

УДК 574.55

В.В. Евдокимов¹, И.В. Матросова^{2*}¹ Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр,
690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4;² Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГАМЕТ И ПРОДУКЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГИДРОБИОНТОВ ПРИ РАЗМНОЖЕНИИ ИХ В МОНО- И ПОЛИКУЛЬТУРЕ

Проведено сравнительное исследование размножения гидробионтов: серого и черного морских ежей *Strongylocentrotus intermedius*, *Mesocentrotus nudus*, приморского гребешка *Patinopecten yessoensis* — в тех сообществах, где они обитают совместно с различными видами водорослей: красными *Gracilaria verrucosa*, *Tichocarpus crinitus* и бурыми *Sacharina cichorioides*. Полученные данные свидетельствуют о том, что условия размножения гидробионтов изменяются в зависимости от окружающих их видов водорослей. Предполагается, что репродуктивный процесс у беспозвоночных животных в сообществах с различными водорослями подвергается воздействию экзометаболитов, выделяемых макрофитами. Делается вывод, что в результате экзометаболического взаимодействия организмов в природных сообществах сформировавшиеся у них гаметы обладают различной потенцией к оплодотворению. Это сказывается на эффективности их размножения.

Ключевые слова: размножение, экзометаболиты, морские ежи, гребешок, водоросли.

DOI: 10.26428/1606-9919-2018-192-103-120.

Evdokimov V.V., Matrosova I.V. Morpho-functional characteristics of gametes and producing possibilities of marine organisms for their reproduction in mono- and polyculture // Izv. TINRO. — 2018. — Vol. 192. — P. 103–120.

Reproduction of the sea urchins *Strongylocentrotus intermedius*, *Mesocentrotus nudus*, and the scallop *Mizuhopecten yessoensis* is considered in natural communities with various algae: red (*Gracilaria verrucosa* and *Tichocarpus crinitus*), brown (*Sacharina cichorioides*), and green (*Vulva fenestrata*). In these environments, their reproduction is influenced by exometabolites released by macrophytes, so the gametes with different production capacity could be formed and products of metabolism could impede their growth and development. To avoid these negative effects in polyculture, the cultured community should include species of different trophic levels forming a single food chain in which their exometabolites are utilized. The polyculture could be controlled by changing the number of species or influence on them

* Евдокимов Владимир Васильевич, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, e-mail: Vladimir.evdokimov@tinro-center.ru; Матросова Инга Владимировна, кандидат биологических наук, доцент, заместитель директора Института рыболовства и аквакультуры, e-mail: ingavladm@mail.ru.

Evdokimov Vladimir V., D.Sc., professor, leading researcher, e-mail: Vladimir.evdokimov@tinro-center.ru; Matrosova Inga V., Ph.D., lecturer, deputy director, e-mail: ingavladm@mail.ru.

by change of abiotic factors. In artificial polyculture, optimal conditions for reproduction and growth of cultivated species could be created, that provides the maximum production from a limited area.

Key words: reproduction, exometabolite, sea urchin, scallop, seaweed.

Введение

Актуальной проблемой в развитии прибрежного рыболовства становится переход к активному управлению онтогенезом гидробионтов. Это необходимое условие и основа для разработки методов регулирования продуктивности в естественных и искусственных сообществах, одно из главнейших направлений фундаментальных исследований в марикультуре (Хайлов, 1971; Мотавкин и др., 1990; Deridovich et al., 1998; Левин, Коробков, 2003; Евдокимов, Матросова, 2009). В мировой литературе в настоящее время описаны различные стороны биологии размножения отдельных видов морских гидробионтов, включая двустворчатых моллюсков, иглокожих и водоросли, при воздействии на них разных биотических и абиотических факторов (Касьянов и др., 1980; Касьянов, 1989; Мотавкин и др., 1990; Deridovich et al., 1998; Naug et al., 2003; Евдокимов, 2008; Калинина и др., 2012). Однако количества работ в мировой литературе с анализом закономерностей функционирования репродуктивной системы гидробионтов в искусственном сообществе, сформированном таким образом, чтобы оно функционировало, используя экзометаболиты организмов различных трофических уровней внутри сообщества для повышения продукционных возможностей, недостаточно, чтобы применять результаты таких исследований для воспроизводства организмов в хозяйствах марикультуры, создавая продуктивные сообщества, не загрязняющие среду обитания.

В научной литературе отмечается, что выделяемые в среду обитания продукты обмена веществ организмов действуют в качестве регуляторов их роста, развития и важнейших морфологических реакций (Бузников, 1967; Мотавкин и др., 1990; Евдокимов, Евдокимов, 2002; А.с. № 1083991; А.с. № 1223885).

У иглокожих и моллюсков установлено наличие рецепторов к известным нейротрансмиттерам на мембране ооцитов, а также определено функциональное значение цитоплазматических рецепторов к холинергическим воздействиям (Бузников, 1987; Мотавкин и др., 1990; Варакин, 1994; Deridovich et al., 1998; Евдокимов, 2005), что проливает свет на проблему метаболической регуляции репродуктивного процесса у гидробионтов в биоценозах. Искусственное сообщество из иглокожих, моллюсков и водорослей представляет удобную модель для изучения закономерностей размножения организмов и определения потенций гамет, формирующихся при экзометаболическом взаимодействии.

Цель настоящей работы — определение воздействия аминокислот, выделяемых из водорослей, на репродуктивный процесс беспозвоночных и влияния экзометаболитов животных на развитие макрофитов в контролируемых условиях. Принимается во внимание то, что основы экспериментальной биологии гидробионтов, с нашей точки зрения, включают в себя: знание механизмов управления их половой функцией, использование основных экологических факторов в управлении их онтогенезом. Полагаем, это должно лечь в основу разработок новых биотехнологий по получению молоди гидробионтов для выращивания их в марикультуре.

Материалы и методы

В работе представлены обобщенные данные за 1980–1985 гг. по визуальным и гистофизиологическим исследованиям черного *Mesocentrotus nudus* и серого *Strongylocentrotus intermedius* ежей, а также приморского гребешка *Patinopecten yessoensis*, содержащихся в контролируемых аквариумных условиях совместно с макрофитами: грацилярией бородавчатой *Gracilaria verrucosa*, тихокарпусом косматым *Tichocarpus crinitus* и сахариной цикориоподобной *Sacharina cichorioides*. Результаты исследований для серого и черного ежей оказались идентичными, поэтому во избежание ненужных

повторений в работе приводятся данные по черному морскому ежу, что в равной степени относится и к серому.

Гидробионты собирались с помощью легководолазной техники, доставлялись в лабораторный корпус и помещались в емкости с аэрируемой проточной морской водой. Использовался метод температурной стимуляции гаметогенеза (Deridovich et al., 1998). В качестве корма для морских ежей использовались водоросли, указанные выше. Пищевой рацион приморского гребешка в контролируемых условиях состоял из микроводорослей *Pavlova lutheri*, *Phaeodactylum tricornutum* и дрожжей, причем концентрации вносимого корма определялись согласно расчетным данным Л.Г. Макаровой (1986).

Изучались визуально и микроскопически гонады половозрелых животных на следующих стадиях: активного гаметогенеза, преднерестовой и нерестовой. С целью оценки взаимного влияния исследуемых организмов друг на друга они помещались в разные емкости в различных комбинациях.

Анализировался метаболизм гидробионтов. Для определения биологически активных веществ, выделяемых водорослями в среду обитания, на аминокислотном анализаторе «Hitachi-835» проводился анализ воды после содержания в ней водоросли. Зависимость величины рациона и его неусвоенной части (кал/экз. сут) от концентрации пищевых частиц (кал/л) у приморского гребешка анализировалась по методике, описанной Л.Г. Макаровой (1986). Параметры уравнений экскреции основных форм азота и фосфора устанавливались по данным М.В. Проппа (1977). Определялись масса и состояние гонад у изучаемых животных. Проводились гистологические исследования для установления количества половых клеток в ацинусах, определения стадий развития половых желез. Объемы клетки, ядра, ядрышка, цитоплазмы и ацинусов высчитывались по формуле эллипсоида (Лакин, 1980). Исследовался ранний онтогенез у морских ежей, для этого их половые продукты получали методом, описанным Г.А. Бузниковым и В.К. Подмаревым (1975). После оплодотворения гамет ранний онтогенез прослеживался до стадии формирования морского ежа (Евдокимов, Матросова, 2012). У приморского гребешка вымет половых продуктов вызывался методом стимуляции, описанным Ямамото (Yamamoto, 1964). Развитие эмбрионов прослеживалось до стадии осевшего гребешка (Бузников, 1967). У грацилярии бородавчатой карпоспоры и тетраспоры получали следующим образом: слоевища со зрелыми цистокарпами и сорусами подсушивали в течение 4 ч, затем помещали в морскую воду с температурой 20 °С. Карпоспоры и тетраспоры выходили из цистокарпов и тетраспорангиев и оседали на предметные стекла, помещенные на дно емкости. В дальнейшем развитие карпоспор и тетраспор исследовалось на этих покровных стеклах. Для приготовления гистологических препаратов кусочки гонад исследуемых животных размером 0,5 x 0,5 см фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалине. Затем обработка материала проводилась по общепринятой гистологической методике (Волкова, Елецкий, 1982). Полученные результаты обрабатывались статистически (Лакин, 1980). Различия считались достоверными при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В поликультурном сообществе, представленном черным ежом, приморским гребешком и грацилярией бородавчатой, средняя масса гонад на преднерестовой и нерестовой стадиях у ежа с диаметром панциря 55–65 мм составляла 20–25 г. У приморского гребешка в возрасте 3 лет масса гонад была равна 20–23 г. Следует отметить, что цветность гонад самок и самцов морских ежей мало чем различается при питании одними и теми же водорослями. У самки приморского гребешка при питании микроводорослями и детритом цвет гонады на преднерестовой и нерестовой стадиях красный, а у самца — белый независимо от сообщества, в котором они обитают.

Объемы ацинусов гонад морских ежей и приморского гребешка при микроскопическом исследовании варьируют в зависимости от того, как содержатся животные — в моно- или поликультуре. Наибольшие размеры ацинусов у животных, обитающих в

поликультуре, наименьшие — в монокультуре. В соответствии с размерами ацинусов изменяется коэффициент зрелости гонад, соотношение клеточных элементов, количество гамет и их объем. Исследованный ранний онтогенез гидробионтов свидетельствует о том, что сформировавшиеся гаметы у организмов в процессе экспериментальной регуляции гаметогенеза полноценны. Повышенная жизнестойкость эмбрионов отмечается у гидробионтов в поликультуре (табл. 1–3, рис. 1–3).

Таблица 1
Сроки онтогенеза черного морского ежа и доля отклонений от нормы по стадиям развития
Table 1
Timing of *Mesocentrotus nudus* ontogenesis and percentage of abnormal development,
by stages of ontogenesis

Стадия развития	Время наступления стадий развития, ч		Выживаемость организмов на различных стадиях, %	
	Монокультура, М	Поликультура, М	Монокультура, М ± м	Поликультура, М ± м
2 бластомера	1,25	1,25	98,0 ± 0,4	99,0 ± 0,4
4 бластомера	2,15	2,0	94,0 ± 0,4	96,0 ± 0,4
16 бластомеров	4,10	4,20	92,0 ± 0,2	94,0 ± 0,3
Толстостенная бластула	6,45	6,40	92,0 ± 0,2	92,0 ± 0,2
Средняя бластула	7,25	7,16	92,0 ± 0,2	96,0 ± 0,4
Поздняя бластула	9,15	8,40	91,0 ± 0,2	96,0 ± 0,4
Ранняя гастрюла	14,16	14,06	94,0 ± 0,3	94,0 ± 0,3
Поздняя гастрюла	20,15	20,08	92,0 ± 0,4	92,0 ± 0,4
Призма	24,80	24,20	92,0 ± 0,4	92,0 ± 0,4
Малый плутеус	31,15	30,70	92,0 ± 0,4	92,0 ± 0,4
Плутеус I стадии	44,0	43,90	92,0 ± 0,4	92,0 ± 0,4
Плутеус II стадии	262,0	264,0	73,0 ± 0,4	88,0 ± 0,3
Плутеус III стадии	384,0	386,0	44,0 ± 0,2	60,0 ± 0,3
Еж	912,0	914,0	40,0 ± 0,2	55,0 ± 0,2

Примечания. Число измерений — 500; достоверность выборки по коэффициенту Стьюдента — 1,96; достоверность критерия Фишера Р = 0,05. М — среднее значение, м — среднее отклонение.

Таблица 2
Сроки онтогенеза приморского гребешка и доля отклонений от нормы по стадиям развития
Table 2
Timing of *Mizuhopecten yessoensis* ontogenesis and percentage of abnormal development,
by stages of ontogenesis

Стадия развития	Время наступления стадий развития, ч		Выживаемость организмов на различных стадиях, %	
	Монокультура, М	Поликультура, М	Монокультура, М ± м	Поликультура, М ± м
1-е полярное тельце	3,0	2,6	93,00 ± 0,30	95,00 ± 0,40
2-е полярное тельце	4,0	4,2	90,00 ± 0,20	92,00 ± 0,40
2 бластомера	6,5	6,5	86,00 ± 0,20	90,00 ± 0,20
4 бластомера	8,5	8,7	83,00 ± 0,40	88,00 ± 0,30
8 бластомеров	12,4	12,3	83,00 ± 0,40	85,00 ± 0,30
16 бластомеров	16,0	15,0	81,00 ± 0,20	84,00 ± 0,30
Бластула	27,0	26,8	80,00 ± 0,20	81,00 ± 0,20
Подвижный эмбрион	37,5	37,2	79,00 ± 0,20	79,00 ± 0,20
Трохофора	44,5	44,2	72,00 ± 0,20	75,00 ± 0,20
Ранний велигер	73,0	72,0	69,00 ± 0,30	70,00 ± 0,30
Велигер	239,0	240,0	54,00 ± 0,30	60,00 ± 0,20
Великонха	436,0	434,0	5,00 ± 0,20	6,00 ± 0,20
Спат	960,0	975,0	1,00 ± 0,25	2,00 ± 0,25

Примечание. Здесь и в табл. 3 число измерений — 500; достоверность выборки по коэффициенту Стьюдента — 1,96; достоверность Р = 0,05.

Таблица 3

Развитие проростков грацилярии бородавчатой из карпоспор

Table 3

Gracilaria verrucosa sprouts development from carpospores

Стадия развития	Время наступления стадий развития, ч		Доля выживаемости проростков, %	
	Монокультура, М	Поликультура, М	Монокультура, М ± м	Поликультура, М ± м
2 бластомера	5	5	92,0 ± 0,3	93,0 ± 0,3
Диск	70	70	84,0 ± 0,4	86,0 ± 0,4
Купол	360	360	51,0 ± 0,2	54,0 ± 0,2
Проросток	720	720	40,0 ± 0,2	55,0 ± 0,2

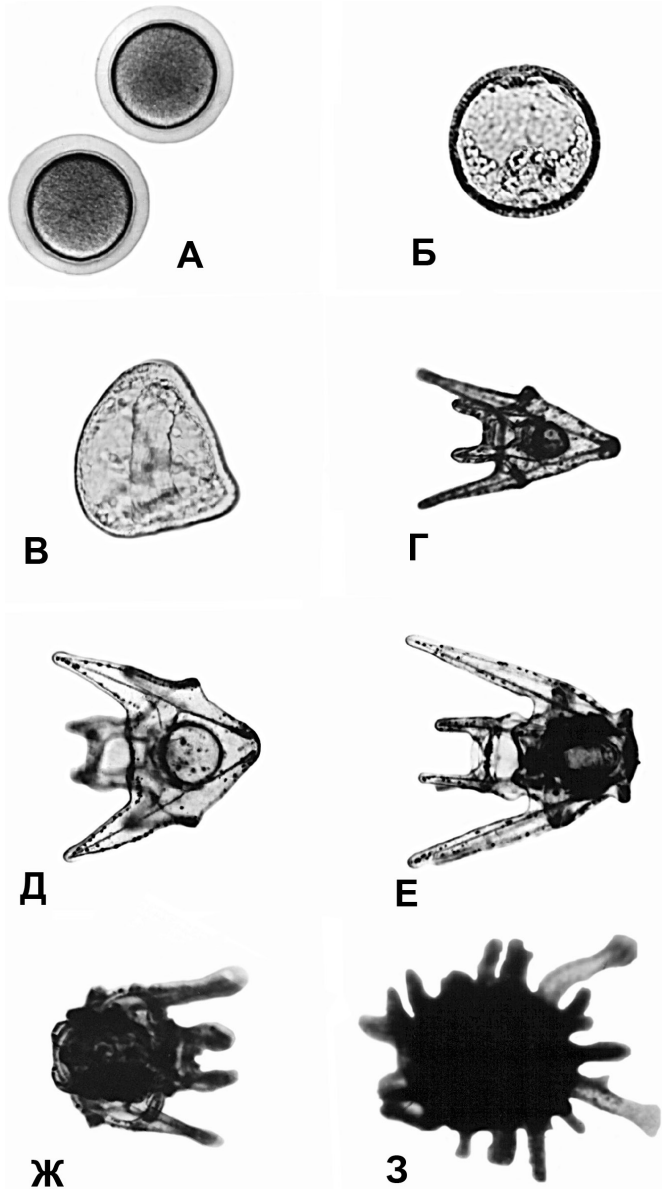


Рис. 1. Стадии развития черного морского ежа из половых продуктов, полученных от животных, содержащихся в эксперименте: А — зигота, Б — ранняя гастрюла, В — призма, Г — плутеус I стадии, Д — плутеус II стадии, Е — плутеус III стадии, Ж — перед оседанием. Ув. 100х; З — сформировавшийся еж. Ув. 20х. Микрофото. Снято с живых объектов

Fig. 1. Stages of sea urchin development from sex products received in experiment (microfoto *in vitro*): А — zygote, Б — early gastrula, В — prizma, Г — pluteus of I stage, Д — pluteus of II stage, Е — pluteus of III stage, Ж — spat before settling (100x), З — well-formed sea urchin (20x)

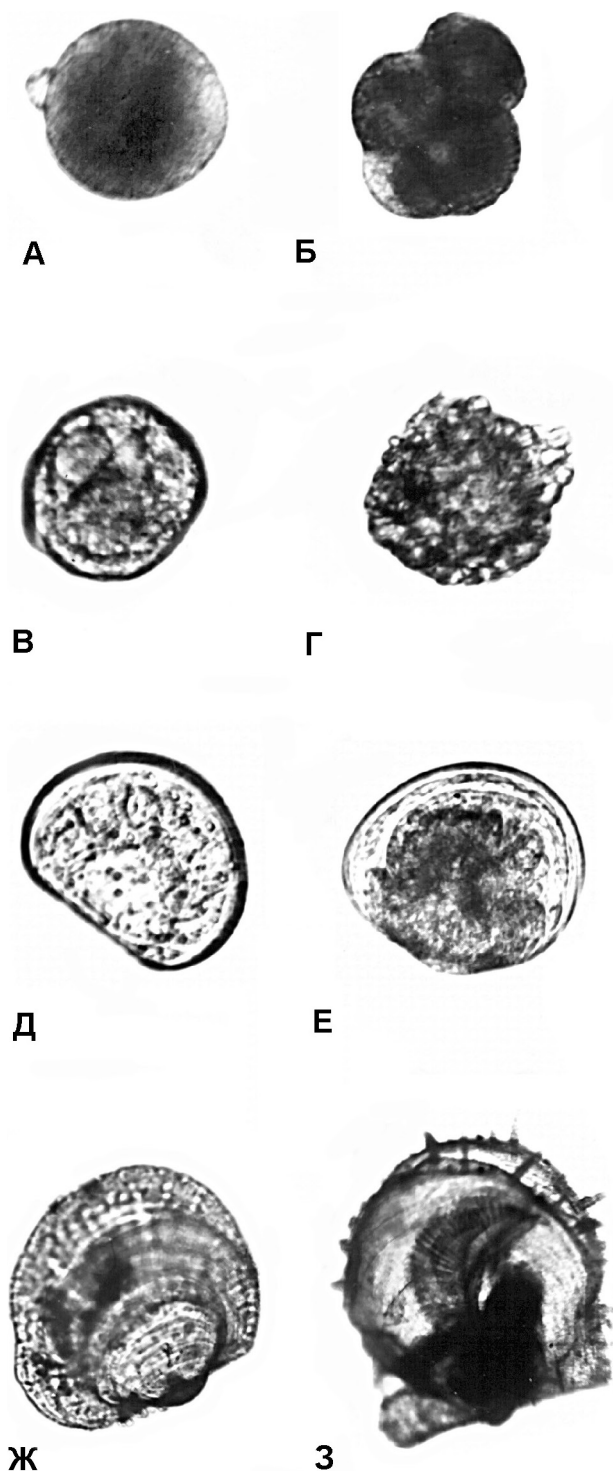


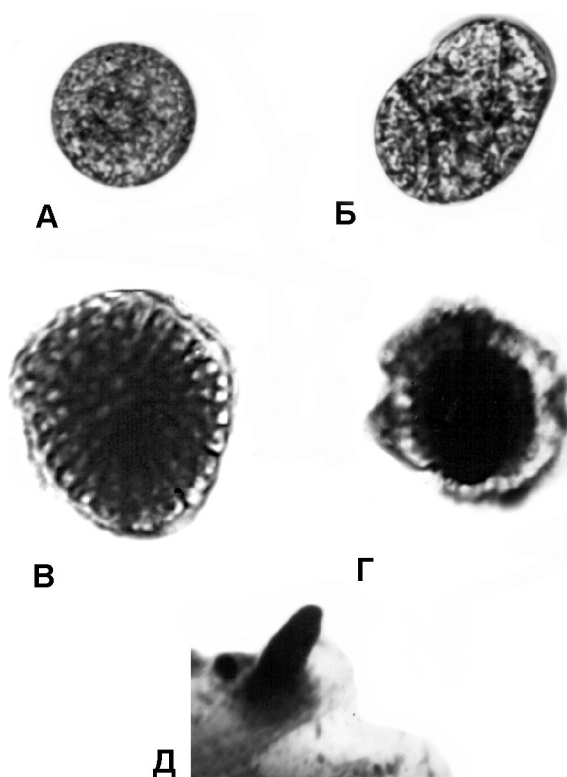
Рис. 2. Стадии развития приморского гребешка из половых продуктов, полученных от животных, содержащихся в эксперименте: **А** — первое полярное тельце, **Б** — 4 бластомера, **В** — гастрюла, **Г** — подвижный эмбрион, **Д** — велигер, **Е** — великонха. Ув. 100х; **Ж** — осевший спат, **З** — гребешок. Ув. 20х. Микрофото. Снято с живых объектов

Fig. 2. Stages of japanese scallop development from sex products received in experiment (microfoto *in vitro*): **A** — first polar body, **Б** — 4 blastomers, **В** — gastrula, **Г** — active embryo, **Д** — veliger, **Е** — veliconcha (100x), **Ж** — settled spat, **З** — well-formed scallop (20x)

При микроскопическом исследовании видно, что репродуктивный процесс у гидробионтов в моно- и поликультуре протекает аналогичным образом. В железах самок морских ежей на стадии активного гаметогенеза протекают процессы, связанные с дифференцировкой половых клеток. Отмечается рост ооцитов, увеличивается число свободнолежащих и уменьшается количество пристеночных ооцитов. В железах присутствуют все клетки гаметогенетического ряда. В семенниках идет активный сперматогенез, формируются сперматоциты первого и второго порядка, сперматиды

Рис. 3. Развитие грацилярии бородавчатой из карпоспор, полученных от слоевищ, взятых из эксперимента: А — осевшая карпоспора, Б — делящаяся карпоспора, В — стадия диска, Г — стадия купола. Ув. 100х; Д — проросток. Ув. 20х. Микрофото. Снято с живых объектов

Fig. 3. *Gracilaria verrucosa* development from carpospores received in experiment (microfoto *in vitro*): А — settled carpospore, Б — dividing carpospore, В — disk stage, Г — dome stage (100x), Д — sprout (20x)



и спермии. На стадии активного оогенеза у приморского гребешка в половой железе самки представлены все клетки гаметогенетического ряда, от оогониев до ооцитов, закончивших рост. У самцов в ацинусах и выводных протоках дифференцируются и формируются сперматоциты и сперматиды.

На преднерестовой стадии у морских ежей гонада занимает большую часть целома. У самок ацинусы заполнены крупными свободнолежащими клетками на стадии трофоплазматического и цитоплазматического роста. У самцов большую часть ацинуса занимает зона формирования. Происходит энергичный и быстрый репродукционный процесс, образуется масса сперматид, формируются спермии, постепенно заполняющие в ацинусе зону формирования, увеличивается коэффициент зрелости гонады. У самки приморского гребешка на преднерестовой стадии ацинусы достигают максимальной величины, в них преобладают клетки на стадии завершения вителлогенеза и ооциты, закончившие рост. У самца на данной стадии развития более половины ацинуса занимают зоны размножения и роста, появляется зона формирования.

На нерестовой стадии у самок и самцов морских ежей ацинусы заполнены зрелыми гаметами, готовыми к вымету. У приморского гребешка на этой же стадии ацинусы также заполнены гаметами, готовыми к вымету. Исследования, проведенные по раннему онтогенезу морского ежа, гребешка и проростков грацилярии, позволили сделать вывод, что у гидробионтов выживаемость эмбрионов и проростков в поликультуре выше по сравнению с монокультурой (табл. 1–3, рис. 1–3).

Установлено, что морской еж в процессе жизнедеятельности выделяет с детритом азот, преимущественно в виде аммиака и мочевины. Фосфор экскретируется главным образом в виде ортофосфата (Пропп, 1977).

В процессе жизнедеятельности водоросли выделяют в среду обитания метаболиты. Анализировались лишь те аминокислоты, которые являются для животных нейротрансмиттерами. На рис. 4–6 представлены эти вещества, выделяемые водорослями, поскольку данные макрофиты были использованы в качестве корма для морских ежей.

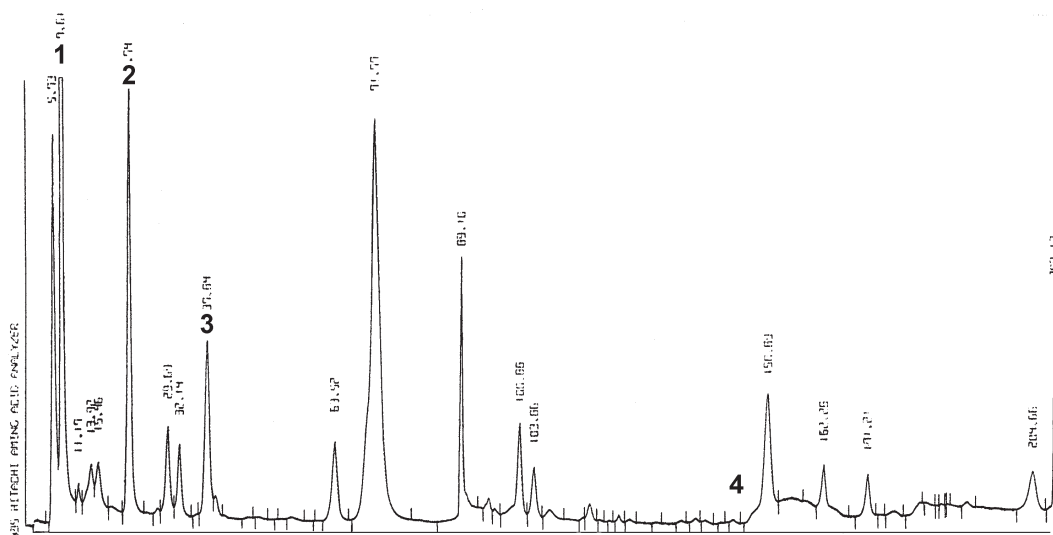


Рис. 4. Выход свободных аминокислот из грацилярии бородавчатой, мг/г: 1 — таурин — 0,0013; 2 — аспарагиновая кислота — 0,00015; 3 — глутаминовая кислота — 0,0006; 4 — гамма-аминомасляная кислота — 0,000014

Fig. 4. Free amino acids output from *Gracilaria verrucosa*, mg/g: 1 — taurin (0.0013); 2 — asparagin acid (0.00015); 3 — glutamin acid (0.0006); 4 — gamma-aminooil acid (0,000014)

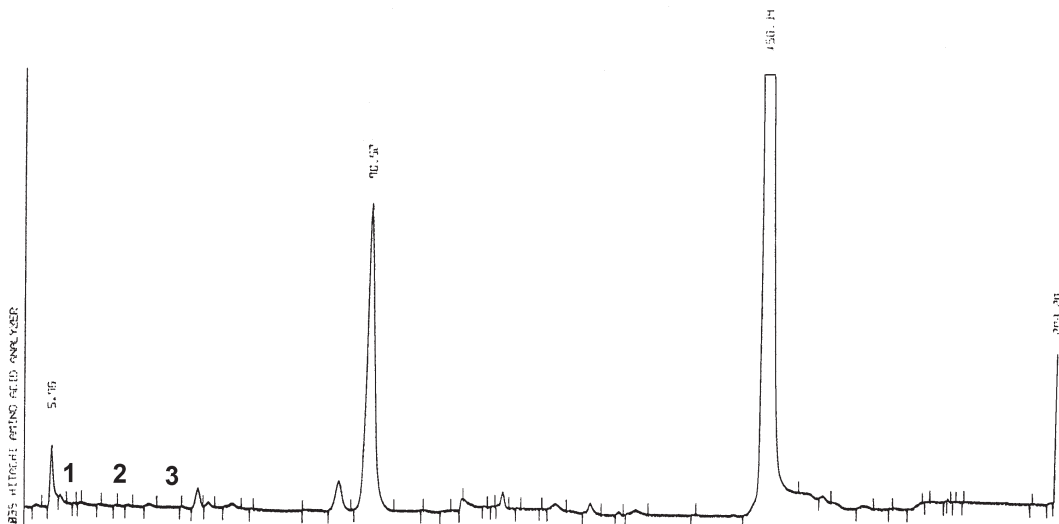


Рис. 5. Выход свободных аминокислот из ламинарии цикориеподобной, мг/г: 1 — таурин — 0,0029; 2 — аспарагиновая кислота — 0,00025; 3 — глутаминовая кислота — 0,0014

Fig. 5. Free amino acids output from laminaria, mg/g: 1 — taurin (0.0029); 2 — asparagin acid (0.00025); 3 — glutamin acid (0.0014)

Двустворчатые моллюски, как и морские ежи, в процессе жизнедеятельности обогащают воду растворенными минеральными и органическими соединениями азота и фосфора, которые выделяются ими с фекалиями и псевдофекалиями (табл. 4).

Следует отметить, что при развитии проростков грацилярии их продукционные качества выше при содержании маточных слоевищ в сообществе, где присутствуют ежи и моллюски (табл. 5, 6).

Приведенные цитохимические исследования гамет, полученных у гидробионтов в моно- и поликультуре в результате температурной стимуляции, доказывают, что по содержанию определенных химических веществ они ничем не отличаются от гамет, сформировавшихся в обычных природных условиях. Для решения поставленной задачи выбор веществ ограничивается их значением в процессе дифференцировки

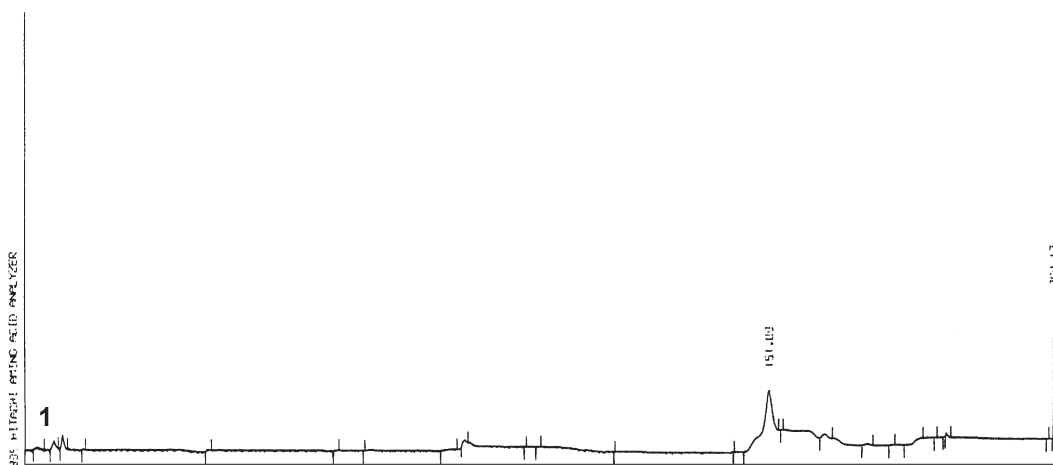


Рис. 6. Выход свободных аминокислот из тихокарпуса косматого, мг/г: 1 — таурин — 0,002
 Fig. 6. Free amino acids output from *Tichocarpus crinitus*, mg/g: 1 — taurin (0.002)

Таблица 4
 Зависимость величины рациона и его неусвоенной части (кал/экз. сут) от концентрации
 пищевых частиц (кал/л) у приморского гребешка (по: Макарова, 1986)

Table 4
 Daily ration (cal./ind.) and its inassimilable portion in dependence on concentration
 of alimentary particles for *Mizuhopecten yessoensis* (from: Макарова, 1986)

Концентрация, М ± м	Рацион, М ± м	Неусвоенная часть рациона, М ± м	Наличие псевдофекалий
1,04 ± 0,30	121,08 ± 31,34	23,14 ± 49,00	—
2,44 ± 0,12	288,98 ± 21,08	49,00 ± 91,00	—
3,13 ± 0,26	288,98 ± 20,82	77,14 ± 19,20	+
4,88 ± 0,68	289,88 ± 31,11	82,96 ± 7,43	+

Таблица 5
 Прирост биомассы грацилярии бородавчатой, % в сутки

Weight growth of *Gracilaria verrucosa*, %

Стадия развития	Монокультура	Поликультура
Ювенильная	6,7	8,9
Гаметофит	6,3	8,5
Спорофит	6,4	8,7

ооцитов. В связи с этим изучаются ДНК, РНК, белки, т.е. вещества, характеризующие пластические функции клетки. Исследования полисахаридов и мукополисахаридов клетки дают представление об образовании желтка, а исследования оксиредуктаз — об уровне энергетических функций развивающихся ооцитов и зрелых яйцеклеток в монокультуре и сообществе.

Анализ цитохимических исследований не оставляет сомнений в том, что химическая дифференцировка гамет у морских ежей и моллюсков в моно- и поликультуре и в природных условиях происходит однотипно. Этот вывод делается на основании того, что по интенсивности окраски, распределению, времени накопления и наибольшей концентрации РНК, суммарных и основных белков, липидов, гликогена, нейтральных и кислых мукополисахаридов, а также по активности сукцинатоксидоредуктазы и цитохромоксидазы в изученных клетках различий не наблюдается.

Эмбриологические наблюдения в процессе экспериментальных исследований доказывают окончательную полноценность гамет у гидробионтов, получаемых в моно- и поликультуре методом температурной стимуляции. У организмов ранний онтогенез протекает без видимых морфологических изменений по стадиям развития. Вместе с тем следует отметить, что выживаемость эмбрионов из сообщества на последней стадии развития выше.

Таблица 6

Статистическое сравнение развития гонад гидробионтов в моно- и поликультуре (n = 500)

Table 6

Statistical comparison of gonad development in mono- and polyculture

Объект исследования	Критерий Фишера $P = S_1^2/S_2^2$	Критерий Стьюдента $T = (x_1 - x_2)/\sqrt{m_1^2 + m_2^2}$	Критерий параллельности линий T_1	Критерий совпадения линий T_2
Масса гонады приморского гребешка:				
самки	0,801	2,83	1,5600	0,0077
самца	0,813	2,83	1,4644	0,0053
Масса гонады морского ежа:				
самки	0,872	4,42	0,9700	0,038
самца	0,849	9,72	1,1545	0,005
У приморского гребешка:				
объем ацинусов	0,854	2,00	1,1120	0,0075
пристеночные ооциты	1,100	11,18	0,6764	0,0066
свободнолежащие ооциты	0,773	26,52	1,8150	0,0121
У самки морского ежа:				
объем ацинусов	0,421	56,57	5,8900	0,1600
пристеночные ооциты	1,127	22,36	0,8445	0,0101
свободнолежащие ооциты	0,349	7,35	7,0540	0,0850
У самца морского ежа:				
объем ацинусов	0,517	8,94	4,5662	0,9771
объем зоны размножения	25,000	12,48	15,6900	20,0700
объем зоны роста	139,194	2437,00	7,7190	1,3350
объем зоны формирования	3,444	6,01	8,1190	1,4400
У морского ежа:				
яйцеклетка	0,885	11,34	1,446	17,370
ядро	3,186	0,43	1,670	2,268
У приморского гребешка:				
яйцеклетка	0,810	2,16	1,480	16,25
ядро	2,893	1,86	6,799	2,90

Примечание. Стандартные значения: $P = 1,2$; $K_1 = 500$; $K_2 = 500$; $T = 1,96$; $n = 500$; $P = 0,05$. T_1 — критерий Стьюдента для определения параллельности линий регрессии (различия угловых коэффициентов «в» в уравнении линий регрессии $y = a + vx$), T_2 — критерий Стьюдента для определения совпадения линий регрессии.

На основании морфологических, морфометрических, гистохимических и эмбриологических исследований делается вывод о том, что гаметы, полученные у гидробионтов в моно- и поликультуре в результате температурной стимуляции гаметогенеза, являются полноценными, и в этом отношении они не отличаются от гамет, сформировавшихся в природе. У организмов в искусственном сообществе по сравнению с монокультурой повышаются продукционные возможности, что выражается в нарастании массы гонад и талломов водоросли, увеличении числа ацинусов на единицу площади гонады, изменении клеточного состава в ацинусах самки и самца, повышении выживаемости эмбрионов в ходе раннего онтогенеза. Проведенные сравнительные исследования по развитию гидробионтов в садках на морской плантации показывают, что темп роста молоди и ее выживаемость выше у тех из них, которые развивались из гамет, полученных от организмов из сообщества (рис. 7–13). Все это свидетельствует о том, что потенции гамет гидробионтов, сформировавшихся в процессе температурной стимуляции, наиболее полно реализуются у организмов из поликультуры (табл. 6).

Проведенные экспериментальные исследования показывают, что развивающиеся в искусственном сообществе организмы улавливают мельчайшие различия в химическом фоне водной среды, которые создаются их жизнедеятельностью. В связи

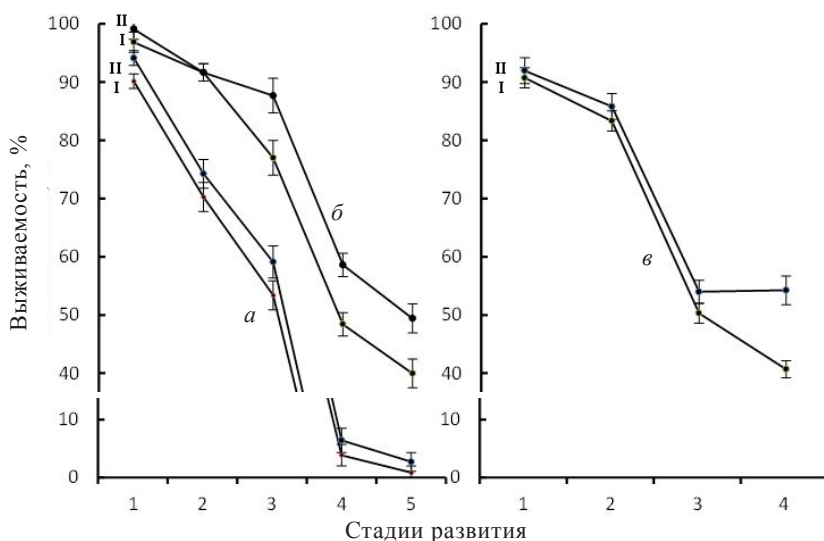


Рис. 7. Выживаемость организмов по стадиям в ходе раннего онтогенеза: *a* — у приморского гребешка, *б* — у черного морского ежа, *в* — у грацилярии бородавчатой; *I* — от монокультуры, *II* — от поликультуры. Стадии для приморского гребешка: *1* — зигота, *2* — трохофора, *3* — велигер, *4* — великонха, *5* — спат; для черного морского ежа: *1* — зигота, *2* — плутеус первой стадии, *3* — плутеус второй стадии, *4* — плутеус третьей стадии, *5* — еж; для грацилярии бородавчатой: *1* — два бластомера, *2* — диск, *3* — купол, *4* — проросток

Fig. 7. Survival in early ontogenesis (%), by stages, in monoculture (*I*) and polyculture (*II*): *a* — japanese scallop, *б* — black sea urchin, *в* — *Gracilaria verrucosa*; Stages of ontogenesis for japanese scallop: *1* — zygote, *2* — trochozoa, *3* — veliger, *4* — veliconcha, *5* — spat; for black sea urchin: *1* — zygote, *2* — pluteus of 1 stage, *3* — pluteus of 2 stage, *4* — pluteus of 3 stage, *5* — sea urchin; for *Gracilaria verrucosa*: *1* — two blastomers, *2* — disk, *3* — dome, *4* — sprout

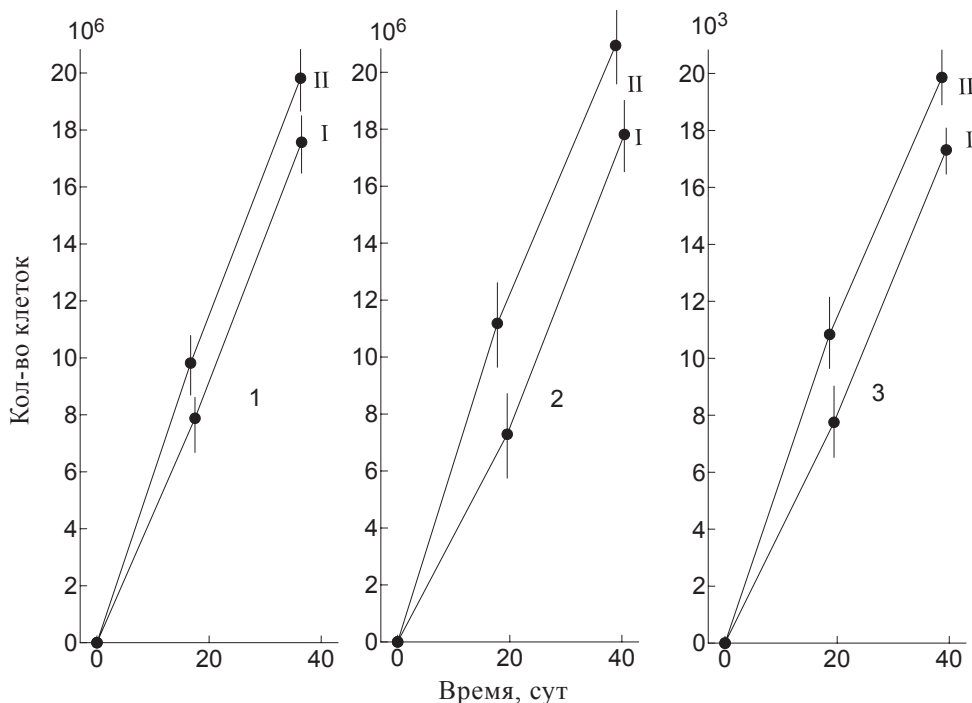


Рис. 8. Плодовитость и споровая продукция у гидробионтов: *I* — в монокультуре, *II* — в поликультуре; *1* — плодовитость у черного морского ежа, *2* — плодовитость у приморского гребешка, *3* — споровая продукция у грацилярии бородавчатой

Fig. 8. Fecundity and spore production in monoculture (*I*) and polyculture (*II*): *1* — japanese scallop, *2* — black sea urchin, *3* — *Gracilaria verrucosa*

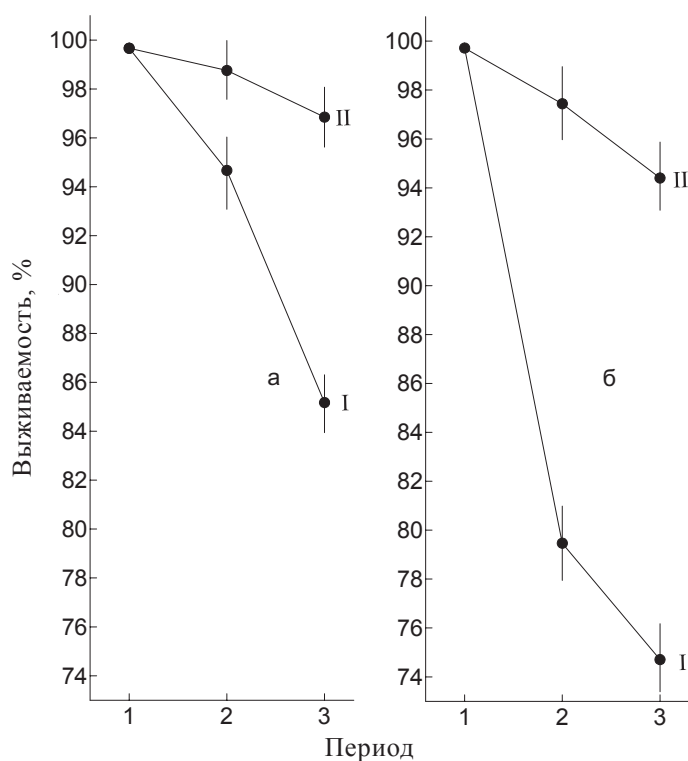


Рис. 9. Выживаемость черного морского ежа (а) и приморского гребешка (б) в садках на морской плантации; период нахождения в садках: 1 — перед помещением в садки, 2 — к концу первого года, 3 — к концу второго года; I — от монокультуры, II — от поликультуры

Fig. 9. Survival (%) of black sea urchin (а) and japanese scallop (б) in ponds on sea farm in dependence on time of living in the ponds in monoculture (I) and polyculture (II): I — in natural conditions, 2 — in the end of 1st year, 3 — in the end of 2nd year

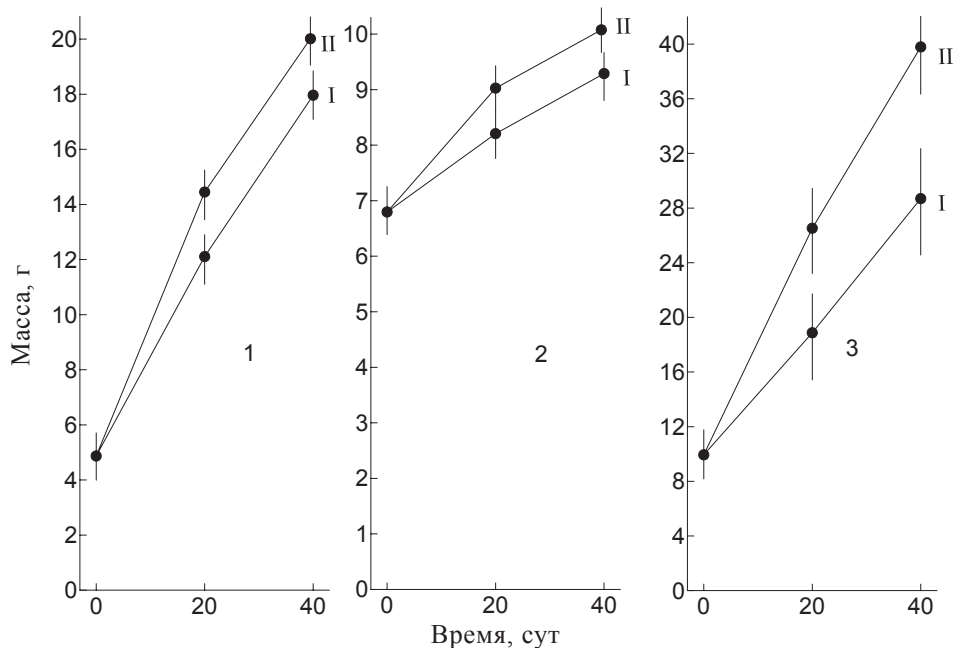


Рис. 10. Изменение массы гонады у черного морского ежа (1), у приморского гребешка (2) и массы таллома у грацилярии бородавчатой (3): I — в монокультуре, II — поликультуре

Fig. 10. Growth of gonad weight for black sea urchin (1) and japanese scallop (2) and growth of thallus weight for *Gracilaria verrucosa* (3): I — in monoculture, II — in polyculture

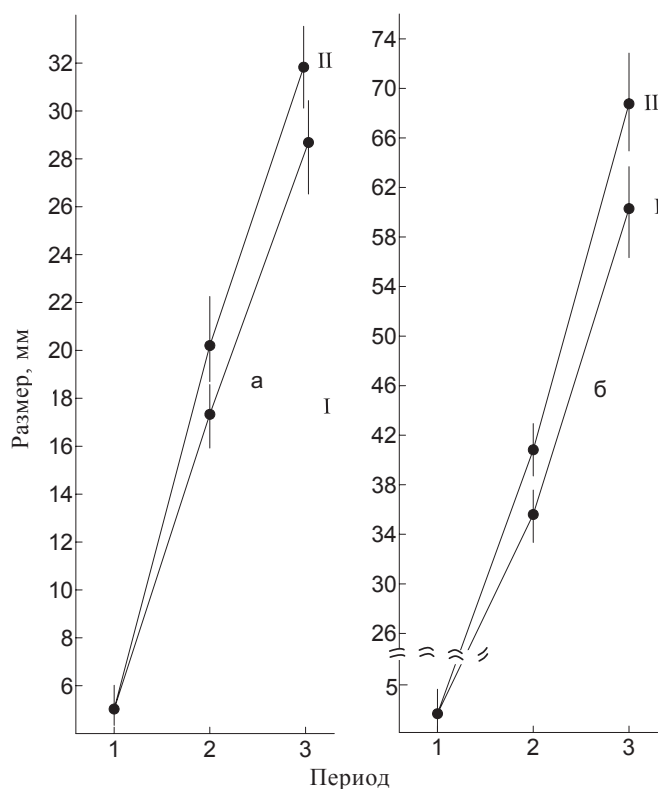


Рис. 11. Линейный рост черного морского ежа (а) и приморского гребешка (б) в садках на морской плантации: I — от монокультуры, II — от поликультуры; период нахождения в садках: I — перед помещением, 2 — к концу первого года, 3 — к концу второго года

Fig. 11. Linear growth of black sea urchin (a) and japanese scallop (б) in ponds on sea farm in monoculture (I) and polyculture (II). Linear size, mm: I — before location in ponds, 2 — in the end of 1st year of cultivation, 3 — in the end of 2nd year of cultivation

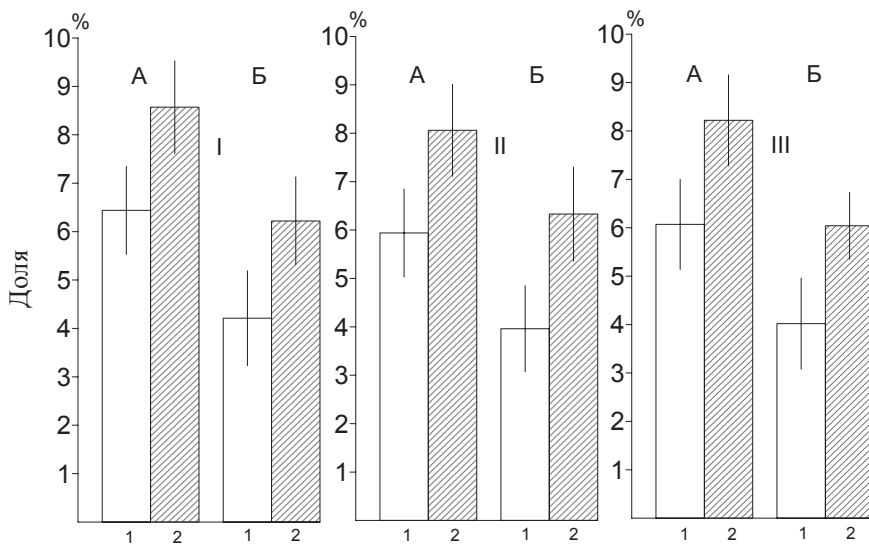


Рис. 12. Развитие проростков грацилярии бородавчатой на морской плантации: I — развитие на глубине от поверхности моря 50 см, II — развитие на глубине от поверхности моря 100 см, III — развитие на глубине от поверхности 150 см; A — прирост биомассы, % в сутки, B — увеличение линейных размеров, % в сутки; 1 — из монокультуры, 2 — из поликультуры

Fig. 12. Growth of *Gracilaria verrucosa* sprouts on sea farm in monoculture (I) and polyculture (2): I — at the depth of 50 cm, II — at the depth of 100 cm, III — at the depth of 150 cm; A — biomass increments, % per day, B — linear size increments, % per day

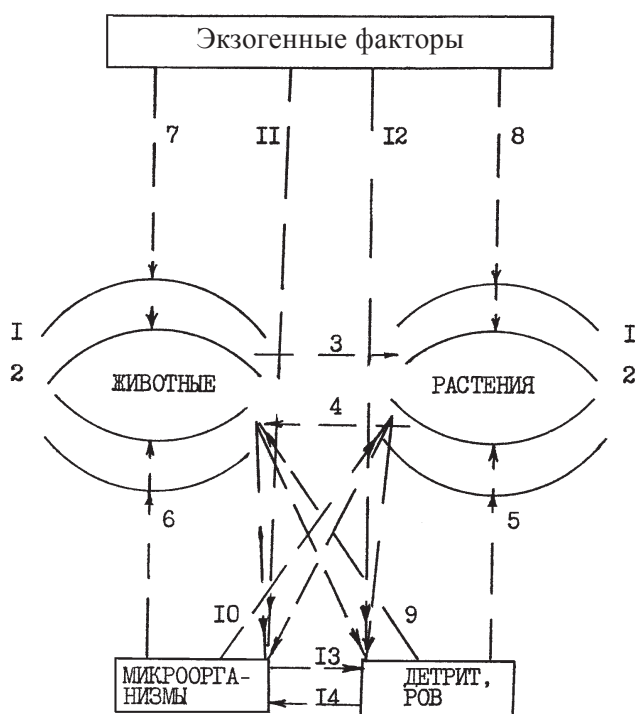


Рис. 13. Взаимодействие организмов в сообществе: 1 — рецепторы плазматической мембраны клеток; 2 — биологически активные вещества; 3–8 — прямое взаимодействие; 9–14 — опосредованное взаимодействие

Fig. 13. Scheme of organisms interaction in marine community: 1 — receptors of plasmatical membrane of cells; 2 — biological active substances; 3–8 — direct interaction; 9–14 — indirect interaction

с этим онтогенез гидробионтов в искусственном сообществе протекает, видимо, под воздействием метаболической регуляции. Постоянный обмен внутренней и внешней среды гидробионтов доказывается прямыми наблюдениями. Это создает предпосылки для развития системы коммуникаций между организмами, основанной на изменении химизма среды, специфика которой определяется особенностями обмена веществ гидробионтов, формирующих сообщество. Система связи между организмами в сообществе, которую предлагается назвать метаболической, могла явиться основой для специализированных взаимодействий по типу феромонов.

На подобные сложные взаимодействия между животными и растениями в водной среде указывают различные исследователи (Мотавкин, Вараксин, 1983; Евдокимов, Евдокимов, 2002). Показано, что типичные гуморальные регуляторы процессов, протекающих внутри организма, — гормоны — работают в сообществе и как «экзорегуляторы». Так, внесение хорионического гонадотропина стимулирует, а Д-тубокурарина — блокатора Н-зависимых рецепторов — задерживает репродукцию гамет (Мотавкин и др., 1990; Deridovich et al., 1998). Вероятно, химические коммуникации между организмами осуществляются сигналами двух типов: 1) продуктами обмена веществ гидробионтов, которые создают химический фон, определяющий развитие отдельных видов и развитие сообщества в целом; 2) феромонами — специальными веществами строго определенного физиологического назначения. Между этими группами веществ, судя по всему, нет резких границ. В качестве сигнала в принципе могут быть использованы любые продукты метаболизма организмов.

В изученном искусственном сообществе среди разнообразных биологически активных веществ (спектра аминокислот в том числе), выделяемых в водную среду водорослями, гамма-аминомасляная кислота является положительно действующим на репродуктивные системы иглокожих и двусторчатых моллюсков веществом. Об

этом свидетельствует более быстрое созревание ооцитов у гидробионтов в сообществе, чем в монокультуре. Это доказывает воздействие экзометаболитов, в частности гамма-аминомасляной кислоты, на гаметогенез гидробионтов, возможно, через нейрогуморальную регуляцию.

В мировой литературе есть сведения о наличии рецепторов к нейротрансмиттерам на поверхности ооцитов позвоночных (Мотавкин и др., 1990). Предполагают, что ооциты беспозвоночных содержат рецепторы к внутриклеточным регуляторам. Наличие таковых к дофамину было показано в цитоплазме ооцитов приморского гребешка, морского ежа и морской звезды. В течение гаметогенеза у иглокожих и моллюсков под воздействием сигналов среды (экзометаболитов) внутриклеточно формируется моноаминергическая, холинергическая, пептидергическая и стероидная регуляция, которые контролируют процесс созревания ооцитов, оплодотворения и раннего зародышевого развития (Мотавкин, Вараксин, 1983; Бузников, 1987; Deridovich et al., 1998). Этим объясняется увеличение плодовитости у гидробионтов в сообществе и повышение жизнестойкости полученных от них эмбрионов.

В то же время экспериментально доказано (Бузников, 1967), что в исследуемом сообществе помимо специфических веществ, оказывающих стимулирующее действие (гамма-аминомасляная кислота), водорослями выделяются другие — глутаминовая, аспарагиновая кислоты и таурин. По воздействию на животных они классифицируются как нейротрансмиттеры (Shirai, 1992). Отсутствие стимулирующего эффекта этих веществ подтвердилось в ходе эксперимента. По-видимому, активность выделяемых водорослями веществ зависит от экологических условий и состава организмов, населяющих сообщество.

Как известно из литературных данных (Бузников, 1967), выделяемые из экскретов беспозвоночных соединения биогенных элементов меняют содержание фосфора и азота в воде и влияют на развитие водорослей. Использование в исследуемом сообществе метаболитов гидробионтов для стимуляции жизнедеятельности водоросли (грацилярии бородавчатой) свидетельствует о положительном эффекте влияния этих веществ на прирост биомассы и качество продукции спор.

Таким образом, экспериментальные исследования показали, что репродуктивный процесс вышеуказанных организмов протекает в моно- и поликультуре согласно закономерностям, характерным для данных животных и описанным ранее рядом исследователей (Касьянов и др., 1980; Мотавкин, Вараксин, 1983; Мотавкин и др., 1990; Евдокимов, 2008; Евдокимов, Матросова, 2009).

Цветность гонад животных, по нашему мнению, зависит от их корма, а также от белков, жиров, углеводов и других компонентов, включая пигменты, формирующиеся в процессе гонадогенеза.

В половом цикле исследуемых животных в моно- и поликультуре, как следует из экспериментальных данных, отмечаются различия в половой зрелости гонад гидробионтов, а также по жизнестойкости их эмбрионов. В наибольшей степени эти показатели отмечаются у организмов в искусственном сообществе, состоящем из макрофитов, ежей и моллюсков, в наименьшей — в монокультуре. Очевидно, что гидробионты, обитающие в поликультуре, находятся под воздействием метаболитов, среди которых важное значение имеют амины (Сиренко, Козицкая, 1988; Крупнова, Павлючков, 2000; Мотавкин, 2003).

Экзометаболиты животных в сообществе оказывают положительное воздействие в целом на физиологическое состояние грацилярии, что выражается в нарастании биомассы и увеличении прочности ее геля. Это согласуется с литературными данными (Бузников, 1967; Барбье, 1978; Deridovich et al., 1998).

Грацилярия бородавчатая в поликультурном сообществе выделяет свободные аминокислоты, оказывая стимулирующее воздействие на репродуктивный процесс гидробионтов. Экспериментально установлено, что стимулирующий эффект в сообществе достигается лишь за счет выделения гамма-аминомасляной кислоты. Сахарина цикориоподобная и тихокарпус косматый не выделяют эту кислоту. Стимулирующий

эффект репродуктивной системы не достигался, если в сообществе отсутствовала грацилярия. Моллюски, фильтруя воду, активно перемешивают ее, и 10 г грацилярии вполне достаточно, чтобы в данном искусственном сообществе у беспозвоночных осуществлялась стимуляция гонад.

Если учесть, что скорость фильтрации у приморского гребешка по данным Д.И. Вышкварцева (1979) при температуре воды 18–20 °С в размерном диапазоне моллюсков от 22 до 130 мм изменяется от 0,05 до 18,60 л/экз. час, можно предположить, что моллюски способны удовлетворить свои пищевые потребности за счет суммарного количества бактериопланктона, фитопланктона и органического детрита, если их содержать с животными, такими как ежи, способствующими формированию детрита.

Очевидно, что выделяемая красными водорослями гамма-аминомасляная кислота оказывает положительное влияние на потенциальные возможности формирующихся гамет в искусственном сообществе.

По-видимому, сигналы, поступающие из среды обитания в клетки организмов, посредством нейротрансмиттеров воздействуют на формирование в их репродуктивных органах внутриклеточных систем в оогенезе (Deridovich et al., 1998). Сформировавшиеся при этом гаметы в полной мере обладают основными регуляторными системами (Бузников, 1987). В поликультуре под воздействием нейротрансмиттеров в гонадах животных в процессе развития ооцитов формируются системы внутриклеточной моноамин-, холин-, пептидергической и стероидной регуляции, принимающие участие в созревании ооцитов, оплодотворении гамет и регуляции раннего онтогенеза (Мотавкин и др., 1990; Евдокимов, Матросова, 2009). Этим, вероятно, объясняется повышенная жизнестойкость эмбрионов в поликультуре.

Заключение

Проанализированные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о том, что в исследуемом сообществе выделяемые гидробионтами в среду продукты обмена веществ создают химический фон, который определяет ход роста и развития организмов. Основой действия метаболической активности на репродуктивный процесс гидробионтов в сообществе, по всей видимости, являются специфические экзометаболиты, которые определяют уровень метаболизма отдельных тканей. Так, продукционные возможности гидробионтов в сообществе у грацилярии увеличиваются за счет экзометаболитов беспозвоночных, создающих оптимальный режим ее питания, а у беспозвоночных — в результате стимулирующего воздействия биологически активных веществ, которые выделяются в среду обитания водорослями.

Из вышеизложенного следует, что биологические основы поликультуры в контролируемых условиях определяются следующим: в сообщество следует вводить организмы разных трофических уровней, не конкурирующие в борьбе за пищу, они должны составлять единую пищевую цепь, в которой происходит утилизация их экзометаболитов. Поликультура управляется путем изменения количества представителей культивируемых видов в сообществе и воздействия на них определенными абиотическими факторами. В искусственно сформированном сообществе при создании оптимальных условий продукционные возможности организма повышаются, что позволяет получать максимальную продукцию с определенной площади, это — принципиально новый путь регуляции природных процессов, так как «метаболиты» по своей природе специфичны и поэтому абсолютно безопасны с экологической точки зрения (Шварц, 1969; Вышкварцев, 1979; Биотехнология..., 1993; Ключенко, 1994). В настоящее время при развитии прибрежного рыболовства вместо пассивной охраны природы следует работать в другом направлении — создавать оптимальную природную среду, продукционные и стабильные биогеоценозы, способные к саморегулированию. Изучение размножения и продукционных возможностей организмов в сообществах при переходе к активному управлению онтогенезом является в настоящее время актуальной задачей.

Список литературы

- А.с. № 1083991 СССР.** Способ получения половых продуктов двустворчатых моллюсков / Г.И. Викторовская, В.В. Евдокимов, П.А. Мотавкин. Заявл. 02.07.82; Опубл. 07.04.84. Бюл. № 13.
- А.с. № 1223885 СССР.** Способ задержки нереста морского гребешка / Г.И. Викторовская, В.В. Евдокимов, П.А. Мотавкин и др. Заявл. 20.07.84; Опубл. 15.04.86. Бюл. № 14.
- Барбье М.** Введение в химическую экологию : моногр. — М. : Мир, 1978. — 229 с. (Пер. с франц.)
- Биотехнология получения молоди морского ежа *Strongylocentrotus nudus* в контролируемых условиях** / В.В. Евдокимов, Г.И. Викторовская, И.В. Бирюкова. — Владивосток : ТИНРО, 1993. — 16 с.
- Бузников Г.А.** Нейротрансмиттеры в эмбриогенезе : моногр. — М. : Наука, 1987. — 232 с.
- Бузников Г.А.** Низкомолекулярные стимуляторы зародышевого развития : моногр. — М. : Наука, 1967. — 265 с.
- Бузников Г.А., Подмарев В.К.** Морские ежи *Strongylocentrotus drobachiensis*, *S. nudus*, *S. intermedius* // Объекты биологии развития. — М. : Наука, 1975. — С. 188–216.
- Вараксин А.А.** Регуляторные пептиды и половые стероидные гормоны в регуляции размножения двустворчатых моллюсков и морских ежей : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Владивосток, 1994. — 53 с.
- Волкова О.В., Елецкий Ю.К.** Основы гистологии с гистологической техникой : учеб. — М. : Медицина, 1982. — 304 с.
- Вышкварцев Д.И.** Особенности продукционных процессов в мелководных бухтах зал. Посыета (Японское море) : автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Владивосток, 1979. — 21 с.
- Евдокимов В.В.** Изучение размножения морских ежей в условиях марикультуры в ТИНРО-центре // Изв. ТИНРО. — 2005. — Т. 141. — С. 284–296.
- Евдокимов В.В.** Репродуктивная биология морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* и *Strongylocentrotus nudus* : моногр. — Владивосток : ТИНРО-центр, 2008. — 116 с.
- Евдокимов В.В., Евдокимов А.В.** Взаимодействие гидробионтов в поликультуре при воспроизводстве в контролируемых условиях // Изв. ТИНРО. — 2002. — Т. 131. — С. 373–380.
- Евдокимов В.В., Матросова И.В.** Репродуктивная биология морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* и *Strongylocentrotus nudus* // Тихоокеан. мед. журн. — 2012. — № 2. — С. 105–110.
- Евдокимов В.В., Матросова И.В.** Сезонная характеристика гаметогенеза некоторых промысловых гидробионтов // Цитология. — 2009. — Т. 51, № 10. — С. 856–864.
- Евдокимов В.В., Родин В.Е., Викторовская Г.И., Павлючков В.А.** Размножение морских ежей и приморского гребешка в прибрежных сообществах Японского моря // Онтогенез. — 1997. — Т. 28, № 1. — С. 49–54.
- Калинина Г.Г., Евдокимов В.В., Матросова И.В.** Морфофункциональная оценка гамет и их потенциалов при воздействии светом на морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* // Науч. тр. Дальрыбвтуза. — 2012. — Вып. 26. — С. 13–21.
- Касьянов В.Л.** Репродуктивная стратегия морских двустворчатых моллюсков и иглокожих : моногр. — Л. : Наука, 1989. — 181 с.
- Касьянов В.Л., Медведева Л.А., Яковлев С.Н., Яковлев Ю.М.** Размножение иглокожих и двустворчатых моллюсков : моногр. — М. : Наука, 1980. — 204 с.
- Клоченко П.Д.** Амины — экзо- и эндометаболиты водорослей // Гидробиол. журн. — 1994. — Т. 30, № 5. — С. 42–62.
- Крупнова Т.Н., Павлючков В.А.** Питание серого морского ежа (*Strongylocentrotus intermedius*) в северо-западной части Японского моря // Изв. ТИНРО. — 2000. — Т. 127. — С. 372–381.
- Лакин Г.Ф.** Биометрия : учеб. пособие. — М. : Высш. шк., 1980. — 293 с.
- Левин В.С., Коробков В.А.** Морские ежи России. Биология, промысел, использование : моногр. — СПб. : ДОРН, 2003. — 256 с.
- Макарова Л.Г.** Продукционные характеристики приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* (Jay) как объекта марикультуры : автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л., 1986. — 20 с.
- Мотавкин П.А.** Введение в нейробиологию : учеб. пособие. — Владивосток : Медицина ДВ, 2003. — 252 с.
- Мотавкин П.А., Вараксин А.А.** Гистофизиология нервной системы и регуляция размножения у двустворчатых моллюсков : моногр. — М. : Наука, 1983. — 205 с.
- Мотавкин П.А., Хотимченко Ю.С., Деридович И.И.** Регуляция размножения и биотехнология получения половых клеток у двустворчатых моллюсков : моногр. — М. : Наука, 1990. — 216 с.

Пропп М.В. Азотный и фосфорный обмен иглокожих // Систематика, эволюция, биология и распределение современных и вымерших иглокожих. — Л., 1977. — С. 54–56.

Сиренко Л.А., Козицкая В.Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды : моногр. — Киев : Наук. думка, 1988. — 256 с.

Хайлов К.М. Экологический метаболизм в море : моногр. — Киев : Наук. думка, 1971. — 252 с.

Шварц С.С. Эволюционная экология животных : моногр. — Свердловск : АН СССР, 1969. — 200 с.

Deridovich I.I., Motavkin P.A., Evdokimov V.V. et al. Bivalve Mollusc and Echinoderm Reproduction: Sex Cells and Spat // Marine biotechnology. Vol. 1: Endocrinology and Reproduction. — New Delhi ; Calcutta : Oxford & IBH Publishing Co. PVT. LTD, 1998. — P. 23–72.

Haug E., Guillou M., Connan S. et al. HPLC analysis of algal pigments to define diet of sea urchins // J. Mar. Biol. Ass. U. K. — 2003. — Vol. 83, № 3. — P. 571–573.

Shirai H. Substances controlling oocyte maturation and spawning in starfish // Contrib. Ushimado Mar. Lab. / Okayama Univ. — 1992. — Vol. 34 (№ 334). — P. 57–62.

Yamamoto G. Studies on the propagation of the scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay), in Mutsu Bay // Suisan-zouyoushoku-guoshu. — 1964. — № 6. — P. 1–77. (In Jap.)

Поступила в редакцию 11.12.17 г.

Принята в печать 26.02.18 г.