

Федеральное агентство научных организаций
Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН
Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН
Российский фонд фундаментальных исследований

МОРСКИЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*Всероссийская научно-практическая конференция
с международным участием,
приуроченная к 145-летию
Севастопольской биологической станции*

Севастополь, 19–24 сентября 2016 г.

Сборник материалов

Том 1

Севастополь
ЭКОСИ-Гидрофизика
2016

УДК 574.5(063)
ББК 28.082.14
М 80

Редактор д.б.н., проф. А.В. Гаевская

Морские биологические исследования: достижения и перспективы :
М 80 в 3-х т. : сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к 145-летию Севастопольской биологической станции (Севастополь, 19–24 сентября 2016 г.) / под общ. ред. А.В. Гаевской. – Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2016. – Т. 1. – 493 с.

ISBN 978-5-9907936-5-1

ISBN 978-5-9907936-6-8 (том 1)

Сборник подготовлен на основании материалов докладов, представленных на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к 145-летию Севастопольской биологической станции. В первый том вошли статьи по истории морских фундаментальных и прикладных биологических исследований, биологии и экологии гидробионтов, экологической биоэнергетике, биохимии и генетике гидробионтов.

УДК 574.5(063)

ББК 28.082.14

Marine biological research: achievements and perspectives: in 3 vol. : Proceedings of All-Russian Scientific-Practical Conference with International Participation dedicated to the 145th anniversary of Sevastopol Biological Station (Sevastopol, 19–24 September, 2016). – Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2016. – Vol. 1. – 493 p.

Proceedings were prepared on the basis of reports submitted to the All-Russian scientific-practical conference with international participation dedicated to the 145th anniversary of Sevastopol Biological Station. The first volume includes articles on the history of marine biological research, biology and ecology of aquatic organisms, ecological bio-energetics, biochemistry and genetics of aquatic organisms.

Сборник издан при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-04-20627)

Редакционная коллегия не несет ответственности
за оригинальность и достоверность подаваемых авторами материалов

Печатается по решению ученого совета
Института морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН
(протокол № 7 от 24.06.2016 г.)

ISBN 978-5-9907936-5-1

ISBN 978-5-9907936-6-8 (том 1)

© Авторы статей, 2016
© Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, 2016
© Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН, 2016

МОРФОГЕНЕЗ ЧЕРНОМОРСКОГО КАЛКАНА *SCOPHTHALMUS MAEOTICUS*: ПОЛЕВЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ

А. Н. Ханайченко, В. Е. Гирагосов

Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, РФ,
a.khanaychenko@gmail.com

Исследованы некоторые закономерности морфогенеза черноморского калкана на ранних стадиях онтогенеза в экспериментальных условиях и взрослых особей калкана из природной популяции. Температура воды и сбалансированность питания являются наиболее важными факторами, влияющими на нормальное формирование скелета и пигментации и определяющими выживаемость генерации калкана.

Ключевые слова: черноморский калкан, морфогенез, оссификация, пигментация

Черноморский калкан *Scophthalmus maeoticus* – один из наиболее ценных промысловых видов рыб и перспективный объект марикультуры.

В процессе метаморфоза личинки калкана претерпевают сложные морфологические и физиологические изменения. От того, насколько морфология личинок в период от их выклева до завершения метаморфоза соответствует нормальному морфотипу, зависит дальнейшее развитие и выживаемость особей и, следовательно, поколения (генерации) калкана. Этиология отклонений в развитии калкана разнообразна и недостаточно изучена, поэтому исследование закономерностей его морфологической изменчивости в период раннего онтогенеза под воздействием разных факторов среды имеет большое значение для прогноза состояния природных популяций и разработки экологически адекватных методик выращивания молоди в искусственных условиях.

Материал и методы. Для изучения морфологии развивающейся икры и личинок проводили инкубацию искусственно оплодотворенной икры и выращивание личинок в контролируемых условиях [1]. С целью выявления факторов, влияющих на морфогенез калкана на ранних этапах развития, выборки однородных партий личинок выращивали в разных температурных и трофических режимах.

Для исследования развития структур икры и ранних личинок калкана производили фотосъемку видеокамерой, подсоединённой к микроскопу Nikon Eclipse; формы тела и пигментации более поздних личинок до окончания метаморфоза – двустороннюю макросъемку, а половозрелых особей (полученных из сетных ловов) – съемку камерой Canon A720. Для исследования морфогенеза калкана на ранних стадиях развития применяли методику окраски кальцифицированных структур ализарином [2]. Рентгенологическое исследование проводили с помощью цифрового рентгеновского аппарата в ветеринарном центре «Бион» (г. Севастополь). Скелет взрослых особей препарировали методом мацерирования мягких тканей и очистки костных структур.

Определение типа аномалий развития скелета и хроматофорного комплекса проводили в сравнении с нормальным строением этих структур [3, 4].

Результаты и обсуждение. Развитие икры калкана происходит в подповерхностном слое моря в течение 3 – 7 суток в зависимости от температуры воды. Согласно результатам наших исследований, в естественных условиях калкану свойственна низкая оплодотворяемость икры (в отдельных ихтиопланктонных пробах – до 90% неоплодотворённых икринок), а также высокий процент нарушений развития (до 90%) опло-

дотворённой икры. Любые отклонения от морфонормы эмбрионов либо приводят к элиминации самого эмбриона, либо проявляются в морфологических аномалиях выклюнувшихся личинок.

Собственные экспериментальные исследования показали, что выживаемость эмбрионов при самых благоприятных искусственных условиях может достигать 40% к моменту выклева предличинок (стандартная длина тела (SL) 2.7 – 2.9 мм) и не более 20% – к началу экзогенного питания личинок калкана (SL 3.0 – 3.3 мм).

В раннем онтогенезе калкана, до начала экзогенного питания, морфологическая изменчивость возникает в первую очередь под действием факторов внешней среды, из которых температура является наиболее существенным морфогеном, в значительной степени определяющим морфофизиологическую разнокачественность и ход эпигенеза.

Нормальное развитие икры может происходить только в узком температурном диапазоне, и чем ниже температура, тем на более ранних стадиях останавливается развитие. При температуре 11°C икринки проходят полное развитие, но с высокой долей аномальных особей: с искривлением хорды, водянкой желточной и околосердечной полостей. Повышение температуры до 13°C приводит к снижению аномалий, но оптимум эмбрионального развития калкана приходится на температуры 15 – 17°C. Снижение темпа эпиболии по отношению к скорости развития собственно эмбриона калкана может происходить при температуре, превышающей пороговую – выше 20°C.

При резких колебаниях температуры воды (более 1°C) в сторону понижения или повышения возникают многочисленные варианты отклонений от морфологической нормы хвостового отдела эмбриона и, соответственно, личинок на выклеве. Резкие скачки температуры (как повышение, так и понижение, даже в пределах оптимума) в период развития предличинок приводят к аномалиям челюстных элементов, причём в крайнем своём проявлении, так называемой «мопсовидности». Эти аномалии приводят к значительной элиминации личинок при переходе на внешнее питание. В природной популяции калкана встречаются половозрелые особи с разной степенью укорочения верхней челюсти, но крайне редко – с «мопсовидной» аномалией, что свидетельствует о низкой выживаемости таких особей в естественных условиях.

Выживаемость личинок калкана (SL 3.0 – 3.3 мм) от начала питания до начала метаморфоза (SL от 6.0 мм) обусловлена, помимо физических, химических и санитарных условий, доступностью кормового зоопланктона и адекватностью его биохимического состава потребностям личинок. Состав пищи начинает оказывать влияние через сутки после перехода на экзогенное питание, как на дифференциацию хроматофорного комплекса [4], так и на скелетообразование. Различия в состоянии скелетных элементов и метаболизме кальция можно наблюдать уже на 11 сут после выклева, а на 16 сут (начало метаморфоза) уже наблюдаются существенные различия. При несбалансированном по жировым компонентам и витаминам питании у личинок наблюдаются отклонения в формировании скелета, в том числе значительное снижение откладки кальция в элементах позвоночника.

При комплексном воздействии неправильного питания и отклонений температуры от оптимума происходит сращение позвонков в разных отделах позвоночника, а при избыточном и несбалансированном поступлении в организм с пищей ретиноидов, аминокислот и жирных кислот формируются патологии развития позвонков, гемальных дуг, сколиоз, лордоз, кифоз, которые закрепляются в течение дальнейшего развития.

У половозрелых особей калкана из естественных популяций обнаружены также отклонения от морфологической нормы развития позвоночника: нарушение развития

нейрокраниума в результате недоразвития некоторых костей, аномалии развития хвостового плавника (раздвоение и укорочение отдельных лучей), укорочение или изменение структуры позвоночника за счёт его сжатия или срастания позвонков (кифоз), седловидность (лордоз), изгибы в стороны (сколиоз), волнообразные изгибы (плекоспондилёз). Самыми распространёнными аномалиями особей из естественной популяции является неправильная миграция глаза и недоразвитие отдельных костей скелета головы, часто сопровождаемые аномалиями пигментации [5].

Согласно результатам собственных экспериментальных исследований, аномалии пигментации индуцируются у личинок калкана в период 3 – 4 недель после выклева, а аномалии миграции глаза – в возрасте от 3 до 5 недель. После прохождения личинками пика метаморфоза (4 – 6 недель после выклева), тип их пигментации, как и степень миграции глаза, становятся необратимыми. Норма морфологических структур личинок определяет выживаемость мальков во время перехода от пелагической фазы развития к придонной. Очевидно, в естественных условиях именно в пик метаморфоза особи с аномалиями пигментации, скелетообразования и миграции глаза интенсивно элиминируются вследствие отставания в скорости развития и выедания хищниками.

Избыток или недостаток эссенциальных высоконасыщенных жирных кислот приводит к различным нарушениям пигментации, не связанной с генетическими аномалиями: частичной дифференциации меланофоров и полной пигментации правой стороны тела (гипермеланизм, или двусторонняя пигментация, сопряжённая с неполной миграцией правого глаза), или же к отсутствию пигментации на левой стороне тела (гипомеланизм или псевдоальбинизм). Реверсная (правосторонняя) морфа, встречающаяся в редких случаях, как среди экспериментальных мальков, так и среди половозрелых особей калкана из естественной популяции, является, по-видимому, результатом нарушения генома. Причины появления аномальной пигментации и оссификации у камбалообразных до сих пор окончательно не изучены, но уже достоверно определено, что аномалии пигментации калкана и сопряженные с ними аномалии миграции правого глаза на левую сторону тела связаны с нарушениями экспрессии генов и с гормональными нарушениями тироидального характера, происходящими в результате несбалансированного питания личинок в течение раннего метаморфоза [6].

Известно, что разные периоды морфогенеза рыб находятся под контролем разных генов. Экспрессия генов находится под контролем эссенциальных компонентов, большая часть которых не синтезируется организмом личинок. Для нормальной экспрессии генов эссенциальные компоненты (морфогены) должны входить в состав пищи личинок в определённых пропорциях [7, 8, 9]. Наиболее адекватной по биохимическому составу пищей для личинок морских рыб являются копеподы. Согласно результатам наших экспериментов, присутствие копепод в рационе личинок способствует формированию у них правильной пигментации и скелета.

Состояние популяции калкана тесно связано с гидрологическими условиями развития эмбрионов и личинок, а также со структурой кормовой базы личинок. При неблагоприятном изменении структуры фитопланктонного и, как следствие, мезозоопланктонного сообществ повышается вероятность увеличения количества аномалий развития и, соответственно, снижения жизнеспособности генераций калкана.

Собственные данные мониторинга в естественных условиях 2005 – 2016 гг. показали, что в популяциях калкана встречаются различные вариации морфотипов, отклоняющихся от нормы развития, и их доля варьирует в разных поколениях, в отдельные годы достигая 10%. Очевидно, что в природных популяциях калкана доля личинок

и мальков с нарушениями развития значительно выше, чем среди половозрелых рыб, так как большая часть особей с морфологическими аномалиями элиминирует в период раннего развития. Не исключено также, что закреплённые аномалии развития, возникшие в период раннего онтогенеза, предопределяют ослабление физиологических функций организма калкана во взрослом состоянии.

Выводы. 1. Температура воды – один из наиболее значимых факторов, оказывающих влияние не только на скорость метаболических процессов, но и на формирование морфологических структур (особенно каудального отдела и челюстного аппарата) калкана в течение эмбрионального и личиночного периодов до начала экзогенного питания. **2.** С момента перехода личинок на экзогенное питание начинается комбинированное воздействие двух факторов (температурного и трофического) на развитие и перестройку скелета, миграцию глаза и формирование хроматофорного комплекса.

1. Ханайченко А.Н., Гирагосов В.Е., Ельников Д.В., Рауен Т.В. Способ интенсивного выращивания мальков камбалы калкан. Патент на изобретение: RU 2548106, 10.04.2015. Бюл. №10(Пч.). 9 с.
2. Potthoff T. Clearing and staining techniques // *American Society of Ichthyologists and Herpetologists*. 1983. Special Publication 1. P. 35–37.
3. Yelnikov D.V., Khanaychenko A.N. Morphological features of cephalic skeleton of the adult Black Sea turbot (kalkan) *Scophthalmus maximus* var. *maeoticus* (Pleuronectiformes: Scophthalmidae) // *Вестник зоологии*. 2013. Т. 47, вып. 5. С. 1–10.
4. Ханайченко А.Н., Битюкова Ю.Е. Особенности формирования хроматофорного комплекса камбалы калкан, *Psetta maxima* var. *maeotica*, в онтогенезе в зависимости от пищевой цепи // *Морской экологический журнал*. 2007. Т.6, вып. 3. С. 66–83.
5. Ханайченко А.Н., Гирагосов В.Е., Ельников Д.В., Данилюк О.Н. Аномалии пигментации черноморской камбалы калкана *Psetta maxima maeotica* (Pleuronectiformes: Scophthalmidae) // *Морской экологический журнал*. 2008, Т. 7, вып. 2. С. 87–95.
6. Fernandez I., Gisbert E. The effect of vitamin A on flatfish development and skeletogenesis: a review // *Aquaculture*. 2011. No. 315. P. 34–48.
7. Geay F., Santigosa Culi E., Corporeau C., Boudry P., Dreano Y., Corcos L., Bodin N. et al. Regulation of FADS2 expression and activity in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed a vegetable diet // *Comp Biochem Physiol*. 2010. No. B 156. P. 237–243.
8. Vagner M, Robin JH, Zambonino-Infante JL, Tocher DR, Person-Le Ruyet J. Ontogenic effects of early feeding of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a range of dietary n-3 highly unsaturated fatty acid levels on the functioning of polyunsaturated fatty acid desaturation pathways // *Brit. J. Nutr.* 2009. No. 101. P. 1452–1462.
9. Kjörsvik E., Olsen C., Wold P.A., Hoehne-Reitan K., Cahu C.L. et al. Comparison of dietary phospholipids and neutral lipids on skeletal development and fatty acid composition in Atlantic cod (*Gadus morhua*) // *Aquaculture*. 2009. No. 294 (3–4). P. 246–255.

THE BLACK SEA TURBOT *SCOPHTHALMUS MAEOTICUS* MORPHOGENESIS: FIELD AND EXPERIMENTAL DATA

A. N. Khanaychenko, V. E. Giragosov

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research, RAS, Sevastopol, RF, a.khanaychenko@gmail.com

Some regularities of morphogenesis of the Black Sea turbot in the early stages of ontogeny in the experimental conditions, and in adults from natural population were studied. The water temperature and the balance of nutrition are the most important factors influencing the formation of the skeleton and the normal pigmentation and determining the survival of turbot generation.

Key words: Black Sea turbot, morphogenesis, ossification, pigmentation