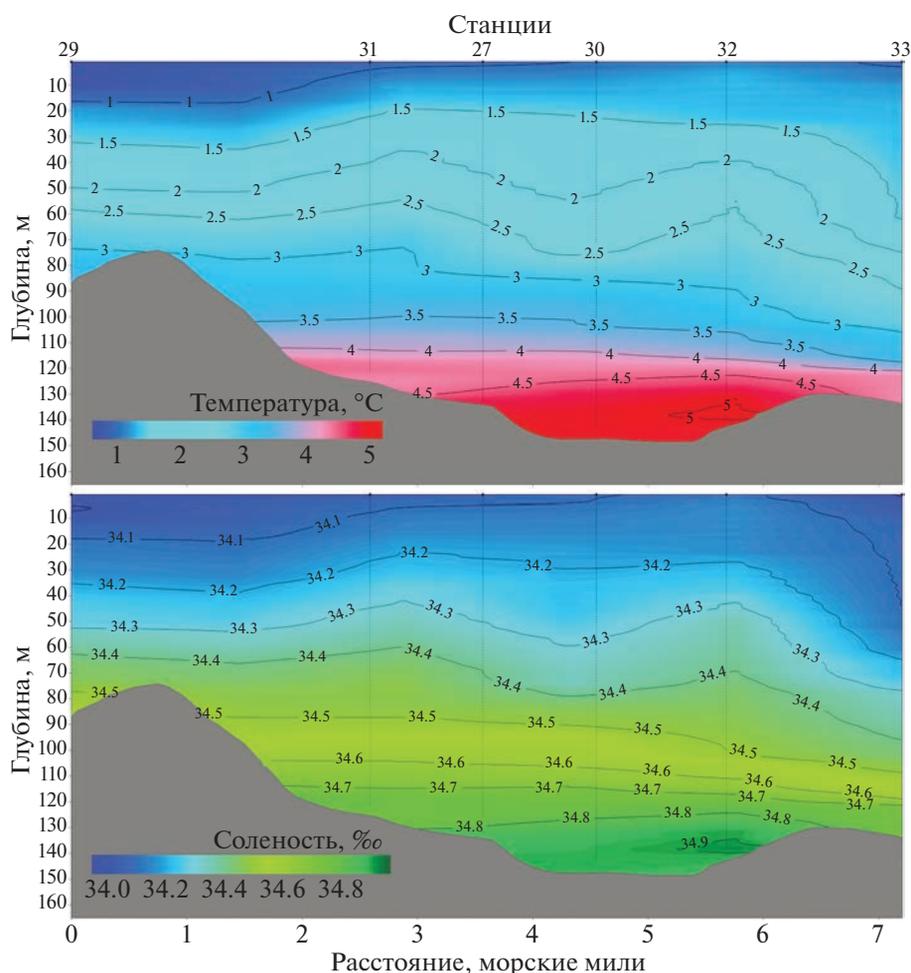


Рис. 2. Температура и солёность воды в Грен-фьорде (Западный Шпицберген) на разных глубинах в ноябре–декабре 2015 г.

фьорда значений (рис. 2). В основной акватории Ис-фьорда (ст. 38–41 и 46–50) теплые водные массы с аналогичными значениями температуры и солёности локализовались в слое 100–200 м (рис. 3). Выше и ниже этого слоя изменения были схожи с таковыми в акватории Грен-фьорда и характеризовались постепенным снижением значений солёности и температуры. Обратную картину распределения показателей солёности и температуры наблюдали в Билле-фьорде (ст. 35–37 и 44, 45). Наличие подводного порога препятствует проникновению атлантических масс, в связи с чем в данной акватории слой от 50 м до дна представлен в основном водами с отрицательными температурами (рис. 3).

Микропланктон

В составе микропланктона отмечены 40 таксонов простейших разного ранга (табл. 2). На уровне отдельных видов доминирование не выражено, представители большинства таксонов отмечены

1–2 раза. Сравнительно регулярно встречались *Dinophysis rotundata* (Dinophyta), *Halosphaera viridis* (Prasinophyta), *Salpingella acuminata*, *Strombidium strobilum* (= *Laboea strobila* Lohmann) и *Stenosemella oliva* aff./*Tintinnopsis ventricosa* aff. (Infusoria). На станциях 32 и 33 зарегистрированы пресноводные формы: *Aulacoseira granulata* (Bacillariophyta) и *Pediastrum duplex* (Chlorophyta) соответственно. На станции 47 отмечен тропическо-бореальный вид *Podolampas palmipes* (Dinophyta).

Микропланктон по акватории распределялся равномерно, средние значения биомассы для слоя от 0 м до дна на разных станциях варьировали в пределах от 0.09 до 0.23 мкг/л, а численности – от 2.2 до 7.5 кл./л. Максимальные количественные показатели отмечены преимущественно в поверхностном 60-метровом слое (рис. 4), за исключением станции 35 в Билле-фьорде, где наибольшее значение биомассы микропланктона зарегистрировано в нижележащем слое.

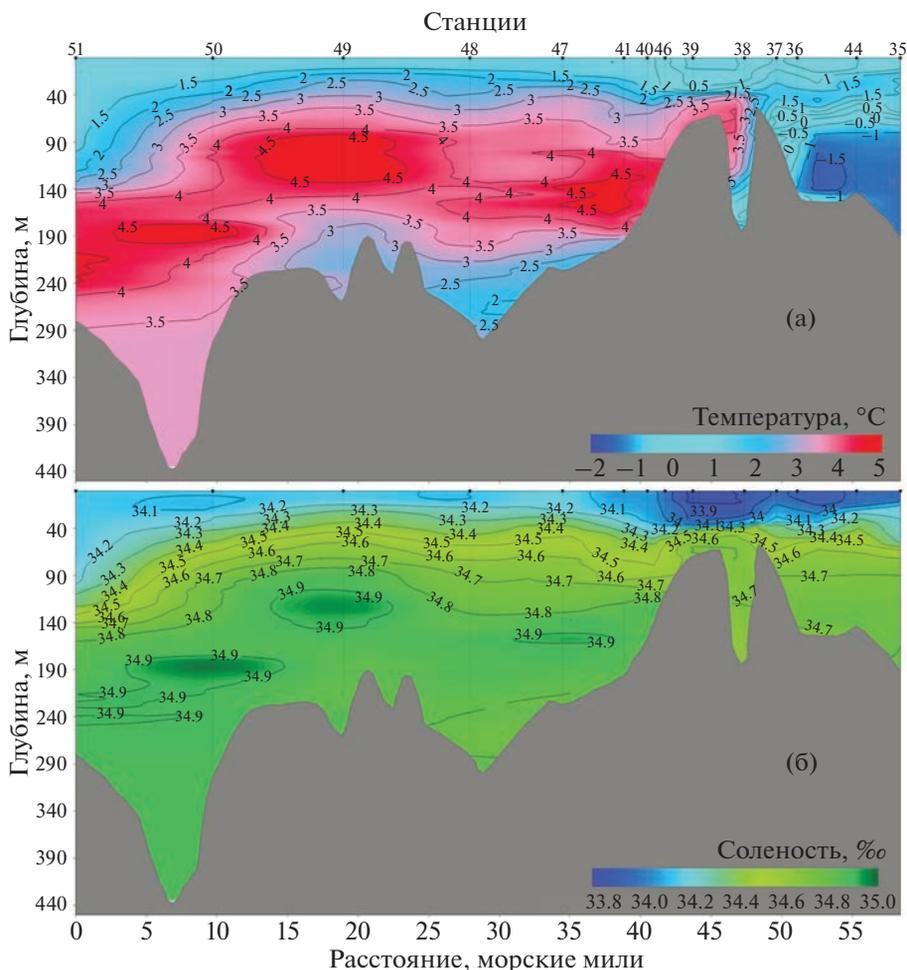


Рис. 3. Температура и соленость воды в Ис-фьорде (ст. 38–41 и 46–51) и Билле-фьорде (ст. 35, 36, 37 и 44) (Западный Шпицберген) на разных глубинах в ноябре–декабре 2015 г. Примечание. Ст. 45 отсутствует, поскольку географически совпадает со ст. 37.

Мезозoopланктон

В исследованный период состав зоопланктона характеризовался достаточно высокой однородностью. В состав формирующего основную часть количественного обилия зоопланктона комплекса видов входили *Oithona similis*, *Microcalanus* sp., *Pseudocalanus* sp. и виды рода *Calanus*. Суммарный вклад этих представителей в общую численность составил более 90%, на долю оставшихся видов приходилось от 3 до 7% в зависимости от места отбора проб (рис. 5). Наибольшие значения численности отмечены у *O. similis*, они варьировали в пределах от 66 до 917 экз./м³. В качестве субдоминанты выступали виды *Calanus* sp. с диапазоном варьирования 20–665 экз./м³, уступая по данному показателю *Pseudocalanus* sp. лишь в акватории Грен-фьорда.

Несмотря на значительное сходство величины относительного вклада доминирующих видов в суммарное обилие сообщества, разные участки

акватории характеризовались значениями, в несколько раз отличающимися друг от друга. Так, средняя численность зоопланктона в Грен-фьорде составляла 345 экз./м³, в основной акватории Ис-фьорда – 677 экз./м³, а в Билле-фьорде – 1767 экз./м³ (табл. 3).

Науплии copepod

В пробах, отобранных с помощью сети Джели, количество науплиев было небольшим и составляло 0.09–1.91 экз./м³ в зависимости от места отбора проб. В пробах со станций 27, 49 и 50 отмечено их полное отсутствие. С учетом этого частота встречаемости науплиев в сетных пробах составила 75%. В то же время в батометрических пробах среднее значение численности науплиев на станциях варьировало от 2.9 до 6.6 экз./л, что при пересчете в сопоставимые с сетными ловами единицы измерения составляет 2900–6600 экз./м³. Нуле-

Таблица 2. Видовой состав микропланктона

Bacillariophyta	Dinophyta
<i>Aulacoseira granulata</i> Simonsen, 1979	<i>Amphidinium sphenoides</i> Wulff, 1916
<i>Chaetoceros borealis</i> Bailey, 1854	<i>Ceratium arcticum</i> Cleve, 1901
<i>Chaetoceros furcillatus</i> Bailey, 1856 (споры)	<i>Dinophysis contracta</i> Balech, 1973
<i>Corethron criophilum</i> Castracane, 1886	<i>Dinophysis norvegica</i> Claparède et Lachmann, 1859
<i>Nitzschia longissima</i> Ralfs, 1861/ <i>Cylindrotheca closterium</i> Reiman et Lewin, 1964	<i>Dinophysis rotundata</i> Claparède et Lachmann, 1859
<i>Odontella aurita</i> Agardh, 1832	<i>Gyrodinium lachryma</i> Kofoid et Swezy, 1921/ <i>G. fusiforme</i> Koifoid et Swezy, 1921
<i>Paraliasulcata</i> Cleve, 1873	<i>Lessardialongata</i> Saldarriaga et F.J.R. Taylor, 2003
<i>Pleurosigma angulatum</i> Smith, 1852	<i>Micracanthodinium claytonii</i> Dodge, 1982
Infusoria	<i>Podolampas palmipes</i> Stein, 1883
<i>Acanthostomella norvegica</i> (Daday, 1887)	<i>Pronoctiluca pelagica</i> Fabre-Domerque, 1889
<i>Ormosella</i> aff. <i>cornucopia</i> (Brandt, 1906)	<i>Proocentrum balticum</i> Loeblich III, 1970
<i>Parafavella denticulata</i> (Ehrenberg, 1840) (цисты)	<i>Proto-peridinium brevipes</i> Balech, 1974
<i>Parundella caudata</i> (Ostenfeld, 1899)	<i>Proto-peridinium depressum</i> Balech, 1974
<i>Ptychocylis obtusa</i> Brandt, 1906	<i>Proto-peridinium pallidum</i> Balech, 1973
<i>Salpingella acuminata</i> (Claparède et Lachmann, 1858)	<i>Proto-peridinium pellucidum</i> Bergh, 1881
<i>Salpingella</i> aff. <i>rotundata</i> Kofoid et Campbell, 1929	<i>Proto-peridinium pyriforme</i> Balech, 1974
<i>Stenosemella oliva</i> (Meunier, 1910)/ <i>Tintinnopsis ventricosa</i> (Claparède et Lachmann, 1858)	Haptophyta
<i>Strombidium</i> aff. <i>conicum</i> (Lohmann, 1908)	<i>Coccolithus pelagicus</i> Schiller, 1930
<i>Strombidium strobilum</i> (Lohmann, 1908)	Chlorophyta
<i>Tintinnopsis fimbriata</i> Meunier, 1919	<i>Pediastrum duplex</i> Meyen, 1829
Radiolaria	Prasinophyta
<i>Sticholonche zanclea</i> Hertwig, 1877	<i>Halosphaera viridis</i> Schmitz 1878
Incertae sedis: <i>Solenicola setigera</i> Pavillard, 1916 + <i>Leptocylindrus mediterraneus</i> Hasle, 1975	

вые значения отмечены в шести пробах, соответственно, частота встречаемости составила 83%. Размер науплиев в подавляющем большинстве был менее 200 мкм. Более крупные формы отмечены лишь в пяти пробах из 36 отобранных.

В вертикальном измерении науплии, как и остальные представители микропланктонной фракции, локализовались в основном в поверхностном слое 0–50 м, и только в Билле-фьорде численность науплиев в поверхностном слое была несколько меньше, чем в слое 50–100 м (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные по составу и количественным характеристикам мезозоопланктона, основанные на ловах с помощью планктонных сетей, достаточно точно соответствуют ставшим классическими закономерностям сезонных изменений в пелагиали, описанным ранее (Raymont, 1983). Низкие значения общей численности,

практически полное отсутствие организмов, находящихся на науплиальной и ранних копепоидных стадиях развития, а также преобладание зимующих стадий в популяциях главных видов-фитофагов (табл. 3), таких как представители рода *Calanus*, свидетельствуют о типично зимнем состоянии зоопланктонного сообщества. К этому можно добавить и минимальные показатели биомассы микропланктона, отмеченные на всех станциях и характерные для многих арктических акваторий именно в этот период года (Дружкова, 2011; Makarevich et al., 2012).

Также можно отметить отсутствие выраженной взаимосвязи между количественными показателями микропланктона и термохалинными характеристиками. Так, в акваториях Ис-фьорда и Грен-фьорда максимальные значения биомассы микропланктона регистрировали в поверхностном 50-метровом слое, где значения температуры и солености варьировали от 0.8 до 3°C и от 34 до 34.5‰ соответственно. В Билле-фьорде показа-

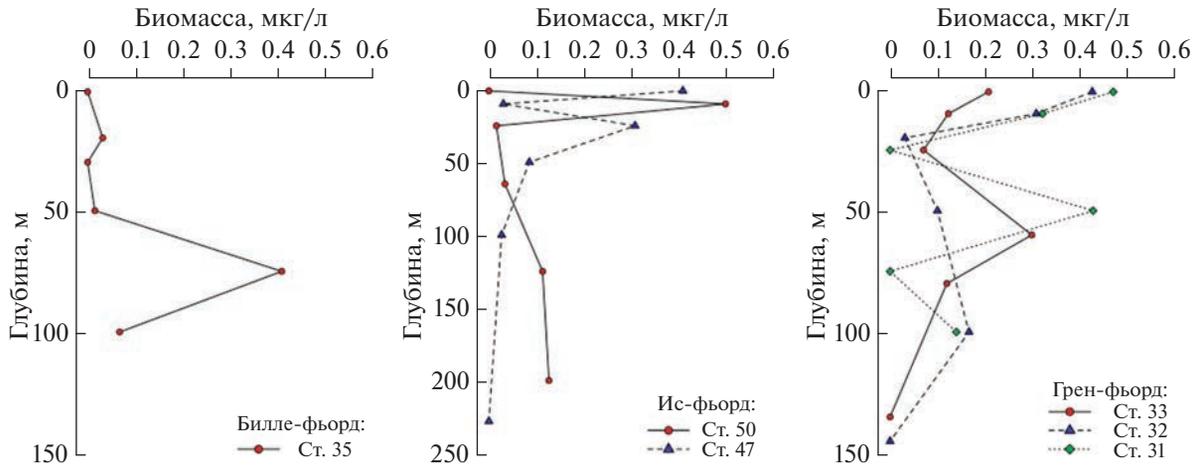


Рис. 4. Вертикальное распределение микропланктона (батометрические ловы) во фьордах о-ва Западный Шпицберген в зимнее время.

тели наибольшего обилия приурочены к горизонту 75 м. Здесь значения температуры были отрицательными (-0.6°C), а соленость составляла 34.6‰. Численность науплиев копепод в батометрических ловах также не зависела от температуры и солености.

Методические различия не позволяют провести сравнение с данными по другим фьордам Шпицбергена в полном объеме. Но пересчет, произведенный в соответствии с методикой Кушинга с соавторами (Cushing et al., 1958), показал, что биомасса протистов в Ис-фьорде (в среднем 1.5 мг С/м^2) имеет сопоставимые значения с показателями в Рип-фьорде (2 мг С/м^2) (Włachowiak-Samołuk et al., 2015), поскольку основная роль в формировании биомассы принадлежит крупным формам. Сопоставимым был и вклад доминирующей группы (динофлагелляты) в общую биомассу, в Рип-фьорде он составил 50%, а в Ис-фьорде – в среднем 40%. Однако из-за преобладания мелких форм, которые не учитывались в нашем исследовании, общая численность в Рип-фьорде была значительно выше и составила $16.7 \times 10^6 \text{ кл./м}^2$ против $0.25\text{--}0.75 \times 10^6 \text{ кл./м}^2$ в Ис-фьорде.

Трофическая структура сообщества протистов характеризовалась доминированием гетеротрофной/миксотрофной группы, что типично для зимнего сукцессионного цикла (Макаревич, Дружкова, 2010). Гетеротрофы были представлены 18 видами, миксотрофы – 4 и автотрофы – 11. Трофический статус не определен для 7 видов, в том числе для 2-х, представленных только спорами, и 2-х пресноводных.

Дополнительный материал, основанный на анализе количества науплиев копепод в батометрических пробах, свидетельствует о значительно более высокой интенсивности протекания био-

логических процессов, чем это представлялось ранее. Так, в акватории Ис-фьорда средняя численность науплиев в водной толще, в зависимости от места отбора проб, варьировала в пределах от 2.9 до 6.6 экз./л, что при пересчете в экз./м³ соответствует значениям, в разы превышающим суммарную численность всего мезозоопланктона. Наши результаты хорошо соотносятся с данными, полученными в предыдущие годы в акватории Конгс-фьорда (Grenvald et al., 2016), где пробы отбирали планктонными сетями с размером ячеек 50, 64 и 200 мкм. Сходство отмечается как в количественных, так и в качественных показателях. Обилие науплиев размером менее 200 мкм, предположительно принадлежащих видам *O. similis* и *Microcalanus* sp., в сетях с ячейкой 50 и 64 мкм в значительной степени превышало общую численность зоопланктона, пойманного сетью WP2 с ячейкой 200 мкм, а в состав доминирующего комплекса в Конгс-фьорде, как и в Ис-фьорде, входили *O. similis*, *Microcalanus* sp., *Pseudocalanus* sp.,

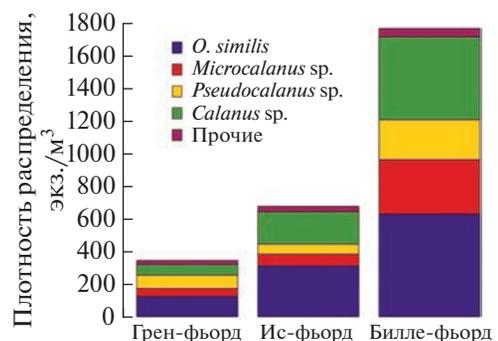


Рис. 5. Относительное обилие видов мезозоопланктона во фьордах о-ва Западный Шпицберген в зимнее время.

Таблица 3. Плотность распределения видов мезозоопланктона (экз./м³)

Таксон	Ис-фьорд	Грен-фьорд	Билле-фьорд
Copepoda np.	0.05 ± 0.06	1.17 ± 0.65	0.92 ± 0.96
<i>Oithona similis</i>	312.37 ± 82.28	124.05 ± 54.87	630.58 ± 376.26
<i>O. atlantica</i>	16.06 ± 4.48	9.98 ± 7.33	9.86 ± 5.28
<i>Microcalanus</i> sp.	73.03 ± 14.87	49.08 ± 15.21	331.41 ± 173.56
<i>Pseudocalanus</i> sp.	61.49 ± 14.08	82.90 ± 43.83	245.83 ± 55.07
<i>Calanus</i> sp. III	5.35 ± 4.26	1.47 ± 0.67	8.36 ± 4.81
<i>Calanus</i> sp. IV	98.14 ± 24.94	34.08 ± 13.72	360.93 ± 141.56
<i>Calanus</i> sp. V	92.19 ± 10.98	27.06 ± 12.10	135.13 ± 53.03
<i>Calanus</i> sp. VI F	2.20 ± 0.47	1.39 ± 0.77	4.27 ± 3.76
<i>Metridia longa</i> I	0.03 ± 0.06	0.19 ± 0.19	0
<i>Metridia longa</i> II	0.13 ± 0.10	0.28 ± 0.14	0.13 ± 0.22
<i>Metridia longa</i> III	0.35 ± 0.26	0.68 ± 0.31	0
<i>Metridia longa</i> IV	1.05 ± 0.85	1.35 ± 0.89	1.15 ± 1.37
<i>Metridia longa</i> V	2.87 ± 1.04	1.28 ± 0.53	3.40 ± 2.34
<i>Metridia longa</i> VI F	0.98 ± 0.64	0.39 ± 0.26	1.32 ± 0.89
<i>Metridia longa</i> VI M	1.82 ± 1.19	0.55 ± 0.53	1.15 ± 1.37
<i>Acartia</i> sp.	0.52 ± 0.43	0.51 ± 0.4	5.82 ± 8.76
<i>Chiridius obtusifrons</i>	0.05 ± 0.09	0	0
<i>Gaetanus tenuispinus</i>	0	0.01 ± 0.03	0
<i>Metridia lucens</i>	0.15 ± 0.11	0.23 ± 0.26	0
<i>Pareuchaeta</i> sp.	0.01 ± 0.02	0.09 ± 0.17	0
<i>Triconia borealis</i>	2.27 ± 1.82	0.58 ± 0.4	6.04 ± 3.34
<i>Microsetella norvegica</i>	0	0.08 ± 0.11	0
Harpacticoida sp.	0	0.04 ± 0.09	0
Euphausiacea np.	0	0	0.22 ± 0.31
Euphausiacea	1.41 ± 0.89	1.07 ± 0.75	1.72 ± 0.2
Amphipoda	0.09 ± 0.16	0.06 ± 0.04	0.02 ± 0.03
<i>Fritillaria borealis</i>	0.43 ± 0.5	2.31 ± 0.92	0.30 ± 0.27
<i>Oikopleura</i> sp.	0.20 ± 0.07	1.36 ± 0.35	0.45 ± 0.41
<i>Limacina helicina</i> larvae	2.34 ± 1.25	0.55 ± 0.37	8.89 ± 6.98
<i>L. retroversa</i> larvae	0.43 ± 0.27	0.58 ± 0.41	4.57 ± 7.91
<i>Parasagitta elegans</i>	0.97 ± 0.45	1.03 ± 0.29	1.25 ± 0.59
<i>Ekrohnia hamata</i>	0.11 ± 0.13	0	0
<i>Dimophyes arctica</i>	0	0.01 ± 0.03	0
<i>Aglantha digitale</i>	0.01 ± 0.02	0.03 ± 0.04	0
Hydrozoa sp.	0	0	0.16 ± 0.2
Ctenophora sp.	0.04 ± 0.03	0.19 ± 0.43	0.45 ± 0.71
Polychaeta larvae	0.11 ± 0.09	0.17 ± 0.18	0.13 ± 0.13
Bivalvia larvae	0.05 ± 0.09	0.32 ± 0.35	0
Bryozoa larvae	0.09 ± 0.19	0.12 ± 0.14	0.34 ± 0.39
Echinodermata larvae	0	0	0.09 ± 0.15
Unident. Copepoda	0.13 ± 0.2	0	2.99 ± 2.18
Всего:	677.5 ± 101.1	345.2 ± 87.45	1767.9 ± 180.7

Примечание. Римскими цифрами обозначены стадии развития копепод.

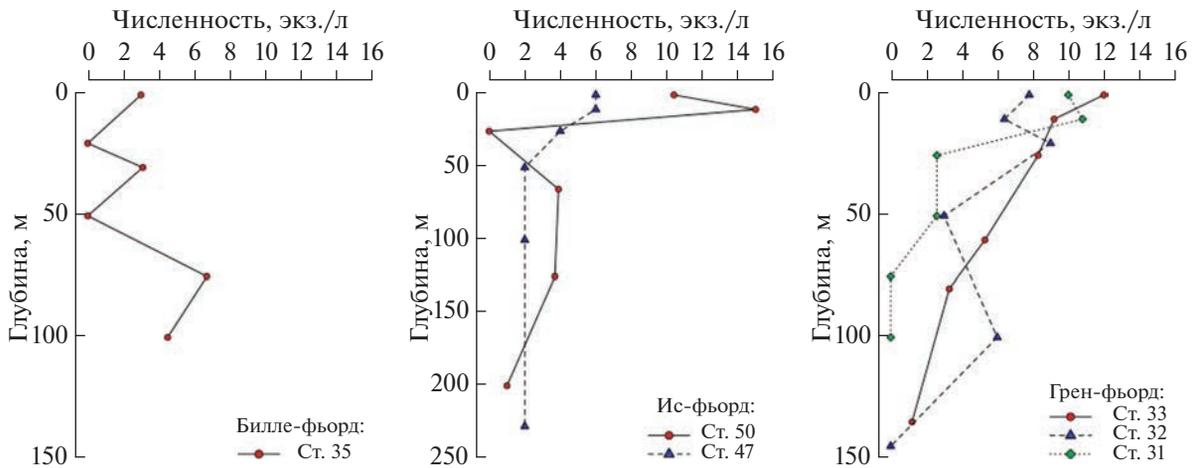


Рис. 6. Вертикальное распределение науплиев (батометрические ловы) во фьордах о-ва Западный Шпицберген в зимнее время.

Calanus sp. и *Metridia longa*. Более того, в обеих локациях большинство организмов концентрировалось в верхнем слое 0–50 м.

Как прямые (Lischka, Hagen, 2005; Darnis et al., 2012; Hobbs et al., 2020), так и косвенные (Arashkevich et al., 2002; Hirche, Kosobokova, 2011) свидетельства о повышенной биологической активности зоопланктона в зимнее время, основанные на имеющихся данных, позволяют очертить приблизительные временные границы периода активной репродукции мелких копепод во фьордах Шпицбергена. В акватории Конгс-фьорда в ноябре 1998–1999 гг. (Lischka, Hagen, 2005) в пробах, отобранных с помощью планктонной сети с ячейкой 100 мкм, количество науплиев мелких копепод исчислялось десятками экземпляров в кубическом метре, что превышало этот показатель для некоторых весенних и летних месяцев. В литературе присутствуют противоположные мнения относительно уловистости данного типа сетей по отношению к организмам менее 200 мкм. Результаты одних исследований (Nichols, Thompson, 1991) свидетельствуют в пользу достаточности данного размера ячеек, в то время как другие (Makabe et al., 2012) указывают на недолов этой размерной группы в несколько раз по сравнению с сетью с ячейкой 60 мкм. Если верно второе, то можно предположить, что реальное значение количества науплиев соответствовало сотням экз./м³. Максимальное обилие рассматриваемой группы организмов отмечено в декабре в Ис-фьорде (наши данные) и в январе в Конгс-фьорде (Grenvald et al., 2016), оно составляло тысячи экз./м³. Уже в марте в Конгс-фьорде численность науплиев была более чем в 2 раза ниже, чем в ноябре (Lischka, Hagen, 2005), а в Грен-фьорде в конце марта – начале апреля их средняя численность в батометрических пробах составляла 571 экз./м³ (Берченко,

Олейник, 2016). Однако в этот период науплии были отмечены лишь в 25% проб, что свидетельствует о случайном характере обнаружения и значительной переоценке их численности при подсчете. В то же время, как отмечалось выше, в декабре частота встречаемости науплиев в пробах достигала 83%, они присутствовали в 30 пробах из 36, что говорит о закономерности данного феномена в акватории Ис-фьорда в этот период и репрезентативности полученных количественных характеристик.

Наши данные хорошо соотносятся и являются логичным продолжением той картины состояния сообщества микропланктона, которая отмечалась в осенний сезон в проливе Фрама (Svensen et al., 2011), полученной с использованием аналогичных методов исследования. Несмотря на сравнительно высокую численность, общее количество науплиев в наших сборах все же меньше, чем таковое в сентябре в прол. Фрама, что может свидетельствовать о постепенном снижении репродуктивных процессов в направлении осень–зима.

Исходя из вышесказанного, логично заключить, что наравне с естественными причинами высокий уровень репродуктивной активности представителей мелких копепод в зимний период, о котором свидетельствует обнаружение большого количества науплиев, может иметь и методическое объяснение, связанное с использованием разных способов отбора проб и увеличением числа исследований. Следовательно, определение единой методологической базы является приоритетной задачей для успеха дальнейших исследований процессов, протекающих в арктических экосистемах в зимний период.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Берченко И.В., Олейник А.А. К вопросу о продуктивности зоопланктонного сообщества Грен-фьорда (Ис-фьорд, Шпицберген) в зимний период // Комплексные исследования природы Шпицбергена и прилегающего шельфа. Выпуск 13. Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием (Мурманск, 2–4 ноября 2016 г.). Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН. 2016. С. 51–56.
- Дружкова Е.И. Биопродуктивность и фитопланктонные сообщества Баренцева, Белого и Карского морей // Комплексные исследования больших морских экосистем России. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. 2011. С. 116–154.
- Кольцова Т.И. Определение объема и поверхности клеток фитопланктона // Биол. науки. 1970. № 6. С. 114–120.
- Макаревич П.Р., Дружков Н.В. Методические рекомендации по анализу количественных и функциональных характеристик морских биоценозов северных морей. Ч. I. Фитопланктон. Зоопланктон. Взвешенное органическое вещество. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. 1989. 50 с.
- Макаревич П.Р., Дружкова Е.И. Сезонные циклические процессы в прибрежных планктонных альгоценозах северных морей. Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН. 2010. 280 с.
- Мещеряков Н.И. Особенности седиментогенеза в заливе Грен-фьорд (Западный Шпицберген) // Вестник Мурманского государственного технического университета. 2017. Т. 20. № 1–2. С. 272–279.
- Arashkevich E., Wassmann P., Pasternak A., Riser C.W. Seasonal and spatial changes in biomass, structure, and development progress of the zooplankton community in the Barents Sea // J. Mar. Syst. 2002. V. 38. № 1–2. P. 125–145.
- Arnkjær G., Daase M., Eiane K. Dynamics of coexisting *Calanus finmarchicus*, *Calanus glacialis* and *Calanus hyperboreus* populations in a high-Arctic fjord // Polar Biol. 2005. V. 28. № 7. P. 528–538.
- Bathmann U.V., Noji T.T., Von Bodungen B. Copepod grazing potential in late winter in the Norwegian Sea – A factor in the control of spring phytoplankton growth? // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1990. P. 225–233.
- Berge J., Daase M., Renaud P.E. et al. Unexpected levels of biological activity during the polar night offer new perspectives on a warming Arctic // Curr. Biol. 2015. V. 25. № 19. P. 2555–2561.
- Blachowiak-Samołyk K., Wiktor J.M., Hegseth E.N. et al. Winter Tales: the dark side of planktonic life // Polar Biol. 2015. V. 38. № 1. P. 23–36.
- Cushing D.H., Humphrey G.F., Banse K., Laevastu T. Report of the committee on terms and equivalents // Rapp. P.-V. Réun. Commn. Int. Explor. Scient. Mer Méditerran. 1958. V. 144. P. 15–16.
- Daase M., Varpe Ø., Falk-Petersen S. Non-consumptive mortality in copepods: occurrence of *Calanus* spp. carcasses in the Arctic Ocean during winter // J. Plankton Res. 2014. V. 36. № 1. P. 129–144.
- Darnis G., Robert D., Pomerleau C. et al. Current state and trends in Canadian Arctic marine ecosystems: II. Heterotrophic food web, pelagic-benthic coupling, and biodiversity // Climatic Change. 2012. V. 115. № 1. P. 179–205.
- Eilertsen H.C., Degerlund M. Phytoplankton and light during the northern high-latitude winter // J. Plankton Res. 2010. V. 32. № 6. P. 899–912.
- Grenvald J.C., Callesen T.A., Daase M. et al. Plankton community composition and vertical migration during polar night in Kongsfjorden // Polar Biol. 2016. V. 39. № 10. P. 1879–1895.
- Hillebrand H., Dürselen C.D., Kirschtel D. et al. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae // J. Phycology. 1999. V. 35. № 2. P. 403–424.
- Hirche H.J., Kosobokova K.N. Winter studies on zooplankton in Arctic seas: the Storfjord (Svalbard) and adjacent ice-covered Barents Sea // Mar. Biol. 2011. V. 158. № 10. P. 2359–2376.
- Hobbs L., Banas N.S., Cottier F.R. et al. Eat or sleep: availability of winter prey explains mid-winter and spring activity in an Arctic *Calanus* population // Front. Mar. Sci. 2020. V. 7. art. ID 541564.
- Lee R.F., Hagen W., Kattner G. Lipid storage in marine zooplankton // Mar. Ecol.: Prog. Ser. 2006. V. 307. P. 273–306.
- Lischka S., Hagen W. Life histories of the copepods *Pseudocalanus minutus*, *P. acuspes* (Calanoida) and *Oithona similis* (Cyclopoida) in the Arctic Kongsfjorden (Svalbard) // Polar Biol. 2005. V. 28. № 12. P. 910–921.
- Makabe R., Tanimura A., Fukuchi M. Comparison of mesh size effects on mesozooplankton collection efficiency in the Southern Ocean // J. Plankton Res. 2012. V. 34. № 5. P. 432–436.
- Makarevich P., Druzhkova E., Larionov V. Primary producers of the Barents Sea // Diversity of Ecosystems. 2012. <http://www.intechopen.com/books/diversity-of-ecosystems/primary-producers-of-the-barents-sea>. Cited March 14, 2023.
- Morata N., Søreide J.E. Effect of light and food on the metabolism of the Arctic copepod *Calanus glacialis* // Polar Biol. 2015. V. 38. № 1. P. 67–73.
- Morata N., Michaud E., Włodarska-Kowalczyk M. Impact of early food input on the Arctic benthos activities during the polar night // Polar Biol. 2015. V. 38. № 1. P. 99–114.

- Nichols J.H., Thompson A.B.* Mesh selection of copepodite and nauplius stages of four calanoid copepod species // *J. Plankton Res.* 1991. V. 13. № 3. P. 661–671.
- Nilsen F., Cottier F., Skogseth R., Mattson S.* Fjord–shelf exchanges controlled by ice and brine production: the interannual variation of Atlantic Water in Isfjorden, Svalbard // *Cont. Shelf Res.* 2008. V. 28. № 14. P. 1838–1853.
- Pedersen G., Tande K., Ottesen G.O.* Why does a component of *Calanus finmarchicus* stay in the surface waters during the overwintering period in high latitudes? // *ICES J. Mar. Sci.* 1995. V. 52. № 3–4. P. 523–531.
- Olenina I., Hajdu S., Edler L. et al.* Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea // *HELCOM Balt. Sea Environ. Proc.* 2006. № 106. P. 144.
- Raymont J.E.* Plankton and Productivity in the Oceans: V. 2: Zooplankton. Oxford: Pergamon press. 1983.
- Svensen C., Seuthe L., Vasilyeva Y. et al.* Zooplankton distribution across Fram Strait in autumn: are small copepods and protozooplankton important? // *Prog. Oceanogr.* 2011. V. 91. № 4. P. 534–544.

The Structure of the Zooplankton Community in Spitsbergen Waters during the Winter Period

I. V. Berchenko^a and A. A. Oleinik^a

^a*Murmansk Marine Biological Institute, Russian Academy of Sciences, Murmansk 183010, Russia*

The plankton community was collected during the winter season from the Isfjord aquatic area, on the western coast of Spitsbergen Island, during the interval November 30 to December 6, 2015. Sampling was carried out with a plankton net and bathometric catches on board of the research vessel *Dalnie Zelentsy*. The assemblages of micro- and mesoplankton from several aquatic areas of the central part of Isfjord have been studied qualitatively and quantitatively. These areas contain waters with different hydrological structures. We noted that the number of nauplii of small copepods in samples varied significantly depending on sampling method. The main emphasis of this research is placed on the methodology of plankton study in the Arctic waters during winter seasons.

Keywords: Spitsbergen Island, zooplankton, microplankton, winter season

УДК 577.118:543.421:594.3(265.53)

СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ СЕМЕЙСТВА VUCCINIDAE (GASTROPODA) У БЕРЕГОВ ЮГО-ВОСТОЧНОГО САХАЛИНА (ОХОТСКОЕ МОРЕ)

© 2023 г. Ю. Н. Полтев¹, *, Т. Г. Коренева¹, В. Е. Марыжихин¹

¹Сахалинский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (СахНИРО), Южно-Сахалинск 693023, Россия

*e-mail: y.poltev@sakhniro.ru

Поступила в редакцию 14.07.22 г.

После доработки 19.12.2022 г.

Принята к публикации 26.01.2023 г.

Проведена оценка содержания Pb, Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe и As в мускуле, мантии и пищеварительной железе брюхоногих моллюсков *Neptunea excelsior*, *N. behringiana*, *N. multistriata* и *N. varicifera*, а также *Vuccinum verkruezeni*, обитающих у берегов юго-восточного Сахалина. У представителей родов *Neptunea* и *Vuccinum* отмечены различия по диапазонам варьирования и рядам последовательности значений концентраций микроэлементов в мускуле. Превышение гигиенического норматива по содержанию As в гепатопанкреасе выявлено у всех исследованных моллюсков, а в мускуле — у всех, кроме *N. behringiana*. Предельно допустимый уровень концентрации Cd превышен в гепатопанкреасе *N. multistriata*.

Ключевые слова: микроэлементы, атомная абсорбция, брюхоногие моллюски, Vuccinidae, Охотское море

DOI: 10.31857/S0134347523030105, **EDN:** SBMYWU

Моллюски семейства Vuccinidae (трубачи) — одни из наиболее массовых представителей морских беспозвоночных животных Gastropoda, широко распространенные в умеренных и тропических водах, главным образом Северного полушария (Кантор, Сысоев, 2006). С учетом подсемейства Beringiinae, которое иногда выделяют в отдельное семейство, в морях Дальнего Востока России обитают более 220 видов трубачей (Golikov et al., 2001). Около 120 из них встречаются в водах Сахалина и Курильских о-вов (Клитин, Смирнов, 2021). Наряду с головоногими и двустворчатыми, брюхоногие моллюски относятся к объектам промысла. Планируемый ежегодный ловушечный вылов этих гидробионтов у берегов Сахалина составляет 1800 т, из которых 1500 т предполагается выловить у восточного побережья острова (Клитин, Смирнов, 2021). У крупных видов брюхоногих моллюсков в качестве морепродукта используются нога и мантия, у мелких — все мягкие ткани.

Способность гастропод аккумулировать микроэлементы из водной среды приводит к изменению их микроэлементного состава и ухудшению качества морепродукта, что в конечном итоге может повлиять на здоровье человека и продолжительность его жизни. Для определения безопасно-

сти пищевых продуктов, получаемых из гидробионтов, очень важна количественная оценка содержания элементов, в том числе нормируемых, в органах и тканях промысловых беспозвоночных. Информация о микроэлементном составе брюхоногих моллюсков в дальневосточных морях России ограничивается сведениями по элементному составу мягких тканей *Lottia pelta* (Rathke, 1833) (= *Collisella cassis*), обитающей в литорали и самой верхней sublиторали южных Курильских о-вов (Христофорова, Малиновская, 2000) и Японского моря (Христофорова, 1981), а также некоторых глубоководных представителей Vuccinidae из впадины Дерюгина (1431–1448 м) и охотоморских вод у о-ва Парамушир (778 м) (Kosyan, Gulbin, 2016).

Недостаточная освещенность данного вопроса послужила основой для постановки цели настоящего исследования — выявить содержание и особенности накопления микроэлементов, в том числе токсичных, в органах и тканях брюхоногих моллюсков из морских вод юго-восточного Сахалина для оценки микроэлементного состава и качества этих промысловых гидробионтов.

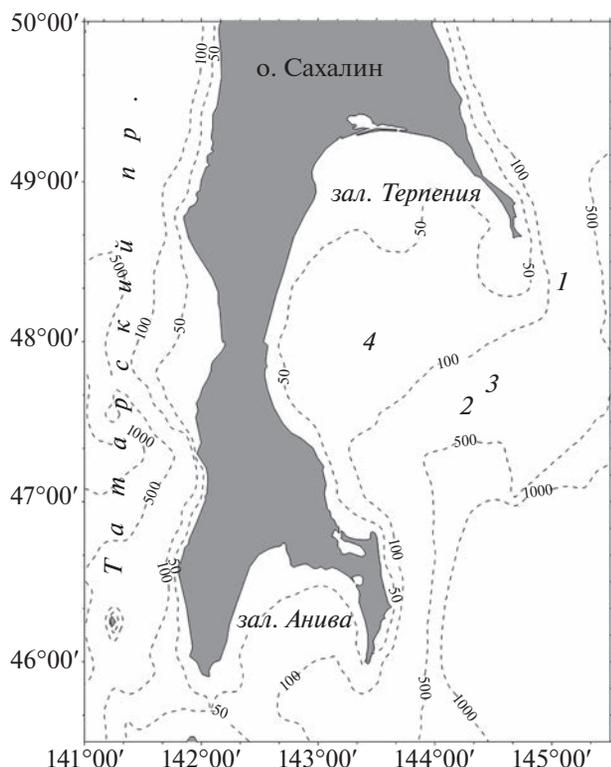


Рис. 1. Места отбора брюхоногих моллюсков семейства Vuccinidae: 1 – *Neptunea excelsior* и *N. behringiana*; 2 – *N. varicifera*; 3 – *Buccinum verkruzezi*; 4 – *N. multistriata*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для анализа служили образцы мускула (ноги), мантии и гепатопанкреаса брюхоногих моллюсков семейства Vuccinidae, добытых с помощью донного трала в ходе научно-исследовательских работ на НИС “Дмитрий Песков” в июне 2020 г. В координатах 48°21' с.ш., 145°06' в.д. с глубины 140 м отловлены *Neptunea excelsior* Fraussen et Terryn, 2017 и *N. behringiana* (Middendorff, 1849); *N. multistriata* (Aurivillius, 1885) – с глубины 61 м (47°59' с.ш., 143°28' в.д.); *N. varicifera* (Dall, 1907) (47°36' с.ш., 144°19' в.д.) и *Buccinum verkruzezi* Kobelt, 1882 (47°44'4 с.ш., 144°31'4 в.д.) – с глубины

161 м (рис. 1). Для получения образцов тканей использовали по 1 экз. каждого вида моллюсков. Высота раковины выловленных особей изменялась от 61 до 134 мм, диаметр устья – от 37 до 76 мм, масса животного с раковиной – от 25 до 196 г (табл. 1).

Керамическим ножом от тела брюхоногих моллюсков отделяли мускул, мантию и гепатопанкреас. Полученные пробы хранили в морозильной камере при температуре –20°C, перед анализом размораживали, гомогенизировали и отбирали навеску массой 1 г с точностью до 0.01 г.

Навески помещали в тефлоновые сосуды, приливали по 5 см³ азотной кислоты особой чистоты (ОСЧ), затем проводили минерализацию в лабораторной микроволновой системе MARS 6 (Сем Согр., USA) при максимальных значениях температуры 300°C, давлении 800 psi. Минерализаты количественно переносили в градуированные пробирки объемом 10 см³, доводили до метки дистиллированной водой и анализировали (Методика..., 2009). Анализ навесок выполняли в двух повторностях. Для контроля чистоты кислоты для каждой партии проб (5 шт.) проводили минерализацию холостой пробы.

Концентрации Pb, Cd, Cu, Cr, Mn, Ni и As определяли атомно-абсорбционным методом в режиме электротермической атомизации (GFAA) на спектрофотометре AA-6800 (Shimadzu, Япония) с графитовой печью и коррекцией фона на основе эффекта Зеемана. Концентрацию Fe измеряли этим же методом, но в пламенном режиме с дейтериевой коррекцией фона (FLAA). Точность измерений составила 20% для Fe, 25% – для Pb и Cu, 26% – для Cd, 32% – для As и Mn, 34% – для Cr и 36% – для Ni (Методика ..., 2009). Для градуировки спектрофотометра и контроля точности результатов измерений применяли стандартные образцы утвержденного типа – ГСО 7330-96 состава раствора ионов металлов (Fe, Cd, Mn, Cu, Ni и Pb), ГСО 7264-96 состава раствора ионов As (III), ГСО 7781-2000 состава раствора ионов Cr (VI).

Таблица 1. Некоторые биологические параметры исследованных брюхоногих моллюсков семейства Vuccinidae

Вид	Пол	Высота раковины, мм	Диаметр устья раковины, мм	Масса*, г
<i>Neptunea excelsior</i>	Самец	110	68	140
<i>N. behringiana</i>	Самец	102	61	115
<i>N. multistriata</i>	Самец	61	37	25
<i>N. varicifera</i>	Самец	134	76	196
<i>Buccinum verkruzezi</i>	Самка	104	59	94

Примечание. * Масса моллюска с раковиной.

Таблица 2. Концентрации микроэлементов в тканях брюхоногих моллюсков семейства Buccinidae из вод юго-восточного Сахалина

Ткань/орган	Микроэлемент, мг/кг сырой массы							
	Fe	As	Cu	Mn	Cr	Ni	Pb	Cd
<i>Neptunea excelsior</i>								
Мускул	22	5.3	4.0	1.5	0.90	0.26	0.17	0.04
Гепатопанкреас	192	20.5	7.3	3.9	0.92	2.64	0.26	0.61
Мантия	35	10.7	4.9	1.4	0.56	0.24	0.07	0.32
<i>N. behringiana</i>								
Мускул	38	3.8	11.5	1.5	0.54	0.37	0.06	0.01
Гепатопанкреас	197	6.7	5.8	6.5	0.71	1.82	0.28	0.58
Мантия	44	7.7	16.5	2.8	0.60	0.77	0.08	0.39
<i>N. varicifera</i>								
Мускул	145	90.1	6.2	3.0	0.58	0.29	0.09	0.03
Гепатопанкреас	216	92.1	39.7	15.0	0.68	0.85	0.58	0.43
Мантия	93	15.2	8.3	3.2	0.80	0.20	0.07	0.04
<i>N. multistriata</i>								
Мускул	108	11.0	9.3	3.8	0.43	0.30	0.08	0.05
Гепатопанкреас	213	6.5	13.2	2.9	0.32	1.29	0.48	3.60
<i>Buccinum verkruezeni</i>								
Мускул	60	28.8	5.2	1.1	0.74	0.31	0.08	0.21
Гепатопанкреас	134	27.8	42.8	0.5	0.15	0.46	0.15	0.24
Соотношение max и min значений концентраций микроэлементов в тканях								
Мускул	6.6	23.7	2.9	3.5	2.1	1.4	2.8	21.0
Гепатопанкреас	1.6	14.2	7.4	30.0	6.1	5.7	3.9	15.0
Мантия	2.7	2.0	3.4	2.3	1.4	3.9	1.1	8.0

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты свидетельствуют о широком диапазоне концентраций и разных уровнях аккумуляции микроэлементов органами и тканями брюхоногих моллюсков. Наибольшее различие между максимальным и минимальным содержанием в органах и тканях нептуней характерно для Cd. У *Neptunea varicifera* эти показатели различаются в 14.3 раза, а у *N. multistriata* – до 72 раз. Содержание Cr характеризуется наибольшим постоянством, различия между его максимумом и минимумом составляют от 1.3 раза у *N. multistriata* и *N. behringiana* до 1.6 раза у *N. excelsior* (табл. 2). У *Buccinum verkruezeni* максимальное различие накопления (8.2 раза) характерно для Cu, минимальное – для As, содержание которого в тканях этого моллюска оставалось практически на одном уровне.

В мускуле всех исследованных особей максимальное различие предельных значений концентрации элемента отмечено для As (23.7 раза), минимальное – для Ni (1.4 раза). В гепатопанкреасе разных видов гастропод этот показатель был максимальным для Mn, содержание которого варьи-

ровало от 15.0 до 0.5 мг/кг сырой массы, минимальной была разница в содержании Fe (1.6 раза). В мантии предельные значения концентраций максимально отличались у Cd (8.0 раз), а содержание Pb у разных видов было практически одинаковым.

Последовательность микроэлементов, расположенных в порядке снижения их содержания в исследованных тканях отдельных видов брюхоногих моллюсков, также различалась (рис. 2, табл. 3). У *N. excelsior* в разных тканях в ряду совпадало положение Fe, As, Cu и Mn, у *N. behringiana* – только Fe, у *N. multistriata* – Fe, Ni и Pb, а у *B. verkruezeni* – Fe, Mn и Pb. В рядах последовательностей для мантии и мускула *N. varicifera* совпадало положение всех элементов, а для гепатопанкреаса – всех, кроме Ni и Cr. В целом, в тканях всех исследованных моллюсков максимальными были концентрации Fe, минимальными – преимущественно Cd или Pb (табл. 3).

В мускуле последовательность микроэлементов, расположенных в порядке убывания их концентрации, полностью совпадала у *N. excelsior*,

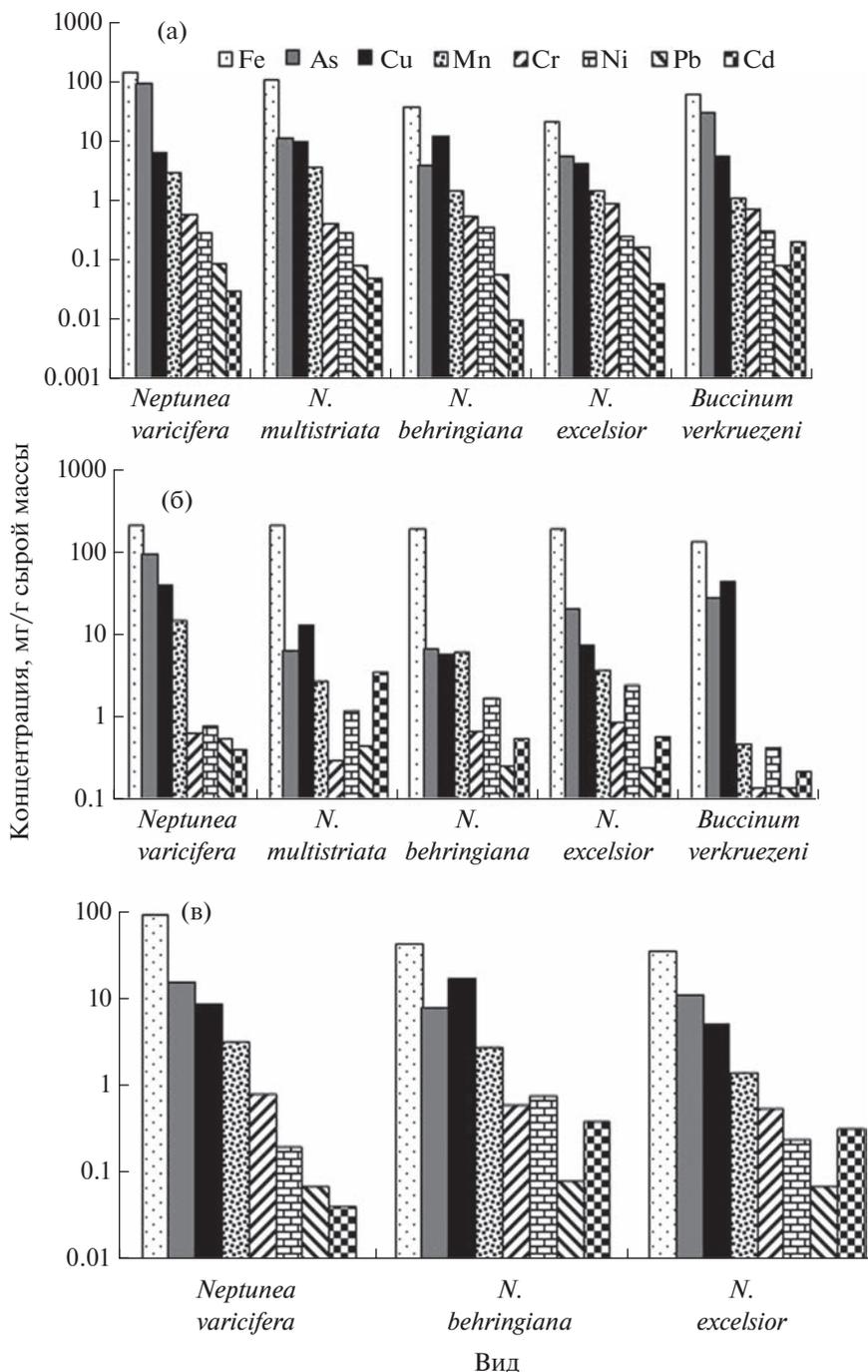


Рис. 2. Распределение концентраций микроэлементов в мускуле (а), гепатопанкреасе (б) и мантии (в) брюхоногих моллюсков из вод юго-восточного Сахалина (Охотское море).

N. varicifera и *N. multistriata*, а у *N. behringiana* и *B. verkruezeni* отличалась незначительно (табл. 3).

Наибольшее содержание в мускуле Fe и As отмечено у *N. varicifera*, Cu и Ni – у *N. behringiana*, Mn – *N. multistriata*, Cr – *N. excelsior*, а Pb и Cd – у *B. verkruezeni*. Минимальные концентрации Fe, Cu и Ni зафиксированы у *N. excelsior*; As, Pb и

Cu – у *N. behringiana*; Mn – у *B. verkruezeni* и Cr – у *N. multistriata* (табл. 2).

В гепатопанкреасе максимальные концентрации Fe, As, Mn и Pb выявлены у *N. varicifera*, Cr и Ni – у *N. excelsior*, Cd – у *N. multistriata* и Cu – у *B. verkruezeni* (табл. 2). Минимальное содержание большинства рассматриваемых микроэлементов (Mn, Cr, Ni, Pb и Cd) в этой железе установлено

Таблица 3. Последовательности микроэлементов по мере убывания их концентрации в тканях брюхоногих моллюсков семейства Buccinidae

Вид	Ткань	Микроэлемент							
		Fe	As	Cu	Mn	Ni	Cr	Cd	Pb
<i>Neptunea excelsior</i>	Гепатопанкреас	Fe	As	Cu	Mn	Ni	Cr	Cd	Pb
	Мантия	Fe	As	Cu	Mn	Cr	Cd	Ni	Pb
	Мускул	Fe	As	Cu	Mn	Cr	Ni	Pb	Cd
<i>N. behringiana</i>	Гепатопанкреас	Fe	As	Mn	Cu	Ni	Cr	Cd	Pb
	Мантия	Fe	Cu	As	Mn	Ni	Cr	Cd	Pb
	Мускул	Fe	Cu	As	Mn	Cr	Ni	Pb	Cd
<i>N. varicifera</i>	Гепатопанкреас	Fe	As	Cu	Mn	Ni	Cr	Pb	Cd
	Мантия	Fe	As	Cu	Mn	Cr	Ni	Pb	Cd
	Мускул	Fe	As	Cu	Mn	Cr	Ni	Pb	Cd
<i>N. multistriata</i>	Гепатопанкреас	Fe	Cu	As	Cd	Mn	Ni	Pb	Cr
	Мускул	Fe	As	Cu	Mn	Cr	Ni	Pb	Cd
<i>Buccinum verkruezeni</i>	Гепатопанкреас	Fe	As	Cu	Mn	Cr	Ni	Cd	Pb
	Мускул	Fe	Cu	As	Mn	Ni	Cd	Cr	Pb

для *B. verkruezeni*, As – для *N. multistriata* и Cu – для *N. behringiana* (табл. 4).

Нептуней, в отличие от представителя рода *Buccinum*, демонстрируют сходство по микроэлементам с максимальной (Cd) и минимальной (Cr) вариативностью концентраций. Кроме того, у разных представителей рода *Neptunea* положение микроэлементов в рядах последовательности их концентраций в мускуле совпадает или отличается незначительно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что биодоступность вещества зависит от его химических свойств и химических свойств среды, от уровня температуры и присутствия взвешенных веществ, а также от особенностей и состояния гидробионтов (Алексеев, Поздеев, 2016). В нашем исследовании также прослеживается зависимость уровней аккумуляции микроэлементов органами и тканями брюхоногих моллюсков от ряда факторов. Так, у близких по размерам нептуней *Neptunea excelsior* и *N. behringiana*, отобранных на одном участке (глубина 140 м), концентрации микроэлементов в отдельных тканях различались в пределах 1.0–4.0 раз. У представителей разных родов *N. varicifera* и *Buccinum verkruezeni*, выловленных в одном и том же месте на глубине 161 м, в мускуле и гепатопанкреасе различия в содержании всех микроэлементов также находились в пределах одного порядка (от 1.1 до 4.5 раза), за исключением Mn, содержание которого в гепатопанкреасе *N. varicifera* было выше на порядок. Максимальные различия в содержании микроэлементов в тканях выловленной с глубины 61 м наиболее мелкоразмерной *N. multistriata* относительно *N. excelsior* и *N. behringiana*

отмечены для Cd в гепатопанкреасе (выше в 5.9 и 6.2 раза соответственно), относительно *N. varicifera* – для As в гепатопанкреасе (на порядок ниже) и относительно *B. verkruezeni* – для Cd в гепатопанкреасе (на порядок выше). Близость мест поимок и сходные глубины (рис. 1) позволяют предположить, что на участках обитания *N. varicifera* и *B. verkruezeni* абиотические характеристики были сходными, как и в местах обитания *N. excelsior* и *N. behringiana*, но отличались от таковых у *N. multistriata*.

Отличия в содержании микроэлементов могут определяться не только параметрами среды, но и разными стадиями онтогенеза, физиологическим состоянием исследованных особей, а также видовыми особенностями аккумуляции элементов (Покаржевский, 1993) и особенностями питания. Как известно, брюхоногие моллюски могут быть детритофагами (Minami, 2000), падальщиками (Aguzzi et al., 2012) или хищниками, нападающими на полихет, двустворчатых (Taylor, 1978) и брюхоногих (Yamakami, Wada, 2021) моллюсков. Исследования, проведенные в водах северо-западной Атлантики, показали, что основу питания букцинума *B. undatum* составляют полихеты, а нептуней *N. antiqua* – двустворчатые моллюски (Taylor, 1978). Возможно, у исследованных нами представителей родов *Buccinum* и *Neptunea* объекты преимущественного питания также различались, оказывая влияние на микроэлементный состав.

Геохимические особенности распределения микроэлементов в районах обитания гидробионтов влияют на аккумуляцию, определяя географические различия в рядах последовательности содержания микроэлементов в моллюсках. Так, в корейских водах ряды последовательности средних значений концентрации микроэлементов в

Таблица 4. Последовательности видов брюхоногих моллюсков, расположенных по мере убывания содержания отдельных элементов в их тканях

Элемент	Ткань	Последовательность видов
Fe	Мускул	<i>N. varicifera</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>B. verkruezeni</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i>
	Гепатопанкреас	<i>N. varicifera</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>B. verkruezeni</i>
	Мантия	<i>N. varicifera</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i>
As	Мускул	<i>N. varicifera</i> > <i>B. verkruezeni</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. behringiana</i>
	Гепатопанкреас	<i>N. varicifera</i> > <i>B. verkruezeni</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. multistriata</i>
	Мантия	<i>N. varicifera</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. behringiana</i>
Cu	Мускул	<i>N. behringiana</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>B. verkruezeni</i> > <i>N. excelsior</i>
	Гепатопанкреас	<i>B. verkruezeni</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. behringiana</i>
	Мантия	<i>N. behringiana</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>N. excelsior</i>
Mn	Мускул	<i>N. multistriata</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>B. verkruezeni</i>
	Гепатопанкреас	<i>N. varicifera</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>B. verkruezeni</i>
	Мантия	<i>N. varicifera</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i>
Cr	Мышцы	<i>N. excelsior</i> > <i>B. verkruezeni</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. multistriata</i>
	Гепатопанкреас	<i>N. excelsior</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>B. verkruezeni</i>
	Мантия	<i>N. varicifera</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i>
Ni	Мышцы	<i>N. behringiana</i> > <i>B. verkruezeni</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>N. excelsior</i>
	Гепатопанкреас	<i>N. excelsior</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>B. verkruezeni</i>
	Мантия	<i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. varicifera</i>
Pb	Мышцы	<i>B. verkruezeni</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. behringiana</i>
	Гепатопанкреас	<i>N. varicifera</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>B. verkruezeni</i>
	Мантия	<i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. varicifera</i>
Cd	Мышцы	<i>B. verkruezeni</i> > <i>N. multistriata</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>N. behringiana</i>
	Гепатопанкреас	<i>N. multistriata</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. behringiana</i> > <i>N. varicifera</i> > <i>B. verkruezeni</i>
	Мантия	<i>N. behringiana</i> > <i>N. excelsior</i> > <i>N. varicifera</i>

N. arthritica cumingii и *B. striatissimum* имеют одинаковый вид: Cu > Mn > Pb > Cd > Cr > Ni (Mok et al., 2010), отличаясь от исследованных нами представителей родов *Neptunea* и *Vuccinum* более высоким положением Pb и более низким – Ni.

Концентрации микроэлементов Cu > Cr > Ni > Pb > Cd в мягких тканях (без органов пищеварения и выделения) брюхоногого моллюска *Cipangopaludina chinensis* (= *Cipangopaludina chinensis malleata*) из вод Кореи (Kim, Kim, 2006) и в тканях нептуней юго-восточного Сахалина располагаются в одинаковой последовательности. Не отличаются и последовательности концентраций микроэлементов в исследованных нами тканях брюхоногих моллюсков (за исключением гепатопанкреаса *N. behringiana*, где Fe > Mn > Cu > Pb) и в тканях *Nerita bolteata* (= *Nerita articulate*) и *Littoraria undulata* (= *Littorina (Littoraria) undulata*) из эстуария р. Хугли в Западной Бенгалии (Индия) (Mitra, Choudhury, 1993).

В ряду последовательностей микроэлементов в мускуле букцинума *B. undatum* из норвежских вод Fe, содержание которого было максималь-

ным у исследованных нами брюхоногих моллюсков, занимает лишь третью (иногда вторую) позицию. Наиболее высокие концентрации отмечены для As, а вторую (иногда третью) позицию занимает Cu (Bakke et al., 2011).

Исследования брюхоногих моллюсков из впадины Дерюгина и охотоморских вод вблизи о-ва Парамушир показали, что для мускула и гепатопанкреаса *N. convexa*, *N. insularis*, *B. pemphigus* и *Ancistrolepis grammata* (= *Ancistrolepis grammatus*) короткий ряд последовательностей содержания микроэлементов в тканях имеет вид: Fe > Cu > Cd > Ni (Kosyan, Gulbin, 2016), отличаясь от последовательностей рассматриваемых видов положением Cd и Ni.

Полученные нами данные характеризуют микроэлементный состав брюхоногих моллюсков на период их вылова. Ранее показано, что концентрации микроэлементов в тканях отдельных видов брюхоногих моллюсков зависят как от участка обитания (Bakke et al., 2011; Duysak, Ersoy, 2014), так и от времени года (Duysak, Ersoy, 2014; Ghosh et al., 2016), причем для Fe, Cu, Pb и Cr они

могут различаться на порядок (Duysak, Ersoy, 2014).

Для гепатопанкреаса исследованных видов характерно более высокое, чем в мускуле и мантии, содержание анализируемых микроэлементов. У *N. excelsior* это справедливо для всех элементов, у *N. behringiana* – для Fe, Mn, Ni, Pb и Cd, у *N. multistriata* – Fe, Cu, Ni, Pb и Cd, у *N. varicifera* – Fe, As, Cu, Mn, Ni, Pb и Cd и у *B. verkruezeni* – Fe, Cu, Ni, Pb и Cd. Это согласуется с данными, полученными ранее для брюхоногих моллюсков из впадины Дерюгина и охотоморских вод вблизи о-ва Парамушир (Kosyan, Gulbin, 2016).

Орган-мишень – это орган или ткань, на которые в первую очередь воздействует то или иное вещество, в данном случае – орган, в котором концентрация микроэлементов превышает их содержание в других тканях в 5 и более раз. У исследованных представителей Buccinidae это гепатопанкреас, в котором у *N. excelsior* в 5 и более раз выше содержание Fe, Cr и Cd, у *N. behringiana* – Fe и Cd, у *N. varicifera* – As, Cu, Mn, Pb и Cd, у *N. multistriata* – Cd и у *Buccinum verkruezeni* – Cu. Органом-мишенью для As является также мускул *N. varicifera*.

В тканях исследованных моллюсков минимальные концентрации микроэлементов отмечены для Pb или Cd, максимальные – для Fe, что соответствует их содержанию (для Cd частично) в донных отложениях. На сопредельном участке шельфа северо-восточного Сахалина концентрации (мг/кг сухой массы) кислоторастворимых форм элементов в грунте снижаются в ряду в следующем порядке: Fe (2567) > Cr (4.72) > As (2.69) > Pb (2.03) > Cu (0.92) > Cd (0.018) (Лишавская, Мощенко, 2008). Порядок распределения остальных рассмотренных элементов в тканях букцинид и в донных отложениях не совпадает. Более высокое положение As и Cu в рядах концентраций микроэлементов у букцинид относительно донных отложений обусловлено тем, что они, как и Fe, относятся к поглощаемым из геохимической среды биофильным элементам, которые используются в процессе жизнедеятельности гидробионтов (Геологический словарь, 1973). Накапливается все больше данных о важности этих микроэлементов в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма (Скальный, Рудаков, 2005), в том числе и для As, который относят к биофильным (Иваненко, Ковековдова, 2014) или к условно биофильным элементам. По регламентирующим документам (СанПиН 2.3.2.1078-01, 2002; Технический регламент ТР ТС 021..., 2011; Технический регламент ТР ЕАЭС 040..., 2016), допустимые уровни токсичных элементов для беспозвоночных составляют для Pb – 10, для As – 5 и Cd – 2 мкг/г сырой массы. В мускуле исследованных брюхоногих моллюсков допустимые уровни

по As превышены у всех видов, за исключением *N. behringiana*, а в гепатопанкреасе – у всех видов. Причем в мышцах и гепатопанкреасе *N. varicifera* нормы As превышены на порядок. В гепатопанкреасе *N. multistriata* отмечено также превышение допустимого содержания Cd (табл. 2).

Известно, что неорганические формы As более токсичны, чем органические (Leermakers et al., 2006). В морской биоте мышьяк содержится преимущественно в виде малотоксичных органических соединений: арсенобентаин, арсеносахара, арсенохолин и арсенолипиды, а также метиларсонат и диметиларсинат (Щукин и др., 2019). Согласно литературным данным, содержание неорганических форм As у рыб и морских млекопитающих в **большинстве** случаев ниже предела обнаружения, а у других групп гидробионтов – не выше 0.060 мг/кг. Во всех пробах содержание неорганического мышьяка составляет менее 1% от его общего содержания (Sloth et al., 2005). Содержание общего As в мышцах *Buccinum undatum* из норвежских вод в разных районах составило 15, 46 и 28 мг/кг сырой массы, а неорганического – 0.0026, 0.0069 и менее 0.0027 мг/кг сырой массы (Bakke et al., 2011). Следовательно, высокие значения общего содержания As в гидробионтах, в частности, в брюхоногих моллюсках, превышающие допустимые уровни содержания этого элемента, не являются показателем опасности для человека. На основании этого допустимые уровни содержания As в гидробионтах, прописанные в отечественных нормативных документах, необходимо привести в соответствие с научными данными.

Согласно полученным нами результатам, в мускуле исследованных брюхоногих моллюсков максимальная варибельность содержания характерна для As и Cd, минимальная – для Ni. В гепатопанкреасе этот показатель был максимальным для Mn и минимальным для Fe, в мантии – соответственно для Cd и Pb. В тканях нептуней наибольшей варибельностью концентраций отличался Cd, наименьшей – Cr. У *B. verkruezeni* наиболее широкий диапазон значений отмечен для Cu, минимальный – для As. Мускул нептуней характеризуется одинаковой (Fe > As > Cu > Mn > Cr > Ni > Pb > Cd) или близкой последовательностями микроэлементов, расположенных в порядке снижения уровней их содержания в моллюсках, отличаясь от таковой у букцинума (Fe > Cu > As > Mn > Ni > Cd > Cr > Pb).

Превышение санитарно-гигиенического норматива по содержанию кадмия отмечено в гепатопанкреасе *N. multistriata*. Допустимые уровни по мышьяку превышены в гепатопанкреасе всех видов исследованных брюхоногих моллюсков, в мускуле также у всех, за исключением *N. behringiana*.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят ведущего специалиста лаборатории промысловых гидробионтов СахНИРО И.П. Смирнова, предоставившего брюхоногих моллюсков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеевнина М.С., Поздеев И.В.* Санитарная гидробиология с основами водной токсикологии: учебное пособие. Пермь: Книжный формат. 2016. 205 с.
- Геологический словарь: в 2-х томах. М.: Недра. 1973. 456 с.
- Иваненко Н.В., Ковековдова Л.Т.* Микроэлементный состав лекарственных растений Приморского края // Тихоокеанский медицинский журнал. 2014. № 2. С. 18–21.
- Кантор Ю.И., Сысоев А.В.* Морские и солоноватоводные брюхоногие моллюски России и сопредельных стран: иллюстрированный каталог. М.: Т-во науч. изд. КМК. 2006. 371 с.
- Клитин А.К., Смирнов И.П.* Морские брюхоногие моллюски сахалино-курильских вод (семейство Viscinidae). Атлас. Серия “Естественная история Сахалина и Курильских островов”. Южно-Сахалинск: Сахалин – Приамурские ведомости. 2021. 136 с.
- Лишавская Т.С., Мощенко А.В.* Некоторые металлы в донных отложениях прибрежных акваторий острова Сахалин // Изв. ТИНРО. 2008. Т. 153. С. 295–311.
- Методика количественного химического анализа. Определение As, Pb, Cd, Sn, Cr, Cu, Fe, Mn и Ni в пробах пищевых продуктов и пищевого сырья атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией. № М-02-1009-08. Атгест. ВНИИМ им. Д.И. Менделеева. Свид-во № 242/43-09 от 08.07.2009. ООО “Аналит”. 2009. 21 с.
- Покаржевский А.Д.* Геохимическая экология наземных и почвенных животных (биоиндикационные и радиоэкологические аспекты). Автореф. дис. докт. биол. наук. Москва. 1993. 38 с.
- СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов (с изменениями на 6 июля 2011 г.). М.: Минздрав России. 2002. 36 с.
- Скальный А.В., Рудаков И.А.* Биоэлементология – новый термин или новое научное направление? // Вестник ОГУ. 2005. № 2S-2(40). С. 4–8.
- Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 “О безопасности пищевой продукции” / Комиссия Таможенного союза. 2011. 242 с.
- Технический регламент Евразийского экономического союза “О безопасности рыбы и рыбной продукции” ТР ЕАЭС 040/2016 / Совет Евразийской экономической комиссии. 2016. 135 с.
- Христофорова Н.К., Малиновская Т.М.* Содержание металлов в моллюсках-индикаторах южных Курильских островов // Бюллетень дальневосточного малакологического общества. 2000. Вып. 4. С. 107–108.
- Христофорова Н.К.* Содержание тяжелых металлов в брюхоногом моллюске *Collisella cassis* из Японского моря // Биол. моря. 1981. № 4. С. 66–72.
- Шукин В.М., Ерина А.А., Лисман Е.С. и др.* Проблемы нормирования мышьяка в бурых водорослях и лекарственных препаратах на их основе // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2019. Т. 9. № 3. С. 167–171.
- Aguzzi J., Jamieson A.J., Fujii T. et al.* Shifting feeding behaviour of deep-sea buccinid gastropods at natural and simulated food falls // Mar. Ecol. Progr. Ser. 2012. V. 458. P. 247–253.
- Bakke S., Frantzen S., Børnes C.* Regional occurrence of heavy metals in the common whelk (*Buccinum undatum*) in Norway // Proceedings of: West European Fish Technologists Association Conference, Gothenburg 27–30 Sep. 2011. https://www.researchgate.net/publication/325828332_Regional_occurrence_of_heavy_metals_in_the_common_whelk_Buccinum_undatum_in_Norway. Accessed: 05.01.2022.
- Duysak Ö., Ersoy B.* A Biomonitoring study: heavy metals in *Monodonta turbinata* (Mollusca: Gastropoda) From Iskenderun Bay, North-Eastern Mediterranean // Pakistan J. Zoology. 2014. V. 46. № 5. P. 1317–1322.
- Golikov A.N., Sirenko B.I., Gulbin V.V. et al.* Checklist of shell-bearing gastropods of the northwestern Pacific // Ruthenica. 2001. V. 11. № 2. P. 153–173.
- Ghosh I., Maitra S., Biswas S. et al.* First record on seasonal variations of heavy metal concentrations in *Neritina (Dostia) violacea* (Gmelin) from Nayachar Island, West Bengal, India // J. Environ. Sci. Comput. Sci. Eng. Technol. 2016. V. 5. № 2. P. 23–30.
- Kim H.T., Kim J.G.* Heavy Metal Concentrations in the Mollusc Gastropod, *Cipangopaludina chinensis malleana* from Upo Wetland Reflect the Level of Heavy Metals in the Sediments // J. Ecol. and Environ. 2006. V. 29. № 5. P. 453–460.
- Kosyan A., Gulbin V.* First case of imposex in *Neptunea convexa* (Gastropoda: Buccinidae) from bathyal depths (Sea of Okhotsk, >1400 v) // EMECS 11 – Sea coasts XXVI. Managing risks to coastal regions and communities in a changing world, St. Petersburg, August 22–27. 2016. P. 197.
- Leermakers M., Baeyens W., De Gieter M. et al.* Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation // Trends in Analyt. Chem. 2006. V. 25. № 1. P. 1–10.
- Minami T.* Food chain structure in the offshore benthic communities // Research and Information Office, Global Environment Department, Environment Agen-

- cy (ed.), Global Environment Research in Japan (Final Reports for Projects Completed in 1999) Part 2. Tokyo, Ministry of Environment. 2000. P. 105–112.
- Mitra A., Choudhury A. Trace metals in macrobenthic molluscs of the Hooghly Estuary, India // Mar. Pollut. Bull. 1993. V. 26. № 9. P. 521–522.
- Mok J.S., Lee K.J., Shim K.B. et al. Contents of heavy metals in marine invertebrates from the Korean coast // J. Korean Society of Food Science and Nutrition. 2010. V. 39. № 6. P. 894–901.
- Sloth J.J., Larsen E.H., Julshamn K. Survey of Inorganic Arsenic in marine animals and marine certified reference materials by anion exchange high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry // J. Agric. and Food Chem. 2005. V. 53. P. 6011–6018.
- Taylor J.D. Diet of *Buccinum undatum* and *Neptunea antiqua* (Gastropoda: Buccinidae) // J. Conchol. 1978. V. 29. № 6. P. 309–318.
- Yamakami R., Wada S. Prey utilization by *Neptunea arthritica* (Caenogastropoda: Buccinidae): predation on gastropods and size-related variation // J. Molluscan Studies. 2021. V. 87. eyab016. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyab016>

Content of Trace Elements in Tissues of Gastropod Mollusks of the Family Buccinidae (Gastropoda) off the Coasts of South-Eastern Sakhalin (the Sea of Okhotsk)

Yu. N. Poltev^a, T. G. Koreneva^a, and V. Ye. Maryzhikhin^a

^aSakhalin Branch, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (SakhNIRO), Yuzhno-Sakhalinsk 693023, Russia

The content of Pb, Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Fe, and As in the muscle, mantle, and digestive glands of the gastropod mollusks *Neptunea excelsior*, *N. behringiana*, *N. multistriata*, and *N. varicifera*, as well as *Buccinum verkruezeni*, living near the coasts of the South-Eastern Sakhalin has been estimated. Representatives of the genera *Neptunea* and *Buccinum* showed some differences in the ranges of variation and series of value sequences of trace element concentrations in the muscle. Exceeding the hygienic standard for the content of As in the hepatopancreas was found in all the studied mollusks, and in the muscle – in all, except for *N. behringiana*. The maximum permissible level of Cd concentration was exceeded in the hepatopancreas of *N. multistriata*.

Keywords: trace elements, atomic absorption, gastropod mollusks, Buccinidae, Sea of Okhotsk

УДК 576.3:597.2/.5

РАЗМЕРНЫЕ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТОВ, ИНДЕКСЫ ЖАБР И СЕРДЦА НЕКОТОРЫХ ДОННЫХ РЫБ ЧЕРНОМОРСКОГО ПРИБРЕЖЬЯ ЮГО-ВОСТОЧНОГО КРЫМА

© 2023 г. Ю. А. Силкин¹ *, Е. Н. Силкина¹, М. Ю. Силкин¹, В. Н. Черняева¹

¹Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН, Феодосия 298100, Россия

*e-mail: ysilkin@mail.ru

Поступила в редакцию 22.08.2022 г.

После доработки 23.10.2022 г.

Принята к публикации 26.01.2023 г.

Исследованы размерные и физиолого-биохимические показатели эритроцитов, а также индексы жабр и сердца у пяти видов морских донных рыб. Показано, что скорпена *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 и налим *Gaidropsarus mediterraneus* Linnaeus, 1758 отличаются от остальных исследованных рыб большей массой сердца и жаберного аппарата, что свидетельствует о более эффективных транспортных возможностях кровеносной системы этих видов. Линейные размерные характеристики эритроцитов представителя Chondrichthyes – ската *Raja clavata* Linnaeus, 1758 – в 1.5–2 раза превосходили размеры эритроцитов *S. porcus*, которые были самыми крупными среди исследованных костистых рыб. Размеры эритроцитов трех других видов Teleostei отличались незначительно. Количество гемоглобина на единицу поверхности эритроцита, отражающее эффективность насыщения гемоглобина кислородом, в ряду исследованных костистых рыб варьировало незначительно (от 0.05 до 0.071 пг/мм², в отличие от ската, у которого оно было в 2.7–3.8 раза меньше. Наибольшая внутриклеточная концентрация гликогена, характеризующая степень независимости эритроцита от перепадов гликемии, отмечена в клетках *S. porcus* (305.2 ± 35.1 мг %), а самая низкая – в эритроцитах ската *R. clavata* (142.8 ± 15.1 мг %). Активность экто-АТФазы в крупных эритроцитах *S. porcus*, *R. clavata* и *Uranoscopus scaber* была выше (соответственно 4.8, 3.1 и 1.6 мкмоль Ф_n/мин/мл эритроцитов), чем в более мелких эритроцитах *Crenilabrus tinca* и *Gaidropsarus mediterraneus* (соответственно 0.5 и 0.4 мкмоль Ф_n/мин/мл эритроцитов). Это подтверждает предположение об использовании эритроцитами тепловой энергии гидролиза внешнего АТФ, изменяющей реологические характеристики крови в капиллярном отделе кровотока, для “подогрева” собственной мембраны.

Ключевые слова: донные рыбы, индексы сердца и жабр, размеры эритроцитов, гемоглобин, гликоген, экто-АТФаза

DOI: 10.31857/S0134347523030117, **EDN:** SBTABS

Особенности среды обитания (температура, соленость, кислородный режим и т.д.) формируют у живущих в прибрежье рыб адаптивные реакции, которые в первую очередь затрагивают органы и системы, обеспечивающие газотранспортные функции организма. Условия обитания в прибрежных водах Крыма характеризуются значительными перепадами температуры: от + 2–4°C в зимний период до + 25–28°C в летние месяцы.

Адаптационные приспособления донных рыб имеют разные уровни, среди которых особое место занимают размерные характеристики органов и их функциональная активность. Жаберный аппарат и система крови (сердце, сосуды и форменные элементы) – это самые важные составляющие, обеспечивающие общую энергетику рыб и определяющие их адаптационную основу. Ранее на пресноводных видах показана зависимость

морфофизиологических параметров эритроцитов от содержания кислорода в среде обитания рыб (Заботкина и др., 2015), что подтверждает важность определения морфологических показателей этих клеток. Морские рыбы в этом отношении являются недостаточно изученными объектами. Немногочисленные экспериментальные исследования по гипоксии свидетельствуют о четкой реакции организма морских рыб на низкое содержание кислорода, приводящей к изменению физиологических и морфологических параметров крови (Солдатов и др., 1994; Солдатов, Парфенова, 2001; Силкин, Силкина, 2005; Андреева, 2014). Высокие летние температуры в прибрежной акватории приводят к падению кислородного напряжения в воде, вызывая сезонную гипоксию.

Изменение содержания гемоглобина, гликогена и активности экто-АТФазы плазматических мембран эритроцитов при неблагоприятных условиях отражает функциональную активность газотранспортной системы рыб. Гемоглобин обеспечивает емкостные характеристики кислородного транспорта, гликоген — степень метаболической автономности эритроцитов, активность экто-АТФазы — особые условия реологии эритроцитов в капиллярном отделе кровотока. Задачей настоящего исследования явилось изучение особенностей индексов сердца, жабр и размерных характеристик эритроцитов, а также содержания гликогена, гемоглобина и активности экто-АТФазы в красных клетках крови пяти видов морских донных рыб.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектами исследования служили рыбы донных биоценозов черноморского побережья Юго-Восточного Крыма: один представитель *Chondrichthyes* — скат морская лисица *Raja clavata*, четыре вида *Teleostei* — черноморская скорпена *Scorpaena porcus*, пятнистый звездочет *Uranoscopus scaber*, зеленушка-рулена *Crenilabrus tinca* и средиземноморский морской налим *Gaidropsarus mediterraneus*. Отлов производили в октябре—ноябре 2021 г., когда у большинства рыб, кроме налима, заканчивался нерест и начинался нагульный период. Костистых рыб отлавливали в 100 м от берега на глубине 5–7 м ставной сетью с ячейей 40 мм, ската — на глубине 30–50 м специальной снастью с крючками. После отлова рыб помещали в аэрируемые бассейны емкостью 100 л на одну особь. После 3-суточной акклимации рыб кормили рыбьим мясом, в течение 7 суток наблюдали за их поведением и затем брали в опыт. Соматические индексы для сердца и жабр, согласно известным методикам (Смирнов и др., 1972), определяли как отношение сырого веса органа к весу тела без внутренностей и выражали в %.

Все выловленные скаты были 50–60 см в длину и 40–45 см в ширину, длина тела *S. porcus* составила 20–24 см, *U. scaber* — 19–21 см, *C. tinca* — 21–24 см и *G. mediterraneus* — 17–20 см. Возраст рыб — от трех до пяти лет. Отловленных рыб выбирали по массе так, чтобы можно было получить достаточное количество крови: 29 особей черноморской скорпены и 16 особей пятнистого звездочета массой 150–250 г каждая; 17 экз. зеленушки-рулены массой 200–300 г и 11 экз. средиземноморского налима массой 70–100 г. Полученные данные использовали без учета пола, так как не было отмечено в процессе исследования межполовых различий по анализируемым показателям.

Получение образцов крови

У скатов кровь получали пункцией сердца, у костистых рыб — пункцией хвостовой артерии стеклянной пипеткой, смоченной раствором 5% гепарина. Для отмывания эритроцитов от других элементов крови и плазмы полученную порцию крови помещали в охлажденный физиологический раствор (1:10) следующего состава: для костистых рыб — 180 мМ NaCl + 5 мМ Трис-НСl (рН 7.4); для ската — 220 мМ NaCl + 300 мМ CO(NH₂)₂ + 5 мМ Трис-НСl (рН 7.4). Центрифугирование проводили в течение 10 мин на центрифуге JANETZKI K-23 (Германия) при 1500 об/мин, после удаляли надосадочную жидкость. В полученной суспензии эритроцитов определяли величину гематокрита, которую учитывали в опытах и расчетах при определении активности фермента и количества гликогена. Определение гликогена в эритроцитах проводили по известным цветным реакциям с антроном (Силкин и др., 2021), а активность экто-АТФазы — по накоплению фосфора согласно методике, ранее описанной в нашей статье (Силкин и др., 2018). Количество эритроцитов подсчитывали в камере Горяева, содержание гемоглобина определяли по методу Сали и выражали в г %.

Методы исследования размерных характеристик эритроцитов и их ядер

Использовали “мокрые” и “сухие” препараты клеток крови рыб. Эритроциты исследованных особей имели типичную эллипсоидную форму, отличаясь размерными характеристиками, как самой клетки, так и ядра. Толщину эритроцитов, равную толщине их ядер, определяли на “мокрых” препаратах с помощью светового микроскопа Carl Zeiss Jena (Германия) с объективом L Plan-Apochromat 100×/1.46 (иммерсионное масло Dic III), используя программу Axio Imager Z1.

На сухих мазках крови, фиксированных этиловым спиртом и окрашенных краской Романовского-Гимза, определяли длину и ширину клеток и их ядер. Оптические исследования проводили под бинокулярным микроскопом STUDAR EK PZO (Польша). Для получения снимков использовали цифровую камеру MC-6.3 USB 3.0 (“ЛОМО-МА”, РФ) (разрешение матрицы — 6.3 Мпкс, сенсор — 1/1.8” SONY с улучшенной светочувствительностью и цветопередачей, размер пикселя — 2.4 × 2.4, разрешение полученных снимков 3072 × 2048 пикс). Измерение эритроцитов и их ядер проводили с помощью программы MCview (“ЛОМО—Микросистемы”, РФ). Расчет объема клетки V_c и ядра V_n эритроцитов осуществляли по формуле для трехосного эллипсоида, которая хорошо соответствует геометрии эритроцитов рыб (рис. 1):

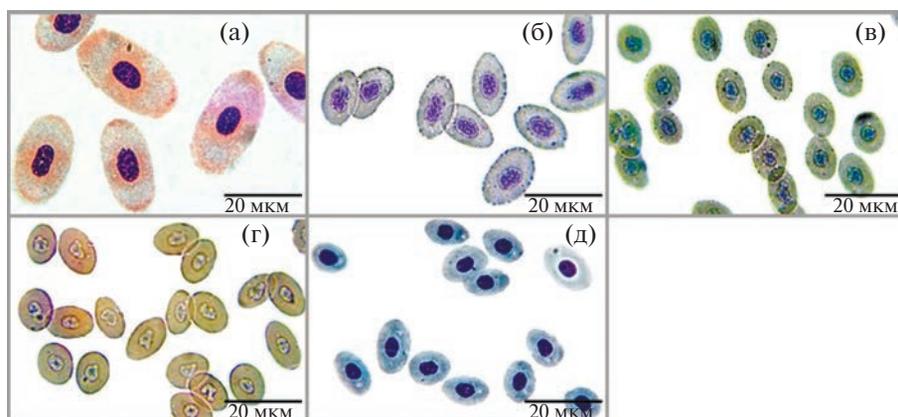


Рис. 1. Эритроциты донных рыб черноморского побережья Крыма: а – ската *Raja clavata*; б – черноморской скорпены *Scorpaena porcus*; в – средиземноморского налима *Gaidropsarus mediterraneus*; г – пятнистого звездочета *Uranoscopus scaber*; д – зеленушки-рулены *Crenilabrus tinca*.

$$V = 4/3\pi(a \times b \times c), \quad (1)$$

где V – объем эритроцита или его ядра, мкм^3 ; a – ширина эритроцита или ядра/2, мкм ; b – длина эритроцита или ядра/2, мкм ; c – толщина эритроцита или ядра/2, мкм .

Для расчета площади одиночного эритроцита (S_c) использовали формулу, применяемую для определения площади поверхности трехосного эллипсоида (Косачев и др., 2010). Одновременный учет трех измерений эритроцита позволил обнаружить различия в площадях поверхности клеток у разных видов рыб в соответствии с их размерными характеристиками.

$$S \approx 4\pi \left[(a^p \times b^p + a^p \times c^p + b^p \times c^p) / 3 \right]^{1/p}, \quad (2)$$

где $p = 1.6075$.

Общую площадь поверхности эритроцитов рыб ($\text{RBC} \times S_c$) рассчитывали как произведение числа эритроцитов в 1 мм^3 крови (RBC) на площадь поверхности одного эритроцита.

Полученные результаты, обработанные с помощью программы Microsoft Excel, представлены в виде среднего значения и его ошибки ($M \pm m$).

Оценку результатов проводили параметрическим методом для несвязанных выборок (t -критерий Стьюдента) при уровне достоверности $p \leq 0.05$ (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно полученным данным, относящийся к хрящевым рыбам скат *Raja clavata* по величине сердечного индекса соответствует параметрам представителя Teleostei морского налима *Gaidropsarus mediterraneus*. Наибольший сердечный индекс отмечен у *Scorpaena porcus*, его величина несколько выше, чем у *G. mediterraneus*, и превышает значения сердечного индекса пятнистого звездочета *Uranoscopus scaber* в 1.7 раз, а зеленушки-рулены *Crenilabrus tinca* – в 2.5 раза (табл. 1).

Жабры у ската развиты слабо, по величине жаберного индекса он, как и пятнистый звездочет *Uranoscopus scaber*, уступает остальным исследованным Teleostei (табл. 1). Наибольшим этот индекс был у *S. porcus*, он превышал индексы *U. scaber*, *G. mediterraneus* и *C. tinca* соответственно в 2.7, 1.4 и 1.7 раза. По уменьшению величины индекса жабр исследованные рыбы распределялись следу-

Таблица 1. Величина соматических индексов донных рыб (%)

Индекс	Вид				
	<i>Raja clavata</i>	<i>Scorpaena porcus</i>	<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>	<i>Crenilabrus tinca</i>	<i>Uranoscopus scaber</i>
Сердечный	0.09 ± 0.004* (10)	0.1 ± 0.001* (17)	0.09 ± 0.003* (11)	0.04 ± 0.002** (17)	0.06 ± 0.001 (16)
Жаберный	1.2 ± 0.1** (10)	3.3 ± 0.1* (29)	1.9 ± 0.1** (11)	2.3 ± 0.2 (16)	1.2 ± 0.01** (16)

Примечание. В скобках – число рыб в опыте; значимые различия между соотношениями соответствующих индексов разных видов рыб отмечены звездочкой (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

Таблица 2. Размеры эритроцитов и их ядер у донных рыб ($M \pm m$)

Вид	Размерные параметры эритроцита							Размеры ядра эритроцита			
	C_1 , мкм	C_2 , мкм	C_3 , мкм	S_c , мкм ²	V_c , мкм ³	$V_c - V_n$, мкм ³	S_n/S_c	N_1 , мкм	N_2 , мкм	S_n , мкм ²	V_n , мкм ³
<i>Raja clavata</i>	26.8 ± 1.6 (6)	14.0 ± 0.9 (6)	3.6 ± 0.2 (6)	668.7 ± 9.1 (6)	728.3 ± 11.7 (6)	670.2 ± 11.1 (6)	0.11 ± 0.01 (6)	6.7 ± 0.4 (6)	4.6 ± 0.3 (6)	76.2 ± 2.2 (6)	58.1 ± 1.5 (6)
<i>Scorpaena porcus</i>	13.5 ± 0.9 (61)	9.1 ± 0.5 (61)	2.1 ± 0.1 (61)	212.0 ± 5.6 (61)	135.1 ± 4.7 (61)	116.6 ± 5.1 (61)	0.18 ± 0.02 (61)	4.8 ± 0.5 (61)	3.5 ± 0.3 (61)	37.1 ± 1.9 (61)	18.5 ± 1.3 (61)
<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>	11.7 ± 0.1 (45)	8.0 ± 0.7 (45)	1.7 ± 0.1 (45)	160.0 ± 5.6 (45)	83.3 ± 3.9 (45)	68.7 ± 3.1 (45)	0.21 ± 0.02 (45)	4.7 ± 0.3 (45)	3.5 ± 0.3 (45)	33.7 ± 1.5 (45)	14.6 ± 0.6 (45)
<i>Uranoscopus scaber</i>	11.5 ± 1.1 (27)	8.3 ± 0.7 (27)	1.6 ± 0.1 (27)	161.8 ± 6.9 (27)	80.0 ± 4.9 (27)	67.6 ± 4.2 (27)	0.19 ± 0.02 (27)	4.5 ± 0.4 (27)	3.3 ± 0.2 (27)	30.3 ± 1.4 (27)	12.4 ± 0.7 (27)
<i>Crenilabrus tinca</i>	11.0 ± 0.9 (46)	6.8 ± 0.6 (46)	1.4 ± 0.2 (27)	127.0 ± 6.5 (46)	54.8 ± 1.7 (46)	43.6 ± 2.7 (46)	0.23 ± 0.02 (46)	4.5 ± 0.4 (46)	3.4 ± 0.3 (46)	29.8 ± 1.3 (46)	11.2 ± 0.5 (46)

Примечание: C_1 и C_2 – большой и малый диаметры эритроцита; C_3 – толщина эритроцита и ядра; N_1 и N_2 – большой и малый диаметры ядра; S_c – площадь поверхности эритроцита; S_n – площадь поверхности ядра; V_c – объем эритроцита; V_n – объем ядра эритроцита; $V_c - V_n$ – объем цитоплазмы; в скобках – число рыб в опыте.

ющим образом: *S. porcus*, *C. tinca*, *G. mediterraneus*, *R. clavata* и *U. scaber* (табл. 1).

Анализ морфологических показателей эритроцитов и их ядер у исследованных видов рыб (табл. 2) показал, что колебания линейных размеров эритроцитов были пропорциональны изменениям размеров их ядер. Наибольшие размеры эритроцитов и их ядер отмечены у представителя Chondrichthyes. Размеры больших и малых диаметров красных клеток ската *R. clavata* примерно в 2 раза больше, чем у эритроцитов костистых рыб. Среди представителей Teleostei самые крупные эритроциты отмечены у черноморской скорпены, а самые мелкие – у зеленушки-рулены, у которой длины больших и малых осей эритроцита были в 1.2–1.3 раза меньше, чем у эритроцита *S. porcus*. Эритроциты остальных видов рыб занимали промежуточное положение. Площадь эритроцита *R. clavata* в 3 раза больше, чем *S. porcus*, площадь эритроцитов которой была наибольшей среди исследованных костистых рыб и в 1.7 раза превышала площадь клетки *C. tinca*. Разность объемов эритроцита и ядра ($V_c - V_n$), характеризующая величину цитоплазматического пространства была наибольшей у *R. clavata* (670.2 мкм³). Среди костистых рыб этот показатель был наибольшим у *S. porcus* (116.6 мкм³), а наименьшим (43.6 мкм³) – у *C. tinca* (табл. 2).

Площадь эритроцита варьировала от 668.7 мкм² у *R. clavata* до 127.0 мкм² у *C. tinca* и ранжировалась в следующем порядке: *R. clavata* > *S. porcus* > *U. scaber* > *G. mediterraneus* > *C. tinca*. Площадь ядра S_n , определенная по снимку мазка, также была самой большой у ската (76.2 мкм²), в 2 раза превышая этот показатель для *S. porcus*. Однако порядок убывания по площади ядра эритроцита был несколько иной: *R. clavata* > *S. porcus* > *G. mediterraneus* > *U. scaber* > *C. tinca* (табл. 2).

Минимальное отношение S_n/S_c , характеризующее долю площади клетки, занимаемую ядром, отмечено в эритроцитах *R. clavata* (11%). Среди костистых рыб этот показатель был наименьшим в эритроцитах *S. porcus* (18%), а наибольшим (23%) – у *C. tinca*. У *G. mediterraneus* и *U. scaber* отношение S_n/S_c было соответственно 21 и 9% (табл. 2).

Согласно результатам физиолого-биохимического исследования, количество эритроцитов в крови у костистых рыб колебалось от 420 тыс. до 1 млн (табл. 3). У представителя Chondrichthyes количество эритроцитов и содержание в них гемоглобина и гликогена было значительно ниже. В крови ската содержалось эритроцитов в 2.85 раза меньше, чем у средиземноморского налима, в 2.5 раза меньше, чем у зеленушки-рулены и пятнистого звездочета, и в 1.2 раза меньше, чем у черноморской скорпены (табл. 3). Размер красных клеток крови *S. porcus* в 2 раза превышал размер эритроцитов средиземноморского налима.

Уровень гемоглобина в клетках крови *R. clavata* в 1.4–1.9 раза ниже, чем у костистых рыб, среди которых наиболее высокое содержание гемоглобина отмечено у *U. scaber*. Содержание гемоглобина в эритроцитах *S. porcus* примерно в 1.3 раза ниже, чем в клетках крови других Teleostei. Низкий уровень гемоглобина у *S. porcus* сочетается с малым количеством красных клеток крови этого вида (табл. 3).

Несмотря на самый низкий гематокрит, общая площадь поверхности эритроцитов в единице объема крови оказалась самой высокой у ската *R. clavata*. У представителей костистых рыб этот показатель четко коррелировал с гематокритом и был самым высоким у *G. mediterraneus* и низким – у *S. porcus* (табл. 3).

Независимо от количества гемоглобина и колебаний площади эритроцитов в единице объема

Таблица 3. Количество эритроцитов, содержание гемоглобина и гликогена и активность экто-АТФазы в эритроцитах донных видов рыб

Параметры	Вид				
	<i>Raja clavata</i>	<i>Scorpaena porcus</i>	<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>	<i>Uranoscopus scaber</i>	<i>Crenilabrus tinca</i>
Количество эритроцитов в 1 мм ³ крови × 10 ⁶	0.35 ± 0.04* (10)	0.42 ± 0.03 (18)	1.0 ± 0.01** (16)	0.87 ± 0.01** (16)	0.85 ± 0.05** (15)
Содержание гемоглобина в крови, г %	4.33 ± 0.42* (10)	6.08 ± 0.32 (20)	8.0 ± 0.85 (15)	8.16 ± 0.38** (15)	7.67 ± 0.83 (15)
Общая площадь поверхности эритроцитов, (RBC × S _c) мм ² в 1 мм ³ крови	234.0	89.0	160.0	141.0	108.0
Количество гемоглобина на единицу поверхности эритроцитов, рг/мм ²	0.0185*	0.0683**	0.0500**	0.0578**	0.0710**
Содержание гликогена, мг % сырого веса клеток	142.8 ± 15.1* (10)	305.2 ± 35.1** (7)	272.6 ± 29.1** (5)	217.0 ± 22.1 (5)	298.2 ± 30.1** (5)
Активность экто-АТФазы эритроцитов, мкмоль Ф _n /мин/мл эритроцитов	3.1 ± 0.2* (10)	4.8 ± 0.3 (7)	0.4 ± 0.02** (5)	1.6 ± 0.2** (5)	0.5 ± 0.02** (5)

Примечание. В скобках – число рыб в опыте; значимые различия между соотношениями соответствующих параметров крови разных видов рыб отмечены звездочкой (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

крови (мм³), отношение содержания гемоглобина к общей площади эритроцитарной поверхности у донных костистых рыб отличалось незначительно, и было в 2.7–3.8 раза больше, чем у ската *R. clavata* (табл. 3). Из чего следует, что этот показатель у представителей Teleostei можно охарактеризовать как константу, физиологический смысл которой будет рассмотрен несколько ниже.

Основного углеводного энергетического резерва – гликогена в эритроцитах – у ската содержалось в 1.5–2 раза меньше, чем у донных костистых рыб. У других исследованных видов этот показатель отличался незначительно. Крупные эритроциты *R. clavata* обладали высокой экто-АТФазной активностью, которая составляла 3.1 мкмоль Ф_n/мин/мл эритроцитов. Величина активности экто-АТФазы в эритроцитах костистых донных рыб колебалась от 0.4 до 4.8 мкмоль Ф_n/мин/мл эритроцитов (табл. 3). Самая высокая активность фермента среди костистых рыб отмечена в эритроцитах черноморской скорпены; у пятнистого звездочета этот показатель ниже в 3 раза, а у средиземноморского налима и зеленушки-рулены – ниже почти на порядок (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Все исследованные рыбы обитают в прибрежных акваториях Юго-Восточного Крыма. Скат *Raja clavata*, который относится к Chondrichthyes, значительно отличается от костистых рыб в плане общего анатомического, морфофункционального, осморегуляторного и биохимического устрой-

ства. Представителей Teleostei, выбранных для исследования, в соответствии с их подвижностью можно расположить в порядке убывания: *Crenilabrus tinca* > *Gaidropsarus mediterraneus* > *Scorpaena porcus* > *Uranoscopus scaber*. К постоянно живущим на дне рыбам относятся черноморская скорпена, пятнистый звездочет, средиземноморский налим и скат морская лисица. Зеленушка-рулена – маневренный вид, обитающий в толще воды. В связи с этим было интересно определить, какие морфофизиологические особенности дыхательной и сердечно-сосудистой систем могут обеспечить тот или иной уровень подвижности этих рыб и адаптивные реакции на динамично изменяющиеся условия прибрежной среды, а также выяснить взаимосвязь подвижности рыб с морфологическими и биохимическими параметрами эритроцитов этих видов.

Морфологические показатели жабр и сердца занимают важное место в системе оценки энергетического потенциала рыб. Согласно современным представлениям линейно-весовые показатели жаберного аппарата рыб играют решающую роль в транспорте кислорода (Матей, 1996). Размерно-весовые характеристики жабр позволяют провести межвидовое сравнение способности органа к обеспечению газообмена у рыб. Определение индекса сердца помогает оценить примерную мощность этого органа как насоса в прокачке крови и скорости доставки извлеченного жабрами кислорода к тканям и органам рыб.

Морская лисица *R. clavata* – рыба с не очень мощным сердцем и со слабым жаберным аппаратом (табл. 1). Индекс жабр *R. clavata* аналогичен

индексу малоподвижного *U. scaber*, для которого характерны самые низкие значения этого показателя среди костистых рыб. Однако скаты не испытывают проблем с извлечением растворенного в воде кислорода. Это происходит благодаря активной вентиляции жаберного аппарата, осуществляемой путем нагнетания воды парой жаберных щелей (брызгалец), расположенных позади глаз. Кроме того, обмениваться газами со средой скатам помогает кожное дыхание, величина которого у этого вида и других донных рыб может составлять 10–20% в зависимости от степени гипоксии среды (Костоусов, 2018).

У ската, как и у костистых рыб, двухкамерное сердце, но отличительной особенностью его функционирования является активная работа артериального конуса. Сердечный конус скатов состоит из поперечнополосатых мышц, благодаря чему он способен к пульсации, позволяющей увеличивать скорость продвижения крови (Иванов, 2003). Несмотря на скромные характеристики индексов сердца, и жаберного аппарата, *R. clavata* нельзя отнести к пассивным обитателям морского дна. Скот активно охотится и совершает миграционные перемещения на черноморском шельфе. Благодаря крупным капиллярам, движение крови *R. clavata* происходит при низком давлении, которого вполне достаточно для обеспечения кислородом тканевых потребностей этих донных рыб. Низкий гематокрит у ската и других донных видов также может быть адаптацией, которая снижает потребление кислорода собственно эритроцитами рыб. Исследователи обращают мало внимания на этот момент, но, в отличие от млекопитающих, эритроциты которых являются строгими анаэробами, ядерные эритроциты рыб для поддержания своего метаболизма активно потребляют кислород и по скорости его потребления вполне сравнимы с метаболизмом белых мышц рыб (Силкин и др., 2017а).

Среди исследованных рыб самые крупные линейные размеры эритроцитов отмечены у ската *R. clavata* (табл. 2). Движение таких крупных эритроцитов в капиллярах неизбежно должно вызывать определенные сложности ввиду больших деформационных нагрузок на клетки. Тем не менее, они эффективно осуществляют газообмен в тканях. Благодаря большому объему клетки и относительно маленькому объему ядра, эритроциты ската обладают самым большим цитоплазматическим пространством, которое в 5–15 раз больше, чем у костистых рыб. Однако количество гемоглобина и гликогена в таком объеме цитоплазматического пространства оказалось самым низким среди исследованных особей. Низкий уровень содержания гликогена, обеспечивающего относительную метаболическую автономность эритроцитов ската, свидетельствует о достаточно благополучном и разнообразном питании этих

рыб. Низкое содержание гемоглобина может указывать на невысокие емкостные характеристики крови (количество кислорода, связываемое единицей объема крови). Однако общие площади поверхностей, как одного эритроцита *R. clavata* (табл. 2), так и эритроцитов в единице объема крови, были самыми высокими среди исследованных рыб и не могли не сказаться на показателе количества гемоглобина, приходящегося на единицу общей поверхности аналогичного объема крови (табл. 3). У *R. clavata* этот показатель самый низкий (0.0185 г/мм²) и сопоставим с таковым у пресноводных костистых рыб (Maciak, Kostecka-Murcya, 2011). Низкий показатель гемоглобина на единицу площади у пресноводных костистых рыб связан с высоким количеством эритроцитов крови, а у ската малые значения этого параметра определяются низким гемоглобином, большой величиной эритроцитарной площади и в 5 раз меньшим числом эритроцитов.

Основываясь на размерных характеристиках органов исследованных рыб (табл. 1), можно заключить, что у малоподвижной *S. porcus* органы, извлекающие кислород из воды (жабры) и доставляющие его в организм (сердце), обладают несколько большей массой, чем у других донных видов рыб, что дает скорпене бесспорные преимущества. Действительно, *S. porcus* обладает феноменальными способностями переносить гипоксию, резкие перепады температуры, голодание, гипербарии и другие факторы природного и антропогенного происхождения (Силкин и др., 2018). Газотранспортная система этого вида на тканевом уровне максимально эффективно приспособлена к изменению концентрации кислорода в воде. Это стало возможным благодаря идеальному сочетанию невысокой двигательной активности и достаточно высоко сбалансированной способностью ее газотранспортного комплекса к переносу кислорода. Показано, что у высокоактивной прибрежной рыбы *Diplodus vulgaris*, весившей 96 г, величина поглощения кислорода на единицу массы составила 107 мл/кг, что трехкратно превышает этот показатель (29 мл/кг) у малоактивной *S. porcus* весом 98 г (Джелинео, 1966). Автор подчеркнул, что подвижность рыб коррелирует с концентрацией гемоглобина.

У черноморской скорпены размеры эритроцитов и их ядер почти в 2 раза больше, чем у других, более активных, донных видов, количество эритроцитов и гемоглобина существенно меньше, а уровень гликогена – выше. Низкий уровень гемоглобина находится в соответствии с небольшим количеством эритроцитов и низкой двигательной активностью этого вида. Крупные линейные размеры эритроцитов *S. porcus* свидетельствуют о большей емкостной способности отдельной клетки к переносу кислорода. Однако если судить о потенциальных возможностях кислородного транспор-

та сердечно-сосудистой системы черноморской скорпены, то ее вряд ли можно считать высокопродуктивной.

Самое высокое содержание гликогена, отмеченное в эритроцитах *S. porcus*, может свидетельствовать о больших перепадах уровня глюкозы в крови, возникающих из-за нестабильности поступления пищи и длительных перерывов в питании в зимний период, которые могут составлять от 6 до 16 суток (Световидов, 1964). С другой стороны, высокий уровень гликогена может указывать на высокую автономность эритроцитов и их способность использовать внутриклеточный гликоген для своих энергетических потребностей, что особенно актуально при падении уровня глюкозы в крови в случае длительного голодания.

Вторые по величине жабры принадлежат зеленушке-рулене и обеспечивают ей достаточно комфортное существование в прибрежной зоне. Однако *C. tinca* отличается от черноморской скорпены наличием самого малого индекса сердца (0.04), что указывает на невысокую способность сердечной мышцы к интенсивной работе. Вероятно, по этой причине *C. tinca* не может быстро плавать и демонстрирует не очень высокую способность к поглощению кислорода. Известно, что скорость поглощения кислорода при спонтанной активности у близкого вида – коричневого губана *Labrus merula* – не превышает 65 мл/кг (Джелинео, 1966). Это лишь в 2 раза выше, чем у *S. porcus*, что не позволяет отнести зеленушку-рулену к высокоактивным видам рыб. Среди исследованных рыб самые малые эритроциты, имеющие самые крупные ядра, характерны для зеленушки-рулены (табл. 2). Такое сочетание размерных характеристик клетки и ядра говорит о малом полезном объеме цитозоля в эритроците. Количество эритроцитов у *C. tinca* в 2 раза выше, чем у *S. porcus*, а количество гемоглобина больше только на 26% (табл. 3), что свидетельствует о низком содержании гемоглобина в одном эритроците. Как и у черноморской скорпены, высокая концентрация гликогена, найденная в эритроцитах *C. tinca*, указывает на скудность питания этого вида и способность его эритроцитов к автономному энергетическому существованию.

Согласно нашим исследованиям, средиземноморский налим *G. mediterraneus* наделен очень сбалансированными величинами индексов жабр и сердца. Индекс сердца у налима практически такой же, как у *S. porcus*, а индекс жабр на 74% меньше (табл. 1). Вероятно, более низкий индекс жаберного аппарата отражает низкую способность к перенесению гипоксии, которая может компенсироваться незначительной двигательной активностью, свойственной *G. mediterraneus*, как ночному хищнику. По спонтанной двигательной активности этот вид нельзя отнести к активным

формам. Однако низкая двигательная активность *G. mediterraneus* и подобных ему видов не является признаком их малоподвижности. По меткому выражению В. Беляева и его соавторов, это рыбы, производящие малый объем работы (Беляев и др., 1983). Наличие относительно мощного сердца позволяет им резко нарастить объемы транспортируемого кислорода икратно увеличить метаболизм в тканях. Высокому уровню доставки кислорода способствуют также самое большое количество эритроцитов и высокий уровень гемоглобина в крови *G. mediterraneus* (табл. 3). Кроме того, у этого вида рыб хорошо развиты способности к гипоксическому использованию гликогена при совершении мощных и стремительных бросков для захвата жертвы. Такая стратегия обеспечивает им успешную охоту, а малый объем работы позволяет держать на низком уровне общие метаболические расходы. К тому же достаточно высокая концентрация гликогена в клетках обеспечивает стабильность на частую гипогликемию, связанную с сезонной и суточной активностью охоты в прибрежье. Исходя из этих соображений, феномен малоподвижности необходимо рассматривать как особую форму адаптации, которая позволяет этим рыбам успешно выживать в прибрежной акватории моря.

Среди исследованных рыб самые низкие значения жаберного индекса отмечены у пятнистого звездочета *U. scaber*. Индекс сердца у него также низок и сопоставим с индексом сердца у *C. tinca*. Такие показатели являются отражением истинной малоподвижности, присущей этой рыбе, которая крайне редко покидает свое убежище – углубление, вырытое в песчаном грунте. Стратегия *U. scaber* определяется способностью привлекать к себе жертв (в основном мелкую рыбу) электромагнитными импульсами и ложно выбрасываемой изо рта складкой верхней губы, напоминающей полихету, сводя к минимуму движения при захвате жертвы. Спонтанная активность его чрезвычайно низка и в некоторых случаях не превышает 1.4 м/час (наши данные), что совпадает с величиной двигательной активности *Arnoglossus boscii* (Джелинео, 1966). Потребление кислорода у *U. scaber*, вероятно, тоже низкое и, возможно, сопоставимо с поглощением кислорода у *A. boscii*, которое равно 26 мг/кг (Джелинео, 1966). Размеры эритроцитов *U. scaber* и *G. mediterraneus* практически одинаковы (табл. 2), и количество эритроцитов у пятнистого звездочета лишь немного уступает количеству красных клеток крови у *G. mediterraneus*. Однако эти различия компенсируются самым высоким содержанием гемоглобина в клетках крови *U. scaber*. В этом смысле наши результаты находятся в противоречии с мнением, что высокий гемоглобин свойственен только высокоактивным рыбам (Белокопцын, Ракицкая, 1981). Согласно полученным нами данным, эрит-

роциты пятнистого звездочета отличаются низким содержанием гликогена, что свидетельствует о достаточно регулярном питании, которому, несомненно, способствует “военная” хитрость, применяемая этой рыбой при поимке жертвы.

Количество кислорода, переносимого эритроцитами в единицу времени, зависит от скорости кровотока (Nikinmaa, 2002), а эффективность обмена газов находится под влиянием скорости потока воды через жабры (Wieser, 1991). Этот механизм перекрестного газообмена у рыб столь совершенен, что обеспечивает достаточное время контакта эритроцитов с кислородом независимо от скорости кровотока в жабрах (Kostelecka-Myrcha, 1997; 2002). Благодаря этому у пресноводных рыб, даже приспособленных к разным эколого-физиологическим условиям, количество гемоглобина на единицу поверхности эритроцитов в 1 мм^3 крови, которое отражает эффективность насыщения гемоглобина кислородом, поддерживается на относительно постоянном уровне ($0.021\text{--}0.04 \text{ рг/мм}^2$) (Maciak, Kostelecka-Myrcha, 2011). Согласно нашим данным, у морских костистых рыб соотношение гемоглобина (Hb) на единицу поверхности эритроцитов в 1 мм^3 крови было в 2–3 раза выше, чем у пресноводных костистых рыб (табл. 3), и только у *R. clavata*, представителя Chondrichthyes, совпадало с данными по пресноводным рыбам. Низкие значения этого показателя у пресноводных рыб, возможно, являются свидетельством того, что, по сравнению с океанами и морями, колебания парциального напряжения кислорода в пресных водоемах имеют большую лабильность. Это может вызывать общее увеличение количества эритроцитов в крови. В таком случае более высокие значения отношения содержания гемоглобина к площади эритроцитарной поверхности в 1 мм^3 крови (Hb/RBCxS_c) ($0.05\text{--}0.071 \text{ рг/мм}^2$) (табл. 3) у морских донных Teleostei можно объяснить более стабильным содержанием кислорода в морской среде.

Активность экто-АТФазы эритроцитов у *C. tinca* и *G. mediterraneus* на порядок ниже, чем у *S. porcus*, и в 3–4 раза выше, чем у *U. scaber* (табл. 3). Установлено, что величина активности экто-АТФазы четко коррелировала с размерами эритроцитов рыб. Отмечено, что активность экто-АТФазы у оседлых, малоподвижных рыб (*R. clavata*, *S. porcus* и *U. scaber*), которые сталкиваются в прибрежье с низкими температурами ($4\text{--}8^\circ\text{C}$), была выше, чем у других исследованных видов. Ранее на основании результатов широкого скрининга активности экто-АТФазы у 34 видов, относящихся к шести классам позвоночных от рыб до млекопитающих, установлено, что активность экто-фермента в эритроцитах варьировала в широком диапазоне (Bencic et al., 1997). Различия в активности достигали шести порядков. Авторы исследования не

установили причин такой большой вариации ферментативной активности поверхностно-локализованной АТФазы. Внимательно проанализировав эти данные, мы обнаружили, что все эритроциты с высокой активностью экто-АТФазы были крупными клетками, а животные с высокой активностью экто-ферментов эритроцитов характеризовались высокой адаптивной способностью к перенесению низких температур. Функциональное назначение экто-АТФаз неизвестно. Мы предположили, что способность некоторых животных переносить низкие температуры может обеспечиваться за счет тепловой энергии гидролиза экто-АТФаз, которая поддерживает минимальную функциональную активность кровотока, обеспечивая преимущественную возможность занимать северные широты, недоступные видам, эритроциты которых обладают невысокими теплопродукционными способностями. Эта тепловая энергия может также лежать в основе эффекта Фареуса-Линдквиста и обеспечивать 20-кратное различие вязкостных характеристик крови в капиллярах диаметром меньше 300 мкм (Katiukhin, 2014). Она же позволяет изменять вязкоэластичные свойства мембраны крупных эритроцитов, давая им возможность легко преодолевать капиллярный отдел кровотока, что обеспечивает эффективность газотранспортной функции крови рыб, особенно обитателей донных биоценозов (Силкин и др., 2014, 2017б; Силкин, Силкина, 2017).

Таким образом, донные рыбы, обитающие в прибрежной акватории Юго-Восточного Крыма, обладают рядом общих и индивидуальных адаптивных приспособлений на морфологическом и физиолого-биохимическом уровнях. Высокие значения жаберного индекса *S. porcus* и *G. mediterraneus* свидетельствуют о высоком потенциале к извлечению кислорода при экстремальных состояниях, а высокий индекс сердца указывает на эффективные транспортные возможности кровеносной системы этих рыб. Такое сочетание индексов сердца и жаберного аппарата можно рассматривать как адаптацию, позволяющую успешно осваивать экологические ниши среды обитания недоступные менее приспособленным к гипоксии видам рыб. У других донных рыб низкие возможности дыхания и сердечной мышцы компенсировались крайне низкой спонтанной двигательной активностью, как у пятнистого звездочета, или размеренной активностью, как у ската и зеленушки-рулены.

Эритроциты представителя Chondrichthyes (ската) – самые крупные среди исследованных рыб, они в несколько раз превосходили эритроциты костистых рыб по площади поверхности и по внутриклеточному объему. Несмотря на большое цитоплазматическое пространство, эритроциты у *R. clavata* и *S. porcus* содержали низкое количество гемоглобина. Количество гемоглобина

на единицу поверхности эритроцита, отражающее эффективность насыщения гемоглобина кислородом, у исследованных костистых рыб варьировало незначительно, и было в 2.7–3.8 раза выше, чем у ската, и в 2–3 раза выше, чем у пресноводных костистых рыб. Низкая насыщенность гемоглобина кислородом в эритроцитах пресноводных костистых рыб может быть связана с большим колебанием парциального напряжения кислорода пресных водоемов. В пользу этого предположения свидетельствует высокий гематокрит крови пресноводных видов рыб, более чем в 2 раза превышающий таковой черноморских донных рыб. Низкий гематокрит у *R. clavata* и *S. porcus* также можно рассматривать как адаптацию к гипоксии, направленную на экономию расходов кислородного потребления на собственные потребности крови.

Внутриклеточная концентрация гликогена, характеризующая степень независимости эритроцита от перепадов гликемии, была самой высокой в красных клетках *S. porcus*, а самой низкой — в эритроцитах *R. clavata* и *U. scaber*. Низкий уровень гликогена в эритроцитах характерен для рыб, не испытывающих больших периодов голодания и более удачливых в добыче пищи.

Активность экто-АТФазы в крупных эритроцитах донных рыб *R. clavata*, *S. porcus* и *U. scaber* была выше, чем в мелких красных клетках средиземноморского налима и зеленушки-рулены. Это подтверждает предположение об использовании эритроцитами тепловой энергии гидролиза внеклеточного АТФ для “подогрева” собственной мембраны, позволяющего изменить реологические характеристики крови в капиллярном отделе кровотока.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания, тема № 075-00744-21-00 “Изучение фундаментальных физических, физиолого-биохимических, репродуктивных, популяционных и поведенческих характеристик морских гидробионтов”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреева А.Ю. Морфофункциональные характеристики эритроцитов *Scorpaena porcus* L. в условиях гипоксии // Автореф. дис. к. б. н. СПб. 2014. 22 с.
- Беляев В.И., Николаев В.М., Шульман Г.Е., Юнева Т.В. Тканевый обмен у рыб. Киев: Наукова думка. 1983. 144 с.
- Белокопытин Ю.С., Ракицкая Л.В. Гематологические показатели морских рыб разной экологии — ставриды *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev и барабули *Mullus barbatus ponticus* Essipov в покое и при мышечной нагрузке // Вопр. ихтиологии. 1981. Т. 21. Вып. 3. С. 504–511.
- Джелинео С. Активность морских рыб и концентрация гемоглобина у них (под ред. А.А. Нейман “Экология водных организмов”). М.: Наука. 1966. С. 155–161.
- Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Середняков В.Е., Нестерова Т.А. Экологическая пластичность гематологических показателей пресноводных костистых рыб // Физиология и биохимия водных животных. Тр. ИБВВ РАН. 2015. Вып. 72 (75). С. 16–30.
- Иванов А.А. Физиология рыб. М.: Мир. 2003. 284 с.
- Косачев В.С., Кошевой Е.П., Сергеев А.А., Миронов Н.А. Процессы переноса в телах эллипсоидной конфигурации // Науч. журн. НИУ ИТМО, серия “Процессы и аппараты пищевых производств”. 2010. Вып. 1 (9). С. 1–7.
- Костоусов В.Г. Ихтиология. Минск: БГУ. 2018. 183 с.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа. 1990. 352 с.
- Матей В.Е. Жабры пресноводных костистых рыб: морфофункциональная организация, адаптация, эволюция. СПб.: Наука. 1996. 204 с.
- Световидов А.Н. Рыбы Черного моря. М.-Л.: Наука. 1964. 551 с.
- Силкин Ю.А., Коротков С.М., Силкина Е.Н. Исследование биоэнергетических особенностей эритроцитов черноморских рыб — морского kota (*Dasyatis pastinaca* L.) и скорпены (*Scorpaena porcus* L.) // Биофизика. 2017а. Т. 62. Вып. 3. С. 540–546.
- Силкин Ю.А., Силкина Е.Н. Влияние гипоксии на физиолого-биохимические показатели крови некоторых морских рыб // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2005. Т. 41. № 5. С. 421–425.
- Силкин Ю.А., Силкина Е.Н. Роль экто-АТФаз плазматических мембран эритроцитов в гемодинамике рыб // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2017. Т. 53. № 1. С. 62–74.
- Силкин Ю.А., Силкина Е.Н., Столбов А.Я. Анализ тепловых явлений в эритроцитах скорпены (*Scorpaena porcus* L.) // Биофизика. 2014. Т. 59. Вып. 6. С. 1097–1100.
- Силкин Ю.А., Столбов А.Я., Силкина Е.Н., Силкин М.Ю. Динамика теплопродукции эритроцитов скорпены *Scorpaena porcus*, Linnaeus, 1758 (*Scorpaeni-formes*) *in vitro* // Биол. моря. 2017б. Т. 43. № 2. С. 133–138.
- Силкин Ю.А., Силкина Е.Н., Столбов А.Я., Силкин М.Ю. Влияние гипоксии, гипербарии и гипосмотических условий на активность экто-АТФазы эритро-

- цитов скорпены (*Scorpaena porcus* L.) // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2018. Т. 54. № 5. С. 346–354.
- Силкин Ю.А., Силкина Е.Н., Силкин М.Ю. Гликоген как запасающий энергетический субстрат ядерных эритроцитов рыб // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2021. Т. 57. № 1. С. 61–68.
- Смирнов В.С., Добринская Л.А., Рыжков Л.П. и др. Применение метода морфофизиологических индикаторов в экологии рыб // Тр. СевНИОРХ. Петрозаводск: Карелия. 1972. 168 с.
- Солдатов А.А., Русинова О.С., Трусевич В.В., Звездина Т.Ф. Влияние гипоксии на биохимические показатели эритроцитов скорпены // Укр. биохим. журн. 1994. Т. 66. № 5. С. 115–118.
- Солдатов А.А., Парфенова И.А. Уровень метгемоглобина в крови и устойчивость циркулирующих эритроцитов скорпены *Scorpaena porcus* L. К осмотическому шоку в условиях экспериментальной гипоксии // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2001. Т. 37. № 1. С. 21–30.
- Bencic D.C., Yates T.J., Ingerman R.L. Ecto-ATPase activity of vertebrate blood cells // *Physiol. Zool.* 1997. V. 70. № 6. P. 621–630.
- Katiukhin L.N. About a mechanism of the Fåhræus-Lindqvist effect // *J. Blood Disord. Transf.* 2014. V. 5. № 5. P. 211–213.
- Kostelecka-Myrcha A. The ratio of amount of haemoglobin to total surface area of erythrocytes in birds in relation to body mass, age of nestling, and season of the year // *Physiol. Zool.* 1997. V. 70. P. 278–282.
- Kostelecka-Myrcha A. The ratio of amount of haemoglobin to total surface area of erythrocytes in mammals // *Acta Theriol.* 2002. V. 47. № 1. P. 209–220.
- Maciak S., Kostelecka-Myrcha A. Regularities of variation of the red blood indices characterizing the respiratory function of blood in selected fish // *Zool. Pol.* 2011. V. 56. № 1–4. P. 35–48.
- Nikinmaa M. Oxygen-dependent cellular functions – why fishes and their aquatic environment are a prime choice of study // *Comp. Biochem. Physiol.* 2002. V. 133A. P. 1–16.
- Wieser W. Physiological energetics and ecophysiology // *Cyprinid fishes: systematics, biology and exploitation / Eds I.J. Winfield, J.S. Nelson. London: Chapman & Hall. Fish and Fisheries Series 1991. V. 3. P. 426–455.*

Dimensional and Physiological-Biochemical Parameters of Erythrocytes and Gill and Heart Indices in Some Benthic Fish of the Black Sea Coast of the Southeastern Crimea

Yu. A. Silkin^a, E. N. Silkina^a, M. Yu. Silkin^a, and V. N. Chernyaeva^a

^a*T.I. Vyazemsky Karadag Scientific Station – Nature Reserve, Branch of Institute of Biology of Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Feodosiya 298100, Russia*

The dimensional and physiological-biochemical parameters of erythrocytes, as well as the gill and heart indices were studied in five species of marine benthic fish. The black scorpionfish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 and the shore rockling *Gaidropsarus mediterraneus* Linnaeus, 1758 differed from the other species in a larger mass of the heart and gill apparatus, which indicates more efficient transport capabilities of the circulatory system of these fish. The linear size characteristics of erythrocytes of a cartilaginous fish, the thornback ray *Raja clavata* Linnaeus, 1758, were 1.5–2 times higher than those of erythrocytes of *S. porcus*, which were the largest among the studied teleosts. The sizes of erythrocytes of three other teleost species differed insignificantly. The amount of hemoglobin per unit surface area of erythrocyte, which reflects the efficiency of hemoglobin saturation with oxygen, insignificantly varied (0.05 to 0.071 pg/mm²) among the bony fish studied. In contrast, in the thornback ray this parameter was 2.7–3.8 times lower. The intracellular glycogen concentration, which characterizes the degree to which the erythrocyte is independent of glycemic fluctuations, was highest in cells of *S. porcus* (305.2 ± 35.1 mg %), while it was lowest in erythrocytes of the thornback ray *R. clavata* (142.8 ± 15.1 mg %). The ecto-ATPase activity was higher in large erythrocytes of *S. porcus*, *R. clavata*, and *Uranoscopus scaber* (4.8, 3.1, and 1.6 μmol P_{in}/min/mL of erythrocytes, respectively) than in smaller erythrocytes of *Crenilabrus tinca* and *Gaidropsarus mediterraneus* (0.5 and 0.4, μmol P_{in}/min/mL of erythrocytes, respectively). This confirms the assumption that erythrocytes use the thermal energy from hydrolysis of extracellular ATP to “warm up” their own membrane, which leads to the change in the rheological characteristics of blood in the capillary blood flow.

Keywords: benthic fish, heart and gill indices, erythrocyte sizes, hemoglobin, glycogen, ecto-ATPase

УДК 594.1+576.3

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ГЕМОЛИМФЫ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANADARA BROUGHTONII* (SCHRENCK, 1867) (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

© 2023 г. Е. С. Кладченко¹*, Т. А. Кухарева¹, В. Н. Рычкова¹, Э. С. Челебиева¹, А. Ю. Андреева¹

¹Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь 299011, Россия

*e-mail: kladchenko_ekaterina@bk.ru

Поступила в редакцию 30.08.2022 г.

После доработки 09.01.2023 г.

Принята к публикации 26.01.2023 г.

Клетки гемолимфы анадары Броутона *Anadara broughtonii* исследовали с помощью световой микроскопии, проточной цитометрии и градиентного центрифугирования. Все три метода анализа позволили идентифицировать в гемолимфе двустворчатого моллюска *A. broughtonii* два основных типа клеток – крупные гранулярные эритроциты и небольшие агранулярные амебоциты. Эритроциты составили $95.6 \pm 0.9\%$ от общего количества клеток гемолимфы. Эритроциты представляли собой гемоглобин-содержащие клетки с большим числом гранул в цитоплазме, низким ядерно-цитоплазматическим отношением (ЯЦО) и более низкой интенсивностью клеточного дыхания по сравнению с амебоцитами. Амебоциты – клетки преимущественно неправильной формы с высоким ЯЦО, не содержащие или содержащие не более 10 гранулярных включений в цитоплазме. Все типы гемоцитов, обнаруженные в гемолимфе анадары, продемонстрировали одинаковую способность к спонтанной продукции активных форм кислорода. Впервые показано, что эритроциты анадары Броутона способны к фагоцитозу, однако они поглощали в среднем в 2 раза меньше частиц зимозана (5.3 ± 0.1 шт.), чем амебоциты (10.3 ± 0.7 шт.).

Ключевые слова: анадара, гемоциты, фагоцитоз, активные формы кислорода

DOI: 10.31857/S0134347523030087, **EDN:** SBJWRE

Двустворчатый моллюск анадара Броутона *Anadara broughtonii* (Schrenck, 1867) – массовый вид и ценный объект прибрежного промысла в Приморском крае Российской Федерации (Афейчук, 2021). Несмотря на широкое распространение анадары, экономическая эффективность ее разведения может зависеть от факторов окружающей среды. Стрессовые факторы в первую очередь способствуют подавлению наиболее энергозатратных функций организма, таких как способность к иммунному ответу. Колебания температуры воды, солености и концентрации кислорода, а также патогены и загрязнения могут стать причиной вспышки заболеваний на фермах и массовой гибели моллюсков (Rosa et al., 2015; Parisi et al., 2017). Для снижения рисков негативного влияния абиотических, биотических и антропогенных факторов среды на продуктивность хозяйств марикультуры необходимо на регулярной основе контролировать не только численность, но и физиологический статус моллюсков, в частности состояние их иммунной системы.

Гемоциты как клетки, участвующие в транспорте веществ, пищеварении, заживлении тканей

и неспецифическом клеточном иммунном ответе, являются общепринятым модельным объектом для оценки общего функционального статуса организма двустворчатых моллюсков (Анисимова, 2013; Mello et al., 2012; Bachère et al., 2015; Mattozzo et al., 2016). Наиболее целесообразна комплексная оценка показателей неспецифического иммунитета (Kolyuchkina, Ismailov, 2011; Novoa, Figueras, 2012; Gerdol et al., 2018), проводимая с применением методов проточной цитометрии и световой микроскопии (Allam et al., 2002; Travers et al., 2008). Проточная цитометрия позволяет быстро оценить функциональные характеристики гемоцитов, такие как уровень генерации активных форм кислорода (АФК), фагоцитарная активность, скорость пролиферации и т.д. Вместе с тем для интерпретации результатов исследования необходима четкая классификация клеток гемолимфы, основанная не только на морфологической, но и на функциональной характеристике гемоцитов.

Клеточные типы гемолимфы стали предметом обсуждений в 1970-х годах, однако до настоящего времени нет единого мнения об их классифика-

ции (De la Ballina et al., 2022). Клеточный состав гемолимфы двустворчатых моллюсков и морфофизиологические особенности гемоцитов могут варьировать в достаточно широком диапазоне как среди представителей одного семейства, так и среди особей одного вида, что следует учитывать при анализе и интерпретации данных (Cao et al., 2003; Donaghy et al., 2009; Andreyeva et al., 2019; Kim et al., 2020; Kladchenko et al., 2022). Это разнообразие частично можно объяснить истинными межвидовыми различиями, но в большинстве случаев оно скорее связано с отсутствием унификации критериев и экспериментальных схем. В преобладающем числе работ выделение тех или иных типов гемоцитов основано на морфологических особенностях клеток, а именно гранулярности или окраске цитоплазмы (базофильной или эозинофильной) (Анисимова, 2013; Funakoshi, 2000; De la Ballina et al., 2022; Fonseca et al., 2022).

Ряд авторов выделяют дополнительные подтипы, основываясь на размерных характеристиках клеток, например, малые, средние и крупные гемоциты (Присный и др., 2011; Ford et al., 1994; De la Ballina et al., 2022). Функциональная характеристика гемоцитов, хотя и является предметом изучения, выбирается авторами в качестве основного критерия для их классификации лишь в некоторых работах. Комбинация классического морфологического подхода с методом проточной цитометрии и дальнейшее сопоставление морфофункциональных особенностей гемоцитов у разных видов *Vivalvia* могут стать фундаментальной основой для общей номенклатуры клеток гемолимфы двустворчатых моллюсков.

С точки зрения классификации гемоцитов *Vivalvia* наиболее “проблемной” группой являются представители семейства Arcidae. Сведения о клетках их гемолимфы фрагментарны, и большинство данных ограничивается описанием морфотипов гемоцитов на основании световой и электронной микроскопии (Cohen, Nemhauser, 1980; Holden et al., 1994; De Zwaan et al., 1995; Novitskaya, Soldatov, 2013; Zhou et al., 2013, 2017, 2019; Nameed et al., 2018). В зависимости от выбранного критерия, у гемоглобин-содержащих моллюсков выделяли от 2 до 5 типов клеток (Rodrick, Ulrich, 1984; Holden et al., 1994; Kolyuchkina, Ismailov, 2011; Dang et al., 2013; Zhou et al., 2013, 2017, 2019; Nameed et al., 2018; Kim et al., 2020). Отдельно стоит отметить подход к классификации гемоцитов *A. broughtonii* Чжоу с соавторами (Zhou et al., 2013, 2017, 2019), которые провели идентификацию типов клеток в гемолимфе *Scapharca broughtonii* (= *A. broughtonii*) по аналогии с классификацией клеток крови позвоночных, выделив 3 типа — эритроциты, лейкоциты и тромбоциты. Прямое сопоставление морфологических и функциональных характеристик гемоцитов представителей семей-

ства *Arcidae* с особенностями системы крови позвоночных можно объяснить наличием гемоглобина в эритроцитах анадары. На этом основании ряд авторов приходит к выводу, что основной функцией эритроцитов анадары, как и эритроцитов позвоночных, является транспорт кислорода, при этом исключается их роль в иммунном ответе (Dang et al., 2013; Kim et al., 2020; De la Ballina et al., 2022). Однако, согласно литературным данным, доля эритроцитов у анадары составляет более 80% от общего числа гемоцитов (Dang et al., 2013). У двустворчатых моллюсков отсутствует специфический иммунитет, поэтому маловероятно, что преобладающий тип клеток не задействован в иммунном ответе.

Слабая изученность функциональной роли клеток гемолимфы анадары и отсутствие оценки степени участия гемоцитов в реализации иммунного ответа определили цель настоящей работы — исследовать особенности морфологии и функциональной специализации клеток гемолимфы *A. broughtonii*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Взрослых особей *Anadara broughtonii* обоих полов (длина створки 80.5 ± 9.0 мм, масса 216.5 ± 12.9 г, $n = 15$) отлавливали в прибрежной зоне зал. Петра Великого, Японское море (42.46° N, 131.51° E) в июне 2021 г. Для акклиматизации к лабораторным условиям моллюсков помещали на 7 сут в 50-литровые аквариумы с искусственной морской водой (соленость $33.0 \pm 0.5\text{‰}$) и содержали при температуре воды $15 \pm 1^\circ\text{C}$, pH 8.0 и концентрации растворенного кислорода 7.9–8.3 мг $\text{O}_2/\text{л}$. Гемолимфу (2–4 мл) отбирали из экстрапалиальной полости моллюсков. В работе использовали индивидуальные образцы клеток. После забора образцы гемолимфы немедленно помещали в стерильные пластиковые пробирки. Все манипуляции с клетками проводили при температуре 4°C для предотвращения склеивания и агрегации гемоцитов. Образцы гемолимфы отфильтровали от крупных фрагментов и агрегатов (диаметр ячейки фильтра 20 мкм, Minisart® PA, Sartorius, Германия) и центрифугировали в рефрижераторной центрифуге Eppendorf 5430R (Германия) (500 g, 5 мин). Клетки трижды отмывали от плазмы в эквивалентном объеме стерильной морской воды (500 g, 5 мин). По окончании отмывки часть (1–2 мл) концентрированных клеток гемолимфы моллюсков использовали для приготовления мазков и разделения клеток в градиенте плотности для последующего морфометрического анализа. Оставшуюся часть гемоцитов ресуспендировали в стерильной морской воде (концентрация клеток $2\text{--}4 \times 10^6$ кл/мл) для анализа методом проточной цитометрии.

Метод оптической микроскопии

Окраску мазков проводили по комбинированному методу Паппенгейма. Мазки анализировали при помощи люминесцентного микроскопа Biomed PR-2 Lum (Россия), оборудованного камерой Levenhuk C NG Series (США). Диаметр клетки (без учета псевдоподий) и ядра измеряли в программе ImageJ 1.44 p. На каждом мазке подсчитывали минимум 1000 клеток. Ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{ЯЦО} = \frac{\text{Диаметр ядра}}{\text{Диаметр гемоцита}}.$$

Метод проточной цитометрии

Измерения проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США), оборудованном однофазным аргоновым лазером (длина волны 488 нм). Каждое измерение выполняли в трех повторностях. Для каждого измерения записывали 50000 событий. Об изменении характера флуоресценции красителей и светорассеяния клеток судили по безразмерным двухпараметрическим логарифмическим диаграммам в программе Kaluza Analysis 2.0.

Гемоциты дифференцировали от дебриса по интенсивности флуоресценции красителя SYBR Green I (Merck, Германия). Финальная концентрация красителя в пробе составила 10 мкМ, гемоциты соответствовали пику флуоресценции красителя. Окраску проводили в течение 30 мин в темноте при 4°C и анализировали на проточном цитофлуориметре. Для определения размеров гемоцитов прибор калибровали перед каждым анализом с помощью флуоресцентных латексных микрочастиц (Merck, Германия). Идентификацию типов гемоцитов анадары проводили на основании распределения клеток по величине условного размера (прямое светорассеяние, FS) и гранулярности (боковое светорассеяние, SS) на двухпараметрических точечных диаграммах.

Уровень спонтанной (нестимулированной) продукции АФК гемоцитами моллюсков анализировали на основании интенсивности окрашивания клеток красителем 2',7'-дихлорофлуоресцеин диацетат (DCF-DA) (Sigma-Aldrich, США); 1 мл суспензии гемоцитов инкубировали с 10 мкл раствора DCF-DA в течение 30 мин в темноте. Финальная концентрация красителя в пробе составила 10 мкМ. Интенсивность флуоресценции красителя анализировали в канале FL1.

Величину мембранного потенциала митохондрий определяли на основании оценки уровня флуоресценции гемоцитов, окрашенных флуоресцентным зондом родамин 123 (Rh123) (Sigma-Aldrich, США). Суспензию гемоцитов (1 мл) ин-

кубировали с 10 мкл Rh123 в течение 45 мин в темноте (финальная концентрация красителя в пробе составила 0.1 мг/мл). Интенсивность флуоресценции клеток оценивали в канале FL1 проточного цитофлуориметра.

Жизнеспособность гемоцитов определяли с использованием флуоресцентного красителя йодистого пропидия (PI) (Sigma-Aldrich, США). К 1 мл суспензии гемоцитов добавляли 10 мкл раствора PI и инкубировали в темноте в течение 30 мин при 4°C. Долю мертвых клеток в общем числе гемоцитов оценивали по гистограмме флуоресценции PI в канале FL2 проточного цитофлуориметра.

Метод конфокальной микроскопии

Для оценки способности гемоцитов фагоцитировать чужеродные частицы применяли флуоресцентно-меченый зимозан (Abcam, Великобритания). Интенсивность фагоцитоза оценивали согласно протоколу производителя. Суспензию гемоцитов (10 мкл) разводили в 90 мкл стерильной морской воды и инкубировали с раствором зимозана (40 мкл) в течение 90 мин при температуре 20°C в темноте. По окончании времени инкубации гемоциты трижды отмывали от частиц зимозана в эквивалентном объеме стерильной морской воды (5 мин, 400 g) и проводили прижизненную микрофотосъемку на конфокальном микроскопе Leica Stellaris 5 (Leica Microsystems, Германия). Фотосъемку осуществляли в проходящем свете с использованием флуоресцентного фильтра (488 нм), для визуализации границ клеток делали микрофотографии с помощью метода фазового контраста. На микрофотографиях визуально оценивали способность разных типов гемоцитов к фагоцитозу.

Метод градиентного центрифугирования

Разделение гемоцитов при помощи изоосмотического сорбента Percoll (Sigma-Aldrich, США) проводили согласно рекомендациям производителя путем создания градиента плотности и центрифугирования пробирок объемом 1.5 мл при 15000 g в течение 20 мин (центрифуга Eppendorf 5430R, Германия). После создания плотностного градиента (10, 20, 30 и 40% Percoll) поверх рабочего раствора сорбента в пробирки наслаивали 0.25 мл суспензии гемоцитов для последующего центрифугирования в течение 10 мин при 800 g. Слои клеток каждого градиента отбирали в отдельные пробирки объемом 1.5 мл. Отмывку гемоцитов от частиц сорбента производили в эквивалентном объеме стерильной морской воды в течение 10 мин при 200 g (3 раза). Полученные суспензии клеток каждой фракции анализировали на про-

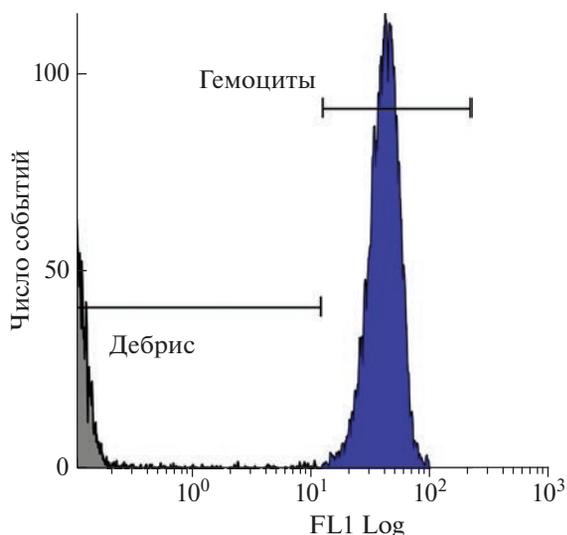


Рис. 1. Распределение гемоцитов двустворчатого моллюска *Anadara broughtonii*, окрашенных SYBR Green I, по содержанию ДНК: FL1 – интенсивность флуоресценции в канале FL1 проточного цитофлуориметра.

точном цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения RStudio версия 4.1.0. Нормальность распределения проверяли при помощи теста Колмогорова-Смирнова. Данные световой микроскопии подчинялись нормальному закону распределения, поэтому для выявления различий использовали дисперсионный анализ (ANOVA). Достоверность результатов проверяли при помощи критерия Тьюки с доверительным интервалом 95%. Данные по функциональным показателям гемоцитов не подчинялись нормальному закону распределения, поэтому их анализировали при помощи непараметрического критерия Манна–Уитни. Результаты выражали как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клеточный состав гемолимфы *Anadara broughtonii*

Гемоциты, согласно данным проточной цитометрии, имели высокий коэффициент вариации (CV) диплоидного пика ДНК – $22.1 \pm 1.2\%$ (рис. 1). Доля мертвых гемоцитов в образцах не превышала 2%.

В гемолимфе анадары с помощью цитометрического и микроскопического анализа идентифи-

цированы 2 типа клеток: амебоциты и эритроциты (рис. 2а). Амебоциты (рис. 2в) – клетки наименьшего размера с диаметром в пределах от 4.5 до 8 мкм (в среднем 6.2 ± 0.1 мкм) (рис. 3а). Они характеризовались высоким ЯЦО (0.6 ± 0.01) (рис. 3в), имели преимущественно округлую, реже амебовидную форму и ацентрично расположенное ядро диаметром 3.7 ± 0.1 мкм (рис. 3б), занимающее большую часть базофильной цитоплазмы. У некоторых клеток цитоплазма имела эозинофильную окраску, гранулы в цитоплазме большинства из них отсутствовали. Однако среди клеток встречались единичные амебоциты, содержащие до 10 гранулярных включений.

Наиболее крупные клетки гемолимфы – эритроциты (рис. 2б) – имели овальную, округлую либо амебовидную форму и базофильную цитоплазму, содержащую до 50 гранул. Средний диаметр клеток этого типа составил 16.1 ± 0.1 мкм, минимальный – 10 мкм, а максимальный – 24 мкм. Средний диаметр эритроцитов достоверно отличался от среднего диаметра амебоцитов ($p \leq 0.05$, $n = 15$) (рис. 3а). Небольшое относительно цитоплазмы округлое ядро эритроцитов (средний диаметр 3.9 ± 0.02 мкм) (рис. 3б), располагалось ацентрично (рис. 2б). ЯЦО составило 0.3 ± 0.002 (рис. 3в).

Методом проточной цитометрии также выявлены две субпопуляции клеток, которые достоверно отличались по показателям относительного размера и уровня гранулярности ($p \leq 0.05$, $n = 15$) (рис. 4). Согласно данным калибровки латексными микросферами, средний диаметр клеток субпопуляции 1 соответствовал 5–8 мкм. Эта субпопуляция, предположительно состоящая из амебоцитов, была гетерогенной по значениям FS и SS. Клетки, входящие в ее состав, имели диаметр меньший, чем клетки субпопуляции 2, и невысокий уровень гранулярности. Вытянутость облака распределения клеток по оси SS (рис. 2а) свидетельствует о большом разбросе уровня гранулярности клеток в субпопуляции. Доля амебоцитов в гемолимфе составила $4.4 \pm 0.9\%$. Субпопуляция 2 также была неоднородна по значениям прямого и бокового светорассеяния и имела сравнительно высокие значения показателя FS, что соответствовало среднему диаметру клеток 13–16 мкм. Клетки субпопуляции 2 были идентифицированы как эритроциты, их доля составила $95.6 \pm 0.9\%$ от общего числа клеток.

В результате центрифугирования в градиенте плотности Percoll в гемолимфе анадары выделены 2 фракции клеток (рис. 5). Нижняя фракция (40% Percoll), согласно микроскопическому анализу, сформирована преимущественно гранулярными клетками – эритроцитами, а верхняя (30% Percoll) – мелкими агранулярными клетками. В каждом слое присутствовали единичные клетки

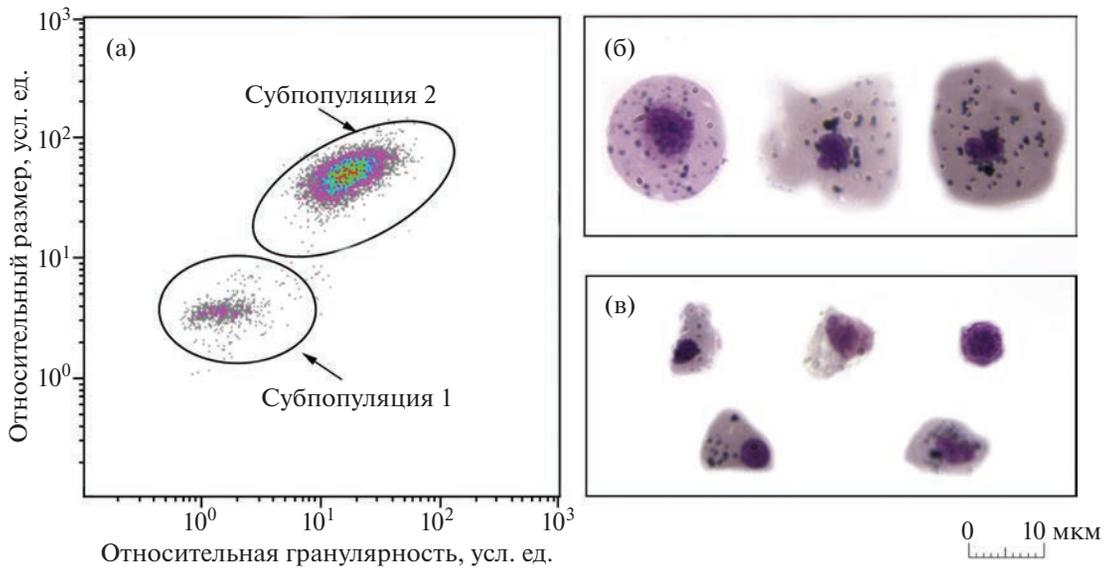


Рис. 2. Клеточный состав гемолимфы двустворчатого моллюска *Anadara broughtonii*: а – распределение клеток гемолимфы на основании прямого (относительный размер) и бокового (относительная гранулярность) светорассеяния, субпопуляции клеток выделены овалами и обозначены цифрами 1 и 2; б – микрофотографии эритроцитов; в – амебоцитов.

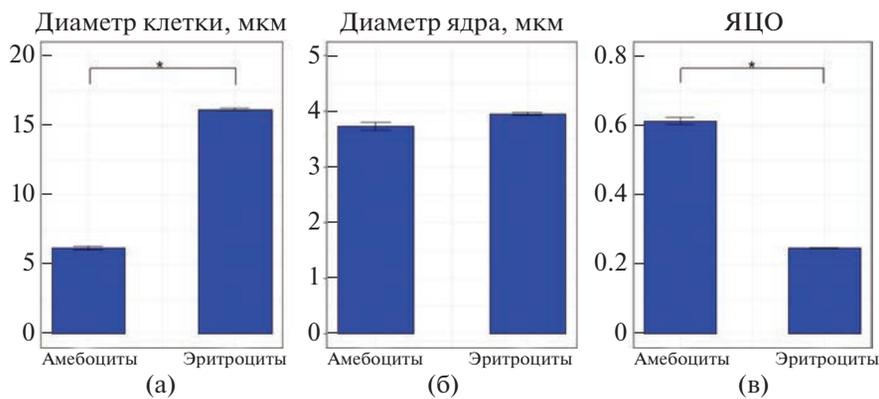


Рис. 3. Размерные характеристики (а – диаметр клетки, б – диаметр ядра, в – ЯЦО) клеток гемолимфы двустворчатого моллюска *Anadara broughtonii*. *Различия между группами достоверны при $p < 0.05$.

нетипичного размера: мелкие эритроциты обнаружены в верхнем градиентном слое, а крупные агранулоциты – в нижнем. Анализ методом проточной цитометрии каждой из двух фракций гемолимфы показал, что субпопуляция 1 на цитограммах соответствует клеткам верхней фракции, т.е. преимущественно амебоцитам, в то время как наиболее массовая субпопуляция 2 сформирована в основном эритроцитами из нижней фракции.

Функциональные показатели гемоцитов

Уровень продукции АФК, который оценивали по флуоресценции красителя DCF-DA, для крупных клеток субпопуляции 2 составил 91.1 ± 5.3 у.ед., для

мелких клеток субпопуляции 1 – 102.2 ± 9.0 у.ед. (рис. 6а). Однако различия не были достоверны ($p \geq 0.05$, $n = 15$).

Наиболее высокая интенсивность клеточного дыхания (215.5 ± 11.4 у.ед.) характерна для амебоцитов – агранулярных клеток субпопуляции 1, у которых уровень флуоресценции Rh123 более чем в 2 раза выше, чем у гранулярных клеток субпопуляции 2 – эритроцитов (98.5 ± 6.6 у. ед.) ($p \leq 0.05$, $n = 15$) (рис. 6б).

В настоящем исследовании показано, что оба типа гемоцитов анадары способны к поглощению частиц зимозана (рис. 7). При этом способность к фагоцитозу у амебоцитов была выше, чем у эритроцитов: амебоциты поглощали в среднем 10.3 ± 0.7 шт.

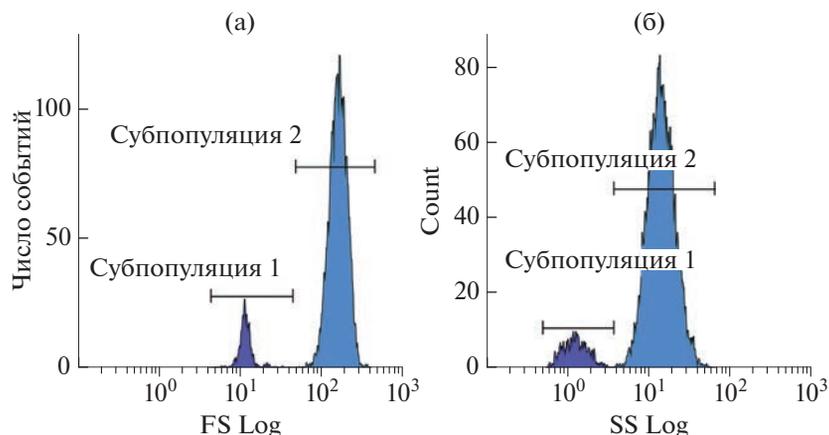


Рис. 4. Цитометрический анализ субпопуляций клеток гемолимфы двустворчатого моллюска *Anadara broughtonii*: а – условный диаметр клеток, б – уровень гранулярности клеток.

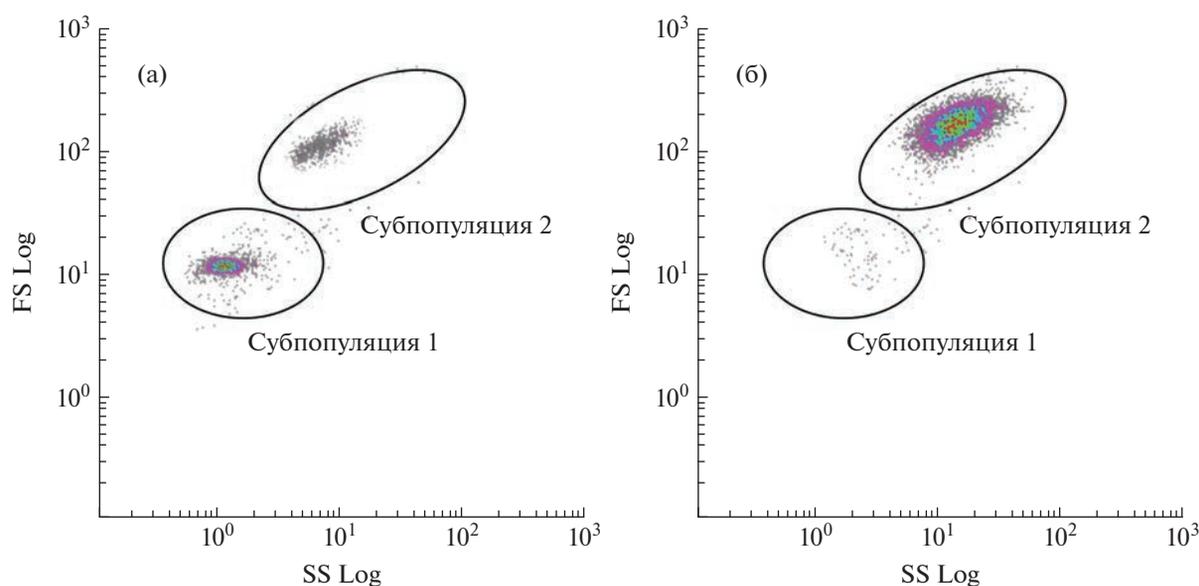


Рис. 5. Цитометрический анализ клеточных фракций гемолимфы двустворчатого моллюска *Anadara broughtonii*, полученных методом градиентного центрифугирования в разделяющей среде Percoll: клетки верхней (а) и нижней (б) фракций.

частиц зимозана, в то время как эритроциты – 5.3 ± 0.1 шт.

ОБСУЖДЕНИЕ

В зависимости от принципа, положенного в основу классификации клеток, в гемолимфе представителей рода *Anadara* выделяют от 2 до 5 типов гемоцитов (Rodrick, Ulrich, 1984; Holden et al., 1994; Kolyuchkina, Ismailov, 2011; Dang et al., 2013; Nameed et al., 2018; Kim et al., 2020; Zhou et al., 2013, 2017, 2019). На основании результатов световой микроскопии, проточной цитометрии и градиентного центрифугирования мы идентифи-

цировали в гемолимфе *A. broughtonii* 2 типа гемоцитов: амебоциты и эритроциты.

Обнаруженные на мазках наиболее мелкие клетки – амебоциты – формировали субпопуляцию 1 на цитометрических диаграммах и составляли верхнюю фракцию в градиенте плотности Percoll. Этот тип клеток упоминается во всех работах по описанию клеточного состава гемолимфы гемоглобин-содержащих моллюсков *Anadara trapezia*, *A. kagoshimensis*, *A. broughtonii* и *Tegillarca granosa* (см.: Dang et al., 2013; Kim et al., 2020). Морфологические профили амебоцитов анадары Броутона, описанные в настоящей работе, по большинству признаков близки к агранулоцитам

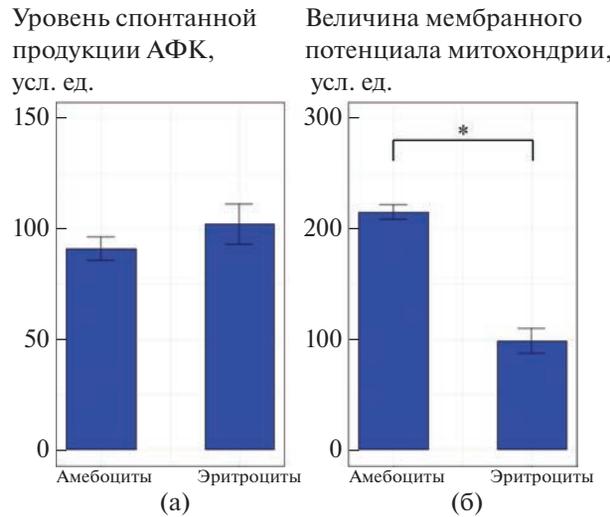


Рис. 6. Функциональные особенности гемоцитов двустворчатого моллюска *Anadara broughtonii*: а – различия в способности гемоцитов разных субпопуляций (амебоцитов и эритроцитов) к продукции АФК; б – различия в мембранном потенциале митохондрий гемоцитов разных субпопуляций (амебоцитов и эритроцитов). *Различия между группами достоверны при $p < 0.05$.

других видов двустворчатых моллюсков (Wang et al., 2017). Описанные нами размеры и морфологические особенности амебоцитов также схожи с характеристиками гиалиноцитов и гранулоцитов *A. broughtonii*, *A. kagoshimensis* и *T. granosa* (см.: Kim et al., 2020), а также амебоцитов *A. trapezia* (см.: Dang et al., 2013).

Многочисленные крупные эритроциты *A. broughtonii*, содержащие большое количество гранул, формировали субпопуляцию 2 и обнаруживались в составе нижней фракции в градиенте плотности Percoll. Считается, что наличие большого числа включений с гемоглобином свидетельствует о том, что эритроциты анадары являются специализированными клетками, осуществляю-

щими транспорт кислорода (Wang et al., 2020). Для *Scapharca inaequivalvis* показано (Holden et al., 1994), что, аналогично эритроцитам других беспозвоночных и низших позвоночных, гемоглобин-содержащие клетки гемолимфы моллюска имеют развитую внутреннюю структуру, включая крупное ядро, шероховатый эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и многочисленные митохондрии.

В то же время, согласно результатам нашего исследования, эритроциты анадары Броутона по своим морфофункциональным свойствам в целом близки к непигментированным/слабопигментированным гранулоцитам других видов двустворчатых моллюсков (Wang et al., 2017). Ранее показано (Dang et al., 2013), что из всех амебоцитов двустворчатых моллюсков, в частности мидий и устриц, лишь blastopod-like agranulocytes не участвуют в реализации клеточного иммунного ответа, тогда как гранулярные клетки в большей степени, чем агранулоциты, способны к фагоцитозу, продукции защитных пептидов и генерации АФК (Hegaret et al., 2003; Nakahara et al., 2009). Нами обнаружено, что оба типа гемоцитов анадары – амебоциты и эритроциты – в равной степени способны к продукции АФК. Это может свидетельствовать, что эритроциты анадары, как и амебоциты, участвуют в иммунном ответе. Фагоцитарная активность эритроцитов анадары в отношении частиц зимозана, впервые установленная в настоящей работе, подтверждает это предположение и косвенно согласуется с литературными данными о повышении экспрессии генов, кодирующих субъединицы гемоглобина в гемоцитах гемоглобин-содержащих моллюсков в ответ на

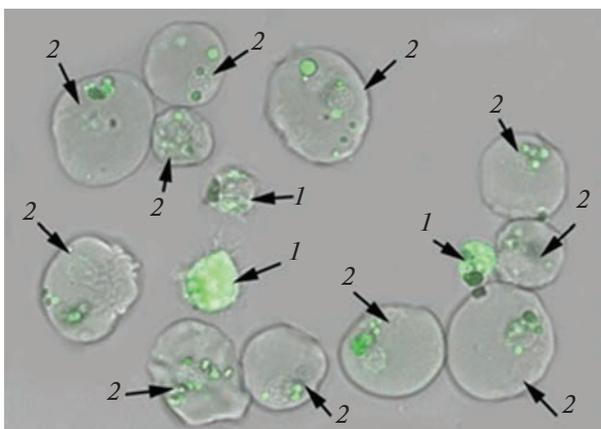


Рис. 7. Микрофотографии реакции *in vitro* фагоцитоза клеток гемолимфы двустворчатого моллюска *Anadara broughtonii*: 1 – амебоциты, 2 – эритроциты.

инвазию патогенов и стимуляцию иммунной системы.

Таким образом, принципиальное отличие клеточного состава гемолимфы анадары от других представителей двустворчатых моллюсков, например устриц и мидий, состоит в наличии гемоглобин-содержащих эритроцитов, обладающих определенными морфологическими особенностями. Однако следует отметить, что, несмотря на эти различия, общие признаки, в первую очередь наличие гранул в цитоплазме, низкое ЯЦО и функциональные активности, сходные с таковыми амeboцитов, объединяют эритроциты анадары с гранулоцитами других двустворчатых моллюсков. Полученные в работе факты заставляют шире взглянуть на проблему морфологической и функциональной классификации гемоцитов внутри класса Bivalvia, они могут стать подтверждением гипотезы о единстве происхождения разных типов гемоцитов, которая выдвинута ранее в отношении двустворчатых моллюсков, не содержащих гемоглобин (Анисимова и др., 2022; Mix, 1976; Ottaviani et al., 1998; Rebelo et al., 2013). Наличие особенностей, проявляющихся в присутствии пигментов в клетках гемолимфы, разной интенсивности грануляции цитоплазмы и окраски гранул гемоцитов, вероятно, свидетельствует о существовании эволюционно закрепленной специализации некоторых типов гемоцитов, обеспечивающей адаптацию конкретных видов к особенностям среды обитания.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания № 121102500161-4 “Закономерности организации иммунной системы промысловых гидробионтов и исследование влияния факторов внешней среды на функционирование их защитных систем”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Анисимова А.А. Морфофункциональные параметры гемоцитов в оценке физиологического состояния двустворчатых моллюсков // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 6. С. 389–399.

Анисимова А.А., Дягилева М.Н., Карушева О.А. и др. Состав и кинетика клеточной популяции гемоцитов у двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) // Биол. моря. 2022. Т. 48. № 4. С. 251–261.

Афейчук Л.С. Оценка состояния промысловых скопленных анадары Броутона (*Anadara broughtonii*) в заливе Петра Великого (Японское море) по результатам мониторинга 2010–2020 годов // Национальная (всероссийская) научно-практическая конференция “Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промышленное и техническое использование”. Камчатский государственный технический университет. 2021. № 12. С. 11–15.

Присный А.А., Пигалева Т.А., Кулько С.В. Морфофункциональные особенности гемоцитов сухопутных брюхоногих моллюсков // Фундаментальные исследования. 2011. № 5. С. 206–210.

Allam B., Ashton-Alcox K.A., Ford S.E. Flow cytometric comparison of haemocytes from three species of bivalve molluscs // Fish Shellfish Immunol. 2002. V. 13. № 2. P. 141–158.

Andreyeva A.Y., Efremova E.S., Kukhareva T.A. et al. Morphological and functional characterization of hemocytes in cultivated mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and effect of hypoxia on hemocyte parameters // Fish Shellfish Immunol. 2019. V. 89. P. 361–367.

Bachère E., Rosa R.D., Schmitt P. et al. The new insights into the oyster antimicrobial defense: Cellular, molecular and genetic view // Fish Shellfish Immunol. 2015. V. 46. № 1. P. 50–64.

Cao A., Mercado L., Ramos-Martinez J.I. et al. Primary cultures of hemocytes from *Mytilus galloprovincialis* Lmk.: expression of IL-2R α subunit // Aquaculture. 2003. V. 216. № 1–4. P. 1–8.

Cohen W.D., Nemhauser I. Association of centrioles with the marginal band of a molluscan erythrocyte // J. Cell Biol. 1980. V. 86. № 1. P. 286–291.

Dang C., Cribb T.H., Osborne G. et al. Effect of a hemiuroid trematode on the hemocyte immune parameters of the cockle *Anadara trapezia* // Fish Shellfish Immunol. 2013. V. 35. № 3. P. 951–956.

De la Ballina N.R., Maresca F., Cao A. et al. Bivalve haemocyte subpopulations: A Review // Frontiers in Immunology. 2022. V. 13.

De Zwaan A., Isani G., Cattani O., Cortesi P. Long-term anaerobic metabolism of erythrocytes of the arcid clam *Scapharca inaequivalvis* // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1995. V. 187. № 1. P. 27–37.

Donaghy L., Kim B.K., Hong H.K. et al. Flow cytometry studies on the populations and immune parameters of the hemocytes of the Suminoe oyster, *Crassostrea ariakensis* // Fish Shellfish Immunol. 2009. V. 27. № 2. P. 296–301.

Fonseca V.B., Cruz B.P., da Silva S.S. et al. Morphological characterization of hemocytes of the brown mussel *Perna perna*: an update // Fish Shellfish Immunol. 2022. V. 120. P. 139–141.

- Ford S.E., Ashton-Alcox K.A., Kanaley S.A. Comparative cytometric and microscopic analyses of oyster hemocytes // J. Invertebr. Pathol. 1994. V. 64. № 2. P. 114–122.
- Funakoshi S. Studies on the classification, structure and function of hemocytes in bivalves // Bull. Natl. Res. Inst. Aquac. (Jpn.). 2000. V. 29. P. 1–103.
- Gerdol M., Gomez-Chiarri M., Castillo M.G. et al. Immunity in molluscs: recognition and effector mechanisms, with a focus on Bivalvia // Adv. Immunol. Springer Cham. 2018. P. 225–341.
- Hameed A., Muhammad F., Muhammad A.A. et al. Morphological and structural characterization of blood cells of *Anadara antiquata* // Iran. J. Fish. Sci. 2018. V. 17. № 3. P. 613–619.
- Hegaret H., Wikfors G.H., Soudant P. Flow cytometric analysis of haemocytes from eastern oysters, *Crassostrea virginica*, subjected to a sudden temperature elevation: II. Haemocyte functions: aggregation, viability, phagocytosis, and respiratory burst // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2003. V. 293. № 2. P. 249–265.
- Holden J.A., Pipe R.K., Quaglia A., Ciani G. Blood cells of the arcid clam, *Scapharca inaequalvis* // J. Mar. Biol. Ass. U.K. 1994. V. 74. № 2. P. 287–299.
- Kim J.H., Lee H.M., Cho Y.G. et al. Flow cytometric characterization of the hemocytes of blood cockles *Anadara broughtonii* (Schrenck, 1867), *Anadara kagoshimensis* (Lischke, 1869), and *Tegillarca granosa* (Linnaeus, 1758) as a biomarker for coastal environmental monitoring // Mar. Pollut. Bull. 2020. V. 160. Article 111654.
- Kladchenko E.S., Andreyeva A.Y., Kukhareva T.A. Effect of ranged short-term hypoxia on functional and morphological parameters of hemocytes in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) // J. Evol. Biochem. Physiol. 2022. V. 58. № 1. P. 45–53.
- Kolyuchkina G.A., Ismailov A.D. Morpho-functional characteristics of bivalve mollusks under the experimental environmental pollution by heavy metals // Oceanology. 2011. V. 51. № 5. P. 804.
<https://doi.org/10.1134/S0001437011050092>
- Matozzo V. Aspects of eco-immunology in molluscs // Invertebr. Surviv. J. 2016. V. 13. № 1. P. 116–121.
- Mello D.F., De Oliveira E.S., Vieira R.C. et al. Cellular and transcriptional responses of *Crassostrea gigas* hemocytes exposed *in vitro* to brevetoxin (PbTx-2) // Mar. Drugs. 2012. V. 10. № 3. P. 583–597.
- Mix M.C. A general model for leukocyte cell renewal in bivalve mollusks // Mar. Fish. Rev. 1976. V. 38. № 10. P. 37–41.
- Nakahara Y., Shimura S., Ueno C. et al. Purification and characterization of silkworm hemocytes by flow cytometry // Dev. Comp. Immunol. 2009. V. 33. № 4. P. 439–448.
- Novitskaya V.N., Soldatov A.A. Peculiarities of functional morphology of erythroid elements of hemolymph of the bivalve mollusk *Anadara inaequalvis*, the Black Sea // Hydrobiol. J. 2013. V. 49. № 6. P. 64–71.
- Novoa B., Figueras A. Immune responses in molluscs and their implications for disease control // Infectious Disease in Aquaculture, Cambridge: Woodhead Publishing. 2012. P. 88–110.
- Ottaviani E., Franchini A., Barbieri D., Kletsas D. Comparative and morphofunctional studies on *Mytilus galloprovincialis* hemocytes: Presence of two aging-related hemocyte stages // Ital. J. Zool. 1998. V. 65. № 4. P. 349–354.
- Parisi M.G., Mauro M., Sarà G., Cammarata M. Temperature increases, hypoxia, and changes in food availability affect immunological biomarkers in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* // J. Comp. Physiol. B. 2017. V. 187. № 8. P. 1117–1126.
- Rebello M.d.F., Figueiredo E.d.S., Mariante R.M. et al. New insights from the oyster *Crassostrea rhizophorae* on bivalve circulating hemocytes // PLoS One. 2013. V. 8. № 2. art. ID e57384.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057384>
- Rodrick G.E., Ulrich S.A. Microscopical studies on the hemocytes of bivalves and their phagocytic interaction with selected bacteria // Helgoländer Wiss. Meeresunters. 1984. V. 37. № 1. P. 167–176.
- Rosa I.C., Garrido R., Re A. et al. Sensitivity of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* to candidate control chemicals: the role of dissolved oxygen conditions // Sci. Total Environ. 2015. V. 536. P. 825–830.
- Travers M.A., Da Silva P.M., Le Goïc N. et al. Morphologic, cytometric and functional characterisation of abalone (*Haliotis tuberculata*) haemocytes // Fish Shellfish Immunol. 2008. V. 24. № 4. P. 400–411.
- Wang W., Li M., Wang L. et al. The granulocytes are the main immunocompetent hemocytes in *Crassostrea gigas* // Dev. Comp. Immunol. 2017. V. 67. P. 221–228.
- Wang Y., Zhou S., Liu T. et al. De novo transcriptome analysis of stressed blood clam (*Anadara broughtonii*) and identification of genes associated with hemoglobin // Genes Genomics. 2020. V. 42. № 2. P. 189–202.
- Zhou L., Yang A., Liu Z. et al. Changes in hemolymph characteristics of ark shell *Scapharca broughtonii* dealt with *Vibrio anguillarum* challenge *in vivo* and various of anticoagulants *in vitro* // Fish Shellfish Immunol. 2017. V. 61. P. 9–15.
- Zhou L., Yang A., Wang Q. et al. Studies on the hemocytes types and their immunological functions in bloody clam (*Scapharca broughtonii*) // J. Fish. China. 2013. V. 37. № 4. P. 599–606.
- Zhou L., Zhao D., Wu B. et al. Ark shell *Scapharca broughtonii* hemocyte response against *Vibrio anguillarum* challenge // Fish Shellfish Immunol. 2019. V. 84. P. 304–311.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.09.039>

Morphological Analysis of the Hemolymph Cell Composition in the Bivalve Mollusk *Anadara broughtonii* Schrenck, 1867 (Sea of Japan)

E. S. Kladchenko^a, T. A. Kukhareva^a, V. N. Rychkova^a, E. S. Chelebieva^a, and A. Yu. Andreyeva^a

^aA.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol 299011, Russia

The hemolymph cells of the ark clam *Anadara broughtonii* were examined using light microscopy, flow cytometry and gradient centrifugation. All three methods of analysis made it possible to identify two main types of cells in the hemolymph of the ark clam *Anadara broughtonii* – large granular erythrocytes and small agranular amebocytes. Erythrocytes accounted for $95.6 \pm 0.9\%$ of the total number of hemolymph cells. Erythrocytes were hemoglobin-containing cells with a great number of granules in the cytoplasm, a low nuclear-cytoplasmic ratio (NCR) and a lower intensity of cellular respiration compared to amebocytes. Amebocytes are cells of predominantly irregular shape with a high number of cells that do not contain or contain no more than 10 granular inclusions in the cytoplasm. All types of hemocytes found in the ark clam hemolymph demonstrated the same ability to spontaneously produce reactive oxygen species. For the first time, it has been shown that red blood cells of the ark clam *Anadara broughtonii* are capable of phagocytosis. At the same time, amebocytes absorbed on the average two times more zymosan particles (10.3 ± 0.7 pcs.), compared to erythrocytes (5.3 ± 0.1 pcs.).

Keywords: ark clams, hemocytes, phagocytosis, reactive oxygen species

УДК 597

ALOPIIDAE – НОВОЕ ДЛЯ ВОД РОССИИ СЕМЕЙСТВО АКУЛ-ЛИСИЦ

© 2023 г. В. Н. Долганов^{1, *}, Л. Н. Ким²

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

²Тихоокеанский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии, Владивосток 690000, Россия

*e-mail: vndolganov@mail.ru

Поступила в редакцию 06.12.2022 г.

После доработки 23.01.2023 г.

Принята к публикации 26.01.2023 г.

Приведено описание первой поимки в российских водах акулы-лисицы *Alopias vulpinus* (длина 136.5 см) в зал. Петра Великого (Японское море) 5 сентября 2022 г. Кроме пластических признаков сообщается о количестве туловищных и хвостовых позвонков, рядов зубов и оборотах спирального клапана кишечника.

Ключевые слова: акула-лисица *Alopias vulpinus*, залив Петра Великого, морфометрические данные, туловищные и хвостовые позвонки, зубы, спиральный клапан

DOI: 10.31857/S013434752303004X, **EDN:** SAZCPQ

Семейство *Alopiidae* содержит один род *Alopias* Rafinesque, 1810 с тремя видами: *A. superciliosus* Lowe, 1840; *A. pelagicus* Nakamura, 1935 и *A. vulpinus* (Bonnaterre, 1788). Морская лисица *A. vulpinus* хорошо отличается от *A. superciliosus* небольшими глазами, отсутствием глубокой продольной выемки в верхней части головы и над жаберными щелями, а также значительно большим количеством зубов. От *A. pelagicus* она отличается более широким и коротким рылом, длинными заостренными грудными плавниками и окраской (Compagno, 1984). Кроме этого, *A. superciliosus* и *A. pelagicus* обитают в основном в тропических и субтропических водах Мирового океана, а *A. vulpinus* широко распространен и в умеренных широтах (Last, Stevens, 2009). Этот вид отмечали у берегов Норвегии, северной Турции, в водах о-ва Хоккайдо и южной части Японского моря, что позволяло надеяться на его поимку в российских водах (Парин и др., 2014). Действительно, 5 сентября 2022 г. в зал. Петра Великого в б. Суходол поймана самка этого вида, описание которой приводится в данной работе.

Alopias vulpinus (Bonnaterre, 1788) (рис. 1).

Материал. 1 экз. TL 136.5 см, масса 6.4 кг, самка. Зал. Петра Великого, б. Суходол, 5.09.2022 г., ставные сети, глубина 1.5 м, температура поверхности воды 18.9°C. Коллектор Л.Н. Ким. Препараты черепа, позвоночника, челюстей и др. пойманного экземпляра хранятся в коллекции лаборатории ихтиологии ННЦМБ ДВО РАН им. А.В. Жирмунского.

Описание. Тело веретенообразное. Рыло сравнительно короткое и коническое. Глаза относительно большие, круглые, находятся на боковых поверхностях головы. Ноздри расположены ближе ко рту, чем к концу рыла. Жаберные щели небольшие, нижние концы 4-й и 5-й жаберных щелей расположены над основанием грудных плавников. Грудной плавник почти достигает начала основания первого спинного плавника, свободный задний конец которого заметно впереди крупных брюшных плавников. Анальный и 2-й спинной плавники очень маленькие. Начало анального плавника – на вертикали заднего конца основания второго спинного плавника. Верхняя лопасть хвостового плавника экстремально длинная, более чем в 9 раз длиннее нижней. Верхняя предхвостовая ямка выражена хорошо, нижняя – намного слабее. Боковых килей нет.

Измерения пойманной акулы (в мм). Расстояние от конца рыла до 1-го спинного плавника – 305, до 2-го спинного плавника – 562, до верхней



Рис. 1. *Alopias vulpinus* (Bonnaterre, 1788) – акула-лисица. Длина 136.5 см; зал. Петра Великого, Японское море.

предхвостовой ямки – 640, до грудных плавников – 172, до брюшных – 430 и до анального плавника – 565. Длина рыла до глаз – 58, до рта – 55 и до ноздрей – 32. Длина головы до 1-й жаберной щели – 162, до 5-й жаберной щели – 190. Диаметр глаза – 21. Расстояние между глаз – 66, между ноздрей – 18. Длина первой жаберной щели – 30, третьей – 32 и пятой – 28. Ширина рта – 71, высота – 35. Длина основания плавников: 1-го спинного – 86, 2-го спинного – 10, брюшного – 70 и анального – 11. Высота плавников: 1-го спинного – 88, 2-го спинного – 7, брюшного – 71 и анального – 8. Длина переднего края грудных плавников – 195, переднего края брюшных плавников – 80; верхней лопасти хвостового плавника – 735 и нижней лопасти – 80. Междорсальное расстояние – 184; расстояние от конца основания 2-го спинного плавника до хвоста – 77; от начала грудного плавника до начала брюшного – 261; от начала брюшного плавника до начала хвоста – 190.

Туловищных позвонков – 70, позвонков хвостового стебля – 45, хвостовых – 234. Количество оборотов спирального клапана кишечника – 38.

Зубы сравнительно мелкие, сходные в обеих челюстях, не зазубрены. Передние зубы прямостоящие, боковые и задние умеренно скошены к углам рта. Третий зуб верхней челюсти (интермедиальный) значительно меньше второго и четвертого. Околосимфизные зубы нижней челюсти очень мелкие. Передние зубы нижней челюсти отчетливо выраженными добавочными боковыми вершинами. Края коронок боковых зубов верхней челюсти, обращенных к углам рта, имеют слабо выраженные зубчики. Зубная формула левой и правой половины челюстей 20–21/20–21.

Желудок акулы пустой, но в спиральном клапане кишечника среди слизи имелось множество хрусталиков глаз мелких рыб.

Окраска тела и хвоста сверху однотонная, темная, почти черная, бока серо-голубые. Брюшная поверхность и низ головы белые, резко отграниченные от более темных боков. Грудные и брюшные плавники темные, их вершины светлые.

Alopias vulpinus – самая крупная из акул-лисиц достигает в длину 570 см. Самцы созревают при длине около 340 см, самки – 350–400 см; длина новорожденных особей – 115–150 см (Last, Stevens, 2009). Размеры и отсутствие годовых колец на позвонках пойманной акулы свидетельствуют о ее рождении в год отлова. Интересно, что в июне 2022 г. в зал. Петра Великого пойман также сеголеток акулы длиной около 70 см, определенный нами по фотографии как акула-мако *Isurus oxyrinchus*, а ранее, в сентябре 2011 г., обнаружена новорожденная белая акула *Carcharodon carcharias* длиной 126 см (Долганов, 2012). Учитывая, что новорожденные акулы и сеголетки относительно плохие пловцы и мигранты, можно предположить, что эти виды акул не только нагуливаются в наших водах, но и размножаются.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Долганов В.Н. Поимка большой белой акулы *Carcharodon carcharias* Linnaeus, 1758 (Carcharodontidae) в заливе Петра Великого // Биол. моря. 2012. Т. 38. № 1. С. 79–81.
- Парин Н.В., Евсеенко С.А., Васильева Е.Д. Рыбы морей России: аннотированный каталог. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2014. 733 с.
- Compagno L.J.V. FAO species catalogue. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 1. Hexanchiformes to Lamniformes // FAO Fish. Synop. № 125. 1984. V. 4. Pt. 1. P. 1–249.
- Last P.R., Stevens J.D. Sharks and Rays of Australia. Melbourne: CSIRO. 2009. 656 p.

Alopiidae – A New Record of the Thresher Shark Family for the Fauna of Russia

V. N. Dolganov^a and L. N. Kim^b

^aA.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences (NSCMB FEB RAS), Vladivostok 690041, Russia

^bPacific Branch, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Vladivostok 690000, Russia

The capture of a thresher shark *Alopias vulpinus* (TL 136.5 cm) in Peter the Great Bay (Sea of Japan) on September 5, 2022 is reported. A description of the specimen, including surface morphometric parameters, vertebrae counts, the number of tooth rows, and the number of intestinal valve turns, is presented.

Keywords: *Alopias vulpinus*, Peter the Great Bay, morphometric parameters, number of vertebrae, tooth rows, intestinal valve