



Г.Г. Корниенко, С.И. Дудкин, Л.А. Бугаев, С.Г. Сергеева,
Л.П. Ружинская, Е.А. Кожурин, Н.И. Цема, М.А. Махоткин

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
БИОЛОГИИ ПИЛЕНГАСА
PLANILIZA HAEMATOCHEILA
(TEMMINCK & SCHLEGEL, 1845)
В АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОМ БАССЕЙНЕ**

Монография



СЕРИЯ

**ВОДНЫЕ
БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ
АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОГО БАССЕЙНА**

Ростов-на-Дону
2021

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ (ФГБНУ «ВНИРО»),
АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКИЙ ФИЛИАЛ ФГБНУ «ВНИРО» («АЗНИИРХ»)



Г.Г. Корниенко, С.И. Дудкин, Л.А. Бугаев, С.Г. Сергеева,
Л.П. Ружинская, Е.А. Кожурин, Н.И. Цема, М.А. Махоткин

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
БИОЛОГИИ ПИЛЕНГАСА *PLANILIZA HAEMATOSHEILA*
(TEMMINCK & SCHLEGEL, 1845)
В АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОМ БАССЕЙНЕ**

Монография

Ростов-на-Дону
2021

УДК 597.5:[577.1+597-11+504.6](262.5)

ББК 28.693.32

Ф 48

Корниенко Г.Г. (руководитель), д.б.н., профессор, **Дудкин С.И.**, к.б.н., доцент, **Бугаев Л.А.**, к.б.н., доцент, **Сергеева С.Г.**, к.б.н., **Ружинская Л.П.**, **Кожурин Е.А.**, **Цема Н.И.**, **Махоткин М.А.**, к.б.н.

Ф 48 Физиологические и генетические аспекты биологии пиленгаса *Planiliza haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845) в Азово-Черноморском бассейне / Корниенко Г.Г., Дудкин С.И., Бугаев Л.А., Сергеева С.Г., Ружинская Л.П., Кожурин Е.А., Цема Н.И., Махоткин М.А. – Ростов-на-Дону: Изд-во Мини Тайп, 2021. 208 с.

ISBN 978-5-98615-467-1

Научное издание «Физиологические и генетические аспекты биологии пиленгаса *Planiliza haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845) в Азово-Черноморском бассейне» печатается согласно решению Ученого совета Азово-Черноморского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ») от 23.09.2020, протокол № 19.

Дана характеристика физиологического состояния пиленгаса *Planiliza haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1945) при формировании маточного стада в начале акклиматизации (1979–1983 гг.) в Азово-Черноморском бассейне. По результатам многолетних исследований установлены размерно-возрастная, сезонная, годовая динамика физиологических параметров, половая специфика обмена веществ и особенности размножения пиленгаса.

Показано, что новые условия размножения и формирования популяции, отличающиеся от нативного ареала температурным режимом, соленостью, кормовой базой и др., привели к изменению некоторых показателей физиологического состояния пиленгаса, обитающего в настоящее время в Азовском море. У пиленгаса из современной азовской популяции выявлен более высокий темп соматического роста и уровень накопления резервных веществ в тканях по сравнению с дальневосточным пиленгасом. Метаболические особенности пиленгаса обеспечивают его стабильную репродукцию в современных трофических и экотоксикологических условиях ареала. Приспособленность пиленгаса к питанию детритом, потенциально содержащим ксенобиотики микробиального или иного происхождения, сопровождается присущей виду высокой детоксикационной активностью, что позволяет ему преодолевать воздействие антропогенной токсикации среды обитания.

Исследованы физиологические границы для осуществления производителями продуктивного нереста, условий, лимитирующих эффективность воспроизводства популяции; проведен расчет репродуктивного потенциала популяции и анализ влияющих на него факторов.

Не только вся акватория собственно Азовского моря, но и центральная и западная части Таганрогского залива, а также обширные акватории осолоненных кубанских лиманов по всем эколого-функциональным параметрам являются местами размножения пиленгаса и источниками пополнения его промысловой популяции.

Обобщены результаты исследования по белковому полиморфизму пиленгаса, его адаптивной связи с уровнем солености в Азовском море. Получены материалы исследования фенотипической структуры пиленгаса в Азовском море, позволяющие количественно оценить миграцию рыб в Черное море.

Материалы книги могут быть полезны при оценке показателей, характеризующих интенсивность антропогенного воздействия на функциональное состояние пиленгаса, акклиматизированного в Азово-Черноморском бассейне, при его воспроизводстве в разных водоемах бассейна и при разработке биотехники искусственного разведения.

Книга представляет интерес для специалистов, занимающихся теоретическими и практическими вопросами ихтиологии, экологии, физиологии, генетики и воспроизводства рыбных запасов.

Рецензенты:

доктор биологических наук, профессор

Чебанов М.С.

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник

Пьянова С.В.

ISBN 978-5-98615-467-1

© Коллектив авторов, 2021

© Изд-во Мини Тайп, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
Предисловие	6
Введение	9
Глава 1. Краткая история интродукции пиленгаса в Азово-Черноморский бассейн	15
Глава 2. Материал и методика исследований	19
Глава 3. Характеристика физиологического состояния пиленгаса <i>Planiliza haematocheila</i> (Temminck & Schlegel, 1845) при формировании маточного стада в начале акклиматизации (1979-1983 гг.) (<i>Корниенко Г.Г., Бойко Н.Е., Баденко Л.В.</i>)	27
Глава 4. Особенности физиолого-биохимического состояния пиленгаса в Азово-Черноморской (морской) зоне Российской Федерации (<i>Дудкин С.И., Корниенко Г.Г., Сергеева С.Г., Цема Н.И.</i>)	40
Глава 5. Физиологические аспекты роста, полового цикла, созревания пиленгаса Азово-Черноморского бассейна (<i>Ложичевская Т.В., Корниенко Г.Г., Ружинская Л.П., Сергеева С.Г., Рудницкая О.А., Дудкин С.И.</i>)	62
5.1. Адаптационные особенности репродуктивной системы пиленгаса из Азово-Черноморского бассейна	62
5.2. Физиолого-биохимическая характеристика пиленгаса при созревании гонад в различных водоемах Азово-Черноморского бассейна	72
5.3. Морфофизиологическая характеристика печени и селезенки пиленгаса	85
5.4. Гематологические показатели пиленгаса	92
Глава 6. Биологическая и физиолого-биохимическая характеристика пиленгаса в условиях Азово-Черноморского бассейна с учетом воздействия загрязняющих веществ (<i>Корниенко Г.Г., Дудкин С.И., Цема Н.И., Корткова Л.И., Корпакова И.Г.</i>)	102
6.1. Физиологическая характеристика пиленгаса в условиях антропогенной нагрузки	102

6.2.	Влияние хлорорганических соединений на физиологические показатели пиленгаса в Черном море	105
6.3.	Характеристика ксенобиохимических параметров и адаптивных антиоксидантных систем пиленгаса	109
Глава 7.	Воспроизводство пиленгаса в разных биотопах Азово-Черноморского бассейна (оз. Ханское – Бейсугский лиман, лиманы Витязевский, Кизилташский, Цокур) (Дудкин С.И., Корниенко Г.Г., Бугаев Л.А., Махоткин М.А., Сергеева С.Г., Кожурин Е.А.)	118
Глава 8.	Эколого-генетическая изменчивость популяции пиленгаса Азово-Черноморского бассейна по морфо-метрическим признакам и белковому полиморфизму (Дехта В.А., Махоткин М.А., Дудкин С.И., Сергеева С.Г.)	134
8.1.	Анализ морфометрической изменчивости популяции пиленгаса в зависимости от солености	134
8.2.	Анализ фенотипической изменчивости структурных компонентов популяции пиленгаса	142
8.3.	Биохимическая генетика пиленгаса	154
8.4.	Эколого-генетические различия пиленгаса в акватории Азовского моря и прилегающих водоемов	161
8.5.	Особенности генетической структуры дальневосточной и азовской популяций пиленгаса	172
8.6.	Снижение генетического разнообразия пиленгаса в результате интродукции в Азовское море: эффект бутылочного горлышка	174
Глава 9.	Биологическое обоснование промышленного лова пиленгаса (<i>Planiliza haematocheila</i> (Temminck & Schlegel, 1845)) в Черном море (Дудкин С.И., Реков Ю.И., Дехта В.А., Кожурин Е.А.)	182
Заключение	187
Список использованных источников	194

ПРЕДИСЛОВИЕ

Книга, предлагаемая вниманию читателей, содержит результаты многолетних эколого-физиологических и генетических исследований, выполненных на уникальном объекте ихтиофауны — дальневосточном пиленгасе *Planiliza haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845), акклиматизированном в Азово-Черноморском бассейне.

Исторический ход развития физиологии и генетики как науки в АзНИИРХ изначально связан с интересами рыбного хозяйства, которые, в известной мере, и определяют цели, задачи и содержание исследований. В программе научных работ, проводимых Азовским НИИ рыбного хозяйства, физиологическим исследованиям всегда уделялось должное внимание. Предшествующие публикации авторов (1985, 1996-2004, 2008-2015 гг.) и издание данной книги еще раз это подтверждают. Представленная работа отражает важный этап физиологических и генетических аспектов биологии пиленгаса, сформировавшего в Азово-Черноморском бассейне самовоспроизводящуюся популяцию.

В современный период Азовское море испытывает мощное антропогенное воздействие, следствием которого стало снижение запасов и уловов промысловых рыб. В связи с этим важно понять, сохраняет ли Азовское море, как среда обитания, условия устойчивого воспроизводства пиленгаса и каким образом можно реально повысить его рыбохозяйственный статус.

В данной книге представлены материалы:

- по особенностям физиолого-биохимического состояния пиленгаса в Азово-Черноморском бассейне, в т.ч., в начале акклиматизации;
- по физиологическим аспектам роста, полового цикла, созревания, а также ксенобиохимическим параметрам пиленгаса в разных биотопах его обитания;

— по эколого-генетической изменчивости популяции в Азово-Черноморском бассейне в сравнении с показателями рыб из нативного водоема.

Авторы используют обширный фактический материал по срокам, охватывающим почти сорокалетний период, который включает разные сценарии событий в Азовском море и формирование популяции пиленгаса. На основе систематизации материалов физиолого-биохимического и генетического состояния пиленгаса сделан важный вывод о том, что, несмотря на значительные изменения среды обитания, современный уровень развития биологических ресурсов в Азовском море, в т.ч. пиленгаса, сохраняет условия для их воспроизводства.

Результаты исследований, обобщенные в книге, находят применение при решении важных вопросов по определению национальных квот вылова пиленгаса России и других государств в Азовском и Черном морях.

Кроме того, они могут стать основой всевозможных научных дискуссий, экспертиз, темой общественных слушаний и т.д.

Сборы основных материалов по биологии пиленгаса в Азовском море осуществлялись в рамках мониторинга состояния среды и запасов промысловых объектов бассейна, выполняемого в соответствии с отраслевой программой «Научно-техническое обеспечение рыбного хозяйства» и на средства Федерального агентства Российской Федерации по рыболовству.

В выполнении текущих мониторинговых исследований в Азовском море и в Российской зоне Черного моря принимали участие сотрудники:

от АзНИИРХ — зав. отделом, д.б.н. Г.Г. Корниенко, к.б.н. Л.В. Баденко, д.б.н. Н.Е. Бойко, зав. отделом, к.б.н. Л.А. Бугаев, зав. отделом, к.б.н. С.И. Дудкин, к.б.н. В.А. Дехта, к.б.н. Л.И. Короткова, д.б.н. И.Г. Корпакова, Т.В. Ложичевская,

к.б.н. М.А. Махоткин, О.А. Рудницкая, Л.П. Ружинская, к.б.н. Ю.И. Реков, к.б.н. С.Г. Сергеева, Н.И. Цема, которые включены в авторский список глав монографии.

Вместе с материалами сотрудников ФГБНУ «ВНИРО» (АзНИИРХ) использованы материалы сотрудников Института генетики им. Вавилова РАН и Института биологии моря Дальневосточного отделения РАН.

Авторы будут благодарны за любые отклики, замечания, предложения и надеются, что, несмотря на неполноту и неравнозначность содержания отдельных разделов, книга может быть полезна специалистам и людям, равнодушным к проблемам судьбы биоресурсов Азовского моря. Изучение пиленгаса Азово-Черноморского бассейна необходимо продолжать, используя разные направления исследований.

*Г.Г. Корниенко, профессор,
доктор биологических наук*

ВВЕДЕНИЕ

Искусственное вселение в новые места обитания с целью акклиматизации или в результате иной деятельности человека приобрело большие масштабы. Известно, что акклиматизация далеко не всегда оказывается успешной, нередко она сопряжена с различными негативными последствиями для аборигенных видов и рассматривается как «биологическое загрязнение». В то же время она открывает возможности для исследования процессов, которые происходят при переселении популяций в новую среду обитания и, очевидно, происходили в ходе исторического расселения видов. Поскольку при акклиматизации перемещается лишь часть генофонда популяции-донора и возможны резкие падения эффективной численности, можно ожидать, что в новой популяции в силу случайных причин объем генетической изменчивости будет меньше исходного уровня. При этом, если вид начинает успешно воспроизводиться в новой среде, в его генетической структуре могут происходить те или иные изменения, сопряженные с адаптацией, в т.ч. с физиолого-биохимическими процессами.

В качестве объекта такого исследования нами был взят дальневосточный вид кефали — пиленгас, обитающий вдоль материкового побережья Японского моря и вселенный в бассейны Азовского моря. Вопрос о его акклиматизации в южных морях СССР был поставлен в связи со значительным снижением в 1960–1970-х гг. численности ценных местных промысловых видов рыб, прежде всего кефалевых, искусственное воспроизводство которых оказалось малоэффективным (Казанский и др., 1968; Казанский, 1971; Зайцев и др., 1977). Свойственные пиленгасу большая экологическая пластичность, эвригалинность, устойчивость к широкому диапазону температур и дефициту кислорода позволяли надеяться на успех его акклиматизации. Но в начале таких ра-

бот — при вселении пиленгаса в Черное и Каспийское моря (конец 1960-х – начало 1970-х гг.) — натурализации вида не произошло.

С 1978 по 1984 г. было проведено поэтапное вселение пиленгаса, отловленного в Амурском и Уссурийском заливах Японского моря, в бассейн Азовского моря. Сведения об объемах перевозок молоди противоречивы: от 6,5 до 127 тыс. экз. и 175 разновозрастных рыб. Как свидетельствуют данные Ростовской производственно-акклиматизационной станции, последние цифры по количеству молоди, видимо, из-за опечатки, завышены в 10 раз (Семененко, 1987; Сабодаш, Семененко, 1995). В новых условиях пиленгас значительно быстрее рос и созревал, достигая более крупных размеров, чем в нативном ареале. Акклиматизационные работы, создание маточного стада и выпуск молоди в Азовское море к концу 1980-х гг. завершились формированием самовоспроизводящейся популяции пиленгаса, и вселенец, распространившийся и в Черное море, был включен в число промысловых видов рыб Азово-Черноморского бассейна. Его ежегодный вылов колебался от 3,05 до 8 и более тыс. т, тогда как максимальный вылов в Приморском крае (Приморье) не превышал 500 т (Мизюркина, 1982).

Питаясь в основном детритом и являясь фактически единственным детритофагом, пиленгас не составил заметной пищевой конкуренции местной ихтиофауне и не оказал существенного влияния на экосистемы морей в целом. Правда, в последнее время по поводу безвредности вселенца возникли сомнения, поскольку предполагается, что при расширении спектра питания он может конкурировать с севрюгой. Тем не менее, интегральных оценок его возможного влияния на биоценозы в освоенном ареале до сих пор нет (Шадрин, 2000).

Нерест пиленгаса отмечается как в открытой акватории опресненных участков Азовского моря, так и в более опре-

сненных участках азовских лиманов и заливов, начиная с 3–4-летнего возраста самок. С увеличением плотности популяции часть зрелых рыб стала мигрировать на нерест через Керченский пролив в более соленое Черное море. Таким образом, в новом ареале пиленгас нерестится в условиях различной солености. О том, что подобная локальная приуроченность нерестовых субпопуляций может иметь и наследственную природу, свидетельствовали уже первые исследования выборки пиленгаса, которые были взяты в период нереста из акваторий с различной соленостью и, как выяснилось, отличались частотами аллелей отдельных локусов, кодирующих некоторые белки сыворотки крови и мышц (Дехта, Махоткин, 2002).

В конце XX века пиленгас прочно вошел в число основных промысловых объектов Азовоморского бассейна, а его популяция стала предметом совместного промыслового освоения рыбодобывающими организациями двух государств — России и Украины. С начала промыслового лова пиленгаса в основу распределения квот на вылов были положены исследования украинских специалистов ЮгНИРО по изучению физиологических соленостных границ, обеспечивающих эффективный нерест и развитие эмбрионов на ранних стадиях онтогенеза (*рис. 1*) (Булли, 1991; 1994; 1995).

Исходя из этих данных, эффективный нерест пиленгаса возможен только при высоких соленостях 20–35 ‰, следовательно, воспроизводство популяций в акватории собственно Азовского моря отрицалось. Местами пополнения стада пиленгаса считались осолоненные акватории Молочного лимана и Сиваша (в пределах территории Украины). Это мнение стало распространенным убеждением и без должного критического анализа получило распространение в российских изданиях по проблемам Азовского моря (Брянцев, Панов, 2000).

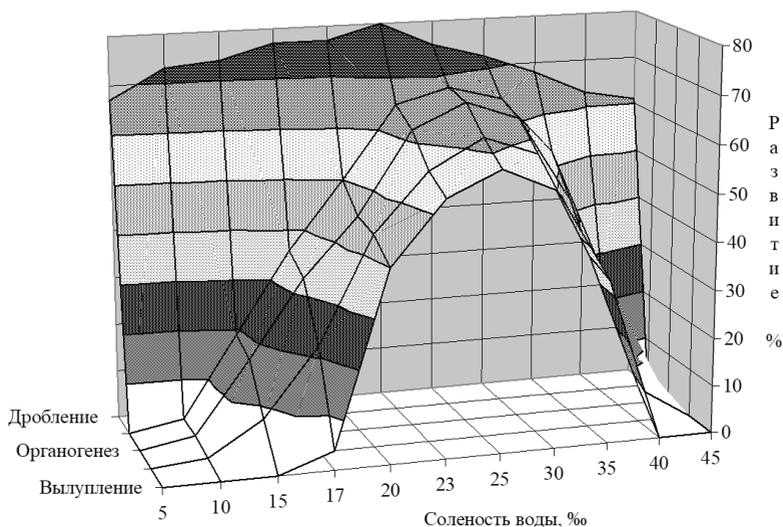


Рис. 1. Развитие икры пиленгаса в воде различной солености

В то же время в период проведения летних исследовательских рейсов АзНИИРХом систематически отлавливались текущие самки и самцы пиленгаса не только в акватории собственно Азовского моря, но и в центральной и западной частях Таганрогского залива. Ихтиопланктонные съемки также показали наличие и распределение развивающейся икры и ранних личинок пиленгаса в указанных районах (Надолинский и др., 1999; Надолинский, 2008). Это позволило выдвинуть гипотезу о физиологической неоднородности рыб в азовской популяции и наличии группировок с разными функциональными параметрами, способствующими эффективно размножению пиленгаса в условиях более низких значений солености водной среды.

Доказательство этого положения имело большое практическое значение, т.к. принятие позиций Украинской стороны о том, что пополнение промысловой популяции пиленгаса в Азовском море осуществляется только в пределах украинских акваторий и, следовательно, промысловый запас явля-

ется достоянием Украины, могло привести к потере Россией позиций при ежегодном распределении квот на промысловый лов пиленгаса в Азовском море, что сопровождается ее очевидными экономическими потерями.

Получение прямых доказательств возможности созревания и нереста пиленгаса в российских акваториях Азовского моря с невысокой соленостью (на примере оз. Ханское и Бейсугского лимана) и оценка эффективности размножения производителей и развития молоди легли в основу одного из направлений эколого-функциональных исследований.

Эколого-физиологическое направление исследований включало следующие элементы:

- изучение физиологических показателей пиленгаса разного возраста в период формирования маточного стада в водоемах с различной соленостью воды (Молочный лиман, Цыганское озеро);
- изучение особенностей созревания и размножения пиленгаса в водоемах с пониженной соленостью (оз. Ханское) и солоноватоводных водоемах (Кизилташский, Витязевский лиманы, лиман Цокур);
- изучение функционального состояния пиленгаса, обитающего в Азовском море;
- изучение особенностей физиологического состояния пиленгаса в период миграции в Черное море (Керченский пролив);
- исследование физиологических показателей пиленгаса в Черном море;
- исследование метаболических и адаптивных особенностей пиленгаса в сравнении с другими рыбами Азово-Черноморского бассейна;
- сравнение физиологических параметров производителей пиленгаса, обитающих в нативном ареале (залив Петра Великого), в Азовском и Черном морях;

- анализ морфометрической изменчивости популяции пиленгаса в разных экологических условиях Азово-Черноморского бассейна;
- изучение полиморфизма белков и генетической изменчивости пиленгаса.

Материалы, полученные в результате проведенных научно-исследовательских работ, вошли в отдельные главы монографии.

Авторы благодарны администрации ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ») за возможность опубликовать эту монографию о важном объекте промысла в Азово-Черноморском бассейне.

ГЛАВА 1

Краткая история интродукции пиленгаса в Азово-Черноморский бассейн

Пиленгас, издавна известный рыбакам на Дальнем Востоке, долгое время не привлекал внимания исследователей. Ежегодный вылов этой сравнительно небольшой по размерам рыбы не превышал 500 т (Мизюркина, 1982). Впервые на возможность его акклиматизации в южных морях СССР обратил внимание изучавший этот вид профессор Б.Н. Казанский. Он отметил ряд особенностей биологии пиленгаса, которые с хозяйственной точки зрения выгодно отличали его от черноморских видов кефалей, в частности его эвритермность. Эти наблюдения позволили ему рекомендовать пиленгаса для акклиматизации сначала в Аральском и Каспийском морях, а затем в Азово-Черноморском бассейне (Казанский, 1966; 1971). Предложение Б.Н. Казанского было воплощено в жизнь в Азово-Черноморском бассейне. Пиленгас не только прижился в Черном и Азовском морях и занял здесь заметное место в промысле, но и успешно расширил свой новый ареал в направлении Средиземного моря (Unsal, 1992; Koutrakis, Stavros, 2000).

С самого начала работы по акклиматизации пиленгаса велись в двух направлениях — пастбищного рыбоводства и создания в естественных условиях самовоспроизводящей популяции. В 1971 г. было привезено и выпущено в два солоноватоводных пруда Херсонской области 310 годовиков массой 6,8–23 г. Осенью было выловлено около трети от общего количества выпущенных рыб (Финько, Сверба, 1973).

Для создания естественной популяции пиленгаса в Черном море в его северо-западную часть в районе Днестровского лимана было выпущено 7,1 тыс. сеголетков и годовиков пиленгаса, доставленных в 1972–1974 гг. семью партиями в Одесскую область из устья дальневосточной реки Суходол.

На протяжении последующих трех лет (1973–1975) двух-, трех- и четырехлеток пиленгаса периодически ловили в северо-западной части Черного моря, от Днестровского лимана до южной оконечности Крыма (Старушенко, 1977). В тот же период в Хаджибейский, Тилигульский, Тузловский лиманы в этом районе было выпущено еще 22,4 тыс. сеголетков (годовиков) длиной 2,8–10,5 см и массой 0,3–14,1 г (Казанский, Старушенко, 1980; 1984; Орлов, Овчинников, 1991; Орлов, 1997). Условия для летнего нагула, зимовки и созревания пиленгаса в них оказались благоприятными, что обеспечивало быстрый рост и созревание рыб (Старушенко, 1977; Семенов, 1991).

В 1975 г. в Шаболатском лимане была поймана самка с гонадами на стадии выбоя, однако молоди от естественного нереста обнаружено не было (Старушенко, 1977).

Суммируя вышеизложенное, можно констатировать, что первые работы по акклиматизации пиленгаса в бассейне Черного моря в течение семи лет не привели к его натурализации и в 1978 г. были приостановлены (Казанский, Старушенко, 1980). В том же году были развернуты аналогичные мероприятия на Азовском море. Пиленгаса, отловленного в низовьях рек Амурского и Уссурийского заливов Тихого океана, перевозили авиатранспортом в г. Бердянск и г. Ростов-на-Дону. Всего за период с 1978 по 1984 г. специалистами Ростовской производственно-акклиматизационной станции (РПАС) было перевезено с Дальнего Востока в Азовский бассейн 127 тыс. шт. молоди и 175 шт. особей пиленгаса старших возрастов (справка РПАС).

В сентябре 1978 г. в крупный полузакрытый Молочный лиман (Северо-Западное Приазовье), соленость которого выше, чем в Азовском море, было выпущено 2100 отловленных в Амурском заливе сеголетков пиленгаса. Длина молоди составляла от 5,5 до 7,0 см, масса — от 1,5 до 6,0 г. Привезенная молодь успешно перезимовала, отхода отмечено не было.

При свободном нагуле в искусственном песчаном карьере за лето 1979 г. пиленгас достиг массы 300 г. В 1980 г. в лиман было привезено и содержалось в садках при искусственном кормлении еще 160 экз. молоди пиленгаса массой 2,8 г. За 2,5 месяца содержания масса годовиков увеличилась до 100 г (Семененко, Кудлина, 1982).

По данным Л.И. Семененко (1991), естественный нерест пиленгаса в Молочном лимане начался с 1982 г. За последующее десятилетие нерестовая часть его популяции многократно увеличилась, количество самок, из которых в нересте принимало участие от 50 до 80 %, возросло, по мнению автора, с 200 тыс. шт. в 1982 г. до 8,5 млн особей в 1992 г., т.е. более чем в 42,5 раза, а популяционная плодовитость повысилась с 117,5 млн до 850 млрд икринок. Особой урожайностью выделялась нерестовая ситуация 1989 г. Поколение молоди этого года ориентировочно оценено в 300 млрд шт.

В результате проведенных акклиматизационных и рыбоводных работ в 1989 г. в Азовском море были обнаружены первые массовые скопления сеголетков, свидетельствующие о массовом естественном нересте пиленгаса в собственно Азовском море. Численность его популяции быстро увеличилась, и пиленгас расселился по всей акватории моря, включая заливы, лиманы, а также реки северного побережья Азовского моря (Семененко, 1991; Чесалин, Чесалина, 2001). По сведениям Т.Л. Чесалиной (1997), в 1989–1990 гг. впервые стали происходить миграции пиленгаса из Азовского в Черное море. В конце мая – начале июня 1993 г. нерест пиленгаса отмечали в южной части Керченского пролива в районе мысов Такиль и Панагия и на предпроливном участке Черного моря (Любомудров, 1994), а в 1996 г. был впервые отмечен его заход в бухты Севастополя. В этом же году здесь был установлен нерест пиленгаса в открытом море в 1,5–10 км от берега при глубине в местах сбора живой икры до 100 м (Чесалина, 1997).

Акклиматизация дальневосточной кефали-пиленгаса в Азово-Черноморском бассейне завершилась в конце 80-х – начале 90-х гг. XX столетия образованием самовоспроизводящейся популяции (Яновский, Изергин, 1995; Пряхин, Воловик, 1997; Пряхин, 2001). С 1993 г. начался регулярный промысел пиленгаса. Его вылов в 1993 г. составил 140 т, в 1994 г. — 300-435 т, в 2000 г. — 7763 т, в 2010 г. — 1018 т, 2012 г. — 435 т, 2013 г. — 402 т (Реков и др., 2014; Пряхин, 2002). В 2002 г. промысловый запас пиленгаса оценивался примерно в 24 тыс. т (Пряхин, 2002).

ГЛАВА 2

Материал и методика исследований

Исследования функционального состояния пиленгаса проводили сотрудники отдела генетико-биохимического мониторинга в периоды 1979–1983 и 1995–2006 гг. Обследовали молодь, рыбу промысловой меры в разных водоемах Азово-Черноморского бассейна — Азовское и Черное моря, Молочный лиман (Украина), Кизилташские лиманы, лиман Цокур, пресноводные водоемы (озеро Ханское, озеро Цыганское). С 2007 по 2015 г. работы по изучению физиологического состояния проводились только на производителях. Пробы для проведения анализов отбирались в разные периоды жизненного цикла пиленгаса. Во время нерестовых миграций, нагула и зимовки, а также в учетных рейсах по стандартной сетке станций, из уловов береговых ставников в морских районах и закидных неводов в реке в период промысла исследовались не менее 30 самок и 30 самцов пиленгаса. Каждый взятый для анализа экземпляр измерялся, определялся пол, оценивалась общая экстерьерная характеристика. Все данные заносились в журнал, где также учитывалось время, место отлова, орудия лова. Чтобы собранный материал правильно отражал изменения, происходящие в организме рыб, учитывались и регистрировались в журнале: район взятия проб, время (сезон), длина рыбы, масса и возраст, характер питания, пол, стадия зрелости гонад.

В качестве индикаторов физиологического состояния рыб использовались следующие показатели: 1) концентрация гемоглобина и сывороточного белка, 2) содержание белка в мышцах, печени и гонадах, 3) содержание влаги в мышцах, печени и гонадах, 4) содержание общих липидов, холестерина в сыворотке, мышцах, печени и гонадах, 5) циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) и иммуноглобулины в сыворотке крови. Кровь для анализа брали в пробирку при отсечении хвостового стебля

из хвостовой вены у живой рыбы или из жаберной артерии и отстаивали при комнатной температуре. Через 10–12 часов после ретракции фибринового сгустка пипеткой отделяли сыворотку. Пробы мышц (навеской до 50 г) брали из первой трети тела по всей ширине поперечного среза, гонады — из средней части половой железы (навеска 20–30 г). Пробы сыворотки и тканей замораживали и хранили в холодильнике при температуре –18 °С. Отобранные ткани и органы пиленгаса подвергаются биохимическим анализам: определение белка проводится по методу Лоури, холестерина — по методу Мрскоса и Товарека (в модификации Илька) (Инструкция к набору..., 1968), жира — по методу Рушковского в модификации Сокслет.

В сыворотке крови определение белка проводится рефрактометрически на РФ тип 22, определение липидов — путем окраски по Свану с последующим колориметрированием на ФЭК-М при длине волны 400 нм, гемоглобин определяется в гемометре Сали или на спектрофотометре (Физиологобиохимические и генетические исследования ихтиофауны ..., 2005).

Для гистологического анализа образцы тканей гонад фиксировали в 10%-ном растворе формалина или смеси Буэна. Степень зрелости половых продуктов оценивали на основании макроскопических признаков и гистологического анализа (Сакун, Буцкая, 1963). При микроскопировании образцов тканей определяли наличие/отсутствие явных отклонений в гистоструктуре половых желез. Для этого определяли диаметры ооцитов, строение их оболочек, структуру цитоплазмы (степень вакуолизации, диаметры желтковых гранул, параметры жировых включений), положение ядра в ооците, количество и расположение ядрышек, состояние фолликулярного эпителия и других тканей яичников (Трусов, 1964). Состояние семенников оценивают по присутствию в цистах семенников половых клеток разных фаз: сперматогонии, сперматиды, спермии (Турдаков, 1972).

При диагностике функционального состояния репродуктивной системы рыб большое значение имеет выявление тех или иных отклонений от нормы. Нарушение в физиологии и биохимии репродуктивных органов ведет не только к изменениям в процессах созревания половых продуктов, годового полового цикла, но и к трансформации нерестового поведения и морфологическим изменениям половых желез. Для диагностики нарушений в репродуктивной системе рыб использовалась классификация, предложенная Н.В. Акимовой и Г.И. Рубаном (1996). Данная классификация нарушений была разработана для осетровых рыб, но, как показали наши исследования, применима и для других ихтиообъектов.

После парафиновой заливки делали срезы тканей, которые окрашивали по методу Маллори. Фиксированные препараты срезов тканей микроскопировали на приборах «Olympus» (Япония) и «Jenamed» (Германия).

Выбор увеличения при рассмотрении объектов зависел от конкретных задач — от 40× до 1000×.

При микроскопировании обращали внимание на признаки наличия/отсутствия морфологических изменений в клетках и тканях, имеющих прогностическое значение для определения функционального состояния органа.

Микроскопированием определяли:

- для диагностики состояния гонад — диаметр зрелых и незрелых ооцитов, диаметр ядра ооцитов, расстояние от оболочки ооцита до ядра как показатель стадии зрелости ооцита (Сакун, Буцкая, 1963), деформированность ооцитов, состояние цитоплазмы, стадию зрелости мужских половых продуктов (Турдаков, 1972), состояние стенок ампул и кровеносных сосудов;
- для печени — структуру паренхимы и соединительной ткани, диаметры ядер гепатоцитов, состояние кровеносных сосудов, состояние цитоплазмы гепатоцитов;

- для селезенки — те же параметры, что и для печени, а также размеры красно-белой пульпы, наличие клеток крови, скопление пигментов;
- для почек — состояние эпителия извитых канальцев, состояние гемопоэтической, соединительной тканей, Боуменовых капсул, скопление пигментов.

Цитометрические исследования проводили с помощью окуляр-микрометра с ценой деления, определенной для каждого микроскопа индивидуально. Для предупреждения изменений общей картины показателей при проведении гематологических анализов кровь брали у рыбы из хвостового сосуда сразу же после отлова. Отбор крови для гематологического анализа производили из хвостовой артерии и наносили в виде мазка на предметное стекло. Для фиксирования препарата использовалась смесь Никифорова. Препараты анализировались в отсроченном режиме по окончании полевых работ. Анализ крови включал подсчет форменных элементов красной и белой крови, их соотношение, состояние оболочек, фиксирование возможных цитологических деформаций (Глаголева, 1981; Иванова, 1983; Житенева и др., 1989; 1997; Козинец, Макаров, 1997; Житенева, 1999).

В качестве биомаркеров негативного повреждающего воздействия компонентов антропогенного загрязнения на ихтиообъекты использовали методы оценки активности ферментов I, II и III фаз детоксикации ксенобиотиков (Otto, Moon, 1996) систем детоксикации тяжелых металлов, биоиндикации окислительного стресса, генотоксичности и иммунотоксичности у организмов в конкретных биотопах обитания, выявление негативных гормональных (например, ксеноэстрогенных) эффектов. Определение цитохрома B5 и P450 (Omura, Sato, 1964) основано на измерении разницы в поглощении окисленной и восстановленной форм гемопротейда, а цитохром P450 — на измерении величины поглощения комплекса восстановленного цитохрома P450 с окисью углерода при 450 нм.

Определение содержания жирорастворимых витаминов ретинола, токоферола основано на приготовлении гексановой фракции с последующей спектрофлуорофотометрией на приборе RF-510 Shimadzu, Япония (Tailor et al., 1976).

Определение активности катепсина Д основано на его способности гидролизовать гемоглобин с образованием пептидов, растворимых в присутствии трихлоруксусной кислоты (Джингл, 1980).

Для электрофоретического и морфометрического анализа использовали только живых рыб 3–5-летнего возраста. Отобранных рыб измеряли по схеме морфометрических промеров, взвешивали, отбирали образцы крови и мышц.

Для изучения белкового полиморфизма у рыбы брали пробы крови (по 2 мл), печени и мышц (по 1 г). Пробы крови выдерживали в пробирках до свертывания, после чего отбирали по 0,5 мл сыворотки крови. Приготовленные пробы сыворотки крови, печени и мышц сразу же замораживали и хранили до анализа при температуре -18°C . Для выявления белкового полиморфизма использовали методы электрофореза в блоках полиакриламидного геля (ПААГ) и крахмального геля (КГ). Анализ проводили в отделе генетикобиохимического мониторинга АзНИИРХ, а также в лаборатории популяционной генетики Института общей генетики РАН, Москва.

Выборки дальневосточного пиленгаса собраны в ноябре–декабре 2002 г. из трех рек Южного Приморья, куда пиленгас мигрирует из моря на зимовку: Раздольной, Тесной и Артемовки. Выборка из р. Тесной в основном представлена сеголетками, а выборки их двух других популяций — половозрелыми особями. По данным Тихоокеанского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (личное сообщение сотрудника

ТИНРО-Центра В.Н. Валовой), в Приморье пиленгас представлен четырьмя локальными субпопуляциями, отличающимися районами зимовки и возможно, районами нереста. Степень изоляции или генетического обмена между субпопуляциями неизвестна. Самая многочисленная — лебединская субпопуляция — зимует в реках залива Посъета и нерестится в море.

Три азовские выборки пиленгаса были собраны в 2002 г. Морская — из нерестовых скоплений в центральной части Азовского моря, июнь; Керченская — в Керченском проливе у мыса Тузла во время нерестовой миграции из Азовского в Черное море, июнь; Озерная — в распресненном оз. Ханское, октябрь. Две первые выборки представлены зрелыми особями промысловой длины пяти-восьмилетнего возраста, а Озерная выборка — трех-четырёхлетками.

Электрофоретический анализ ферментов мышц и печени рыб проводили в крахмальном и полиакриламидном гелях, используя несколько буферных систем (Peacock et al., 1965; Ridgway et al., 1970; Aebersold et al., 1987). Обозначения локусов даны в соответствии с рекомендациями по номенклатуре генов, кодирующих белки у рыб (Shaklee et al., 1990). Аллели обозначали в соответствии с электрофоретической подвижностью кодируемых ими аллозимов, принимая подвижность частного аллеля за 100.

При морфометрических исследованиях измеряли 22 пластических признака пиленгаса по общепринятой методике (Правдин, 1966). Схема измерений приведена на *рис. 2* и в *табл. 1*. Все признаки были преобразованы в индексы, которые выражают величину каждого признака в долях единицы по отношению к длине рыбы (*ad*) или к длине головы (для признаков головы).

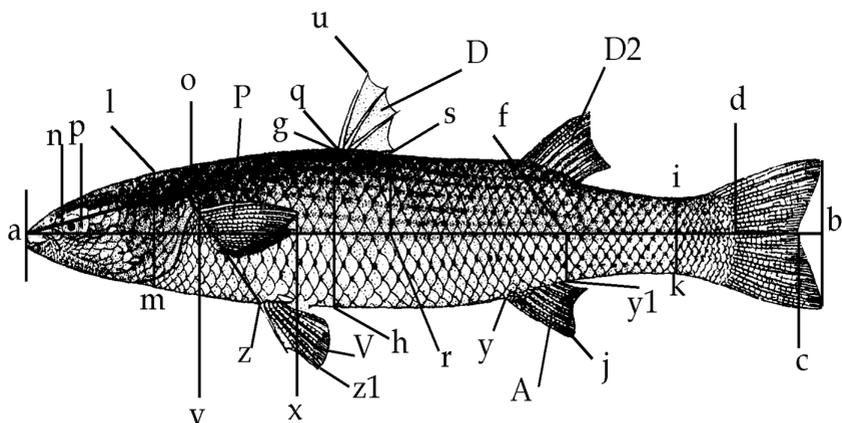


Рис. 2. Схема измерений пиленгаса

Таблица 1. Обозначения измеряемых морфометрических признаков

1. ab — длина всей рыбы	12. aq — антедорсальное расстояние
2. ac — длина по Смиуту	13. rd — постдорсальное расстояние
3. ad — длина без C	14. fd — длина хвост. стебля
4. od — длина туловища	15. qs — длина основания D
5. an — длина рыла	16. tu — наибольшая высота D
6. np — диаметр глаза	17. yy_1 — длина основания A
7. po — заглазничный отдел	18. yj — наибольшая высота A
8. ao — длина головы	19. vx — длина P
9. lm — высота головы у затылка	20. zz_1 — длина V
10. gh — наибольшая высота тела	21. vz — расстояние между P и V
11. ik — наименьшая высота тела	22. zy — расстояние между V и A

Примечание: Основные обозначения плавников: C — хвостовой, P — грудной, V — брюшной, A — анальный, D и $D2$ — первый и второй спинные плавники

При исследовании различий между классами выборок использовали дискриминантный анализ. Основная статистическая процедура дискриминантного анализа состоит в вычислении канонических дискриминантных функций. Эта функция является линейной комбинацией дискриминантных переменных и имеет следующий вид:

$$f_{km} = u_0 + u_1 X_{1km} + u_2 X_{2km} + \dots + u_p X_{pkm},$$

где f_{km} — значение канонической дискриминантной функции для m -го объекта в группе k ; X_{ikm} — значение дискриминантной переменной X_i для m -го объекта в группе k ; u_i — коэффициенты.

Коэффициенты первой функции выбираются таким образом, чтобы ее средние значения для различных классов максимально отличались. Коэффициенты второй функции выбираются так же, при этом ее значения не коррелируют со значениями первой функции. Максимальное число дискриминантных функций равно числу исследуемых классов без единицы (Ким, Мьюллер и др., 1989). Анализ двух классов дает одну дискриминантную функцию, трех классов — две и т.д. Статистические расчеты проводили с использованием программ MSExcel и Statistica.

Методы анализа подробно описаны в методических руководствах (Методы рыбохозяйственных и природоохранных исследований..., 2005; Физиолого-биохимические и генетические исследования..., 2005).

ГЛАВА 3

Характеристика физиологического состояния пиленгаса *Planiliza Haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845) при формировании маточного стада в начале акклиматизации (1979–1983 гг.)

В связи с уменьшением запасов ценных полупроходных и проходных рыб Азовского моря и интенсивным использованием запасов морских рыб с 1989 г. развивалось новое направление в рыбоводстве — акклиматизация новых объектов морского рыбоводства. При этом эффективность использования акклиматизантами водоемов вселения многократно возрастает при организации их искусственного воспроизводства в местных условиях (Романычева, 1970). Еще Казанский с соавторами (1968) определял пиленгаса в качестве перспективного объекта для вселения его в Азовский бассейн и освоения его в марикультуре. Среди кефалей пиленгас наиболее холодоустойчив, и эта черта его биологии послужила основой для его акклиматизации в Северном Приазовье (Борисенко, Чихачев, 1981; Семеновко, Кудлина, 1982).

Рыбоводное освоение пиленгаса преследовало две цели:

- 1) получение в искусственных условиях посадочного материала для товарного выращивания в морских лиманах и водохранилищах, а также, возможно, и в поликультуре в пресноводных хозяйствах;
- 2) вселение пиленгаса в прибрежные районы Азовского моря для формирования самовоспроизводящейся популяции, которая может впоследствии эксплуатироваться промыслом во время зимовальных миграций в реки Азовского бассейна (Борисенко, Чихачев, 1981).

Было оценено физиологическое состояние пиленгаса в процессе формирования маточного стада при выращивании

в условиях водоемов с разной соленостью (Молочный лиман, оз. Цыганское) (Семененко, Кудлина, 1982; Баденко и др., 1985 а, б).

Были исследованы сеголетки пиленгаса, завезенные АзНИИРХ и акклиматизационной станцией Азоврыбвода в 1979 г., которые в течение четырех лет выращивались в условиях Молочного лимана в садках, а также сеголетки этого же поколения, выращиваемые до трех лет в садках в пресноводном оз. Цыганское (вблизи г. Ростова-на-Дону). Условия и биотехника содержания и кормления пиленгаса в садках подробно изложена в работе Л.И. Семененко и Е.А. Кудлиной (1982). Используемые выборки дали общие представления о направленности обменных процессов в ходе формирования половых продуктов пиленгаса в разных экологических условиях.

Исследование маточного стада показало, что осенью 1981 г. у пиленгаса, привезенного из оз. Цыганское в Молочный лиман в трехлетнем возрасте, гонады самок находились в I стадии зрелости (*рис. 3*). После зимовки в условиях Молочного лимана степень зрелости гонад у трехгодовалых самок пиленгаса была II и II-III стадий (*рис. 4*), диаметр половых клеток протоплазматического роста составлял 30-65 мкм; единичные ооциты трофо-плазматического роста достигали 234-300 мкм. Следовательно, несмотря на то, что рыбы зимой не питались (Семененко, Кудлина, 1982), при низких температурах воды в условиях теплой зимы 1981-1982 гг. и весной 1982 г. шел гаметогенез, который сопровождался значительными тратами резервного жира и белка, аккумулированных в мышечных и печеночных депо. Амплитуда трат резервных веществ зависела от степени зрелости гонад. Наибольшие траты наблюдали у самок с гонадами II-III стадии (*табл. 2*).

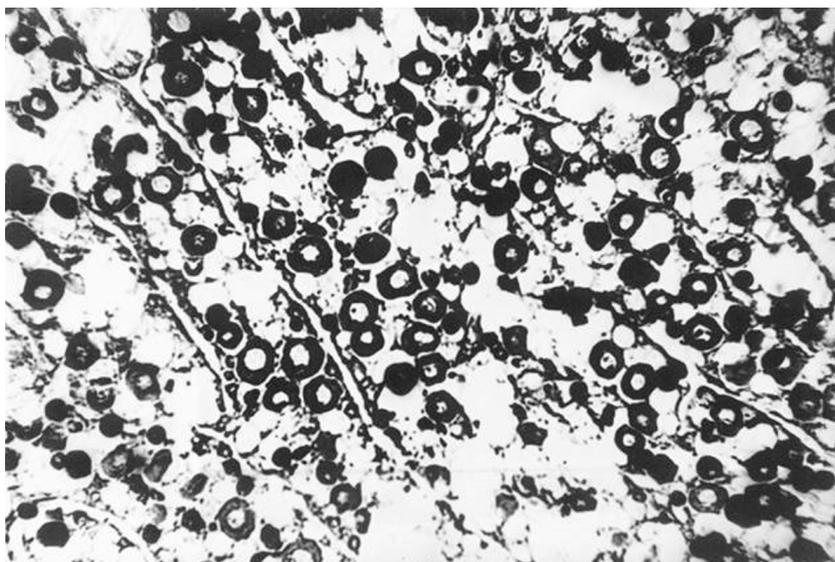


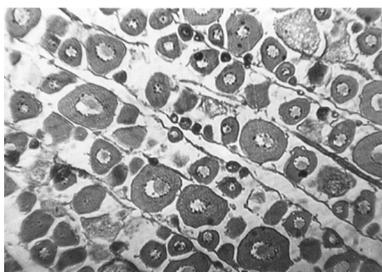
Рис. 3. Срез яичника I стадии зрелости пиленгаса из Молочного лимана, октябрь 1981 г., возраст 2+. Единичные ооциты протоплазматического роста диаметром до 40 мкм. Ув. 10×8×

С ростом степени зрелости гонад у самок пиленгаса от I до III-IV стадии содержание жира в мышцах снижалось с 7,0 до 5,8 %, в печени — с 47,3 до 25,3 %. С уменьшением количества жира в сухом веществе возрастало количество белка (табл. 2).

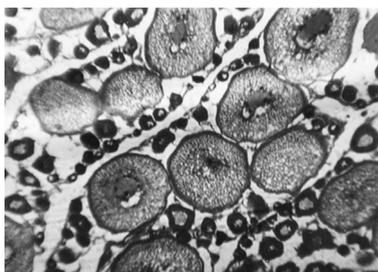
В гонадах самок от II до III-IV стадии зрелости отмечалось накопление жира от 3,3 до 41,1 % и белка от 107 до 249 мг/г, что характеризовало интенсивный трофоплазматический рост ооцитов (табл. 3, рис. 5). Четырехгодовалые самки пиленгаса, близкие к созреванию, в условиях садкового выращивания имели длину тела 40 см и более при массе тела более 1110 г. Концентрация гемоглобина и белка в сыворотке зрелых рыб достигала 12 г%, содержание жира в мышцах и печени составляло 5,8 и 25,3 %, соответственно.

Таблица 2. Динамика показателей обмена самок пиленгаса в процессе формирования маточного стада в условиях Северного Приазовья (Молочный лиман, 1981–1983 гг.)

Показатели	Стадия зрелости гонад									
	I–II	II	II–III	II–III	III–IV	юве- наль- ная	II	I ано- малии	III	IV
	самки					самцы				
Возраст, лет	2+	3	3	4	4	2+	3	3+	4	4
Длина, см	29	30	31,5	40	41	19,3	30,0	34,8	35	42
Масса тела, г	420	350	430	940	1110	102	320	820	730	1500
Гемоглобин, г ⁰ %	8,2	9,6	8,0	7,2	12,0	8,7	10,2	11,3	8,4	13,4
Белок в сыворотке, г ⁰ %	6,6	7,3	6,4	6,1	11,8	7,1	7,1	9,3	5,6	10,4
Липиды в сыворотке, мг ⁰ %	1864	3098	2631	2177	1450	–	2864	3524	1896	1775
Мышцы										
Жир, %	7,0	4,2	3,7	5,7	5,8	4,1	5,7	11,7	7,7	8,8
Влага, %	76,8	76,9	78,5	76,3	76,9	77,7	78,8	74,7	76,8	76,7
Белок, мг/г	155	181	115	146	188	208	120	187	116	144
Печень										
Жир, %	47,3	53,5	35,1	49,5	25,3	40,2	39,0	45,3	59,7	49,8
Влага, %	61,7	61,7	68,7	62,7	66,0	65,0	69,5	60,7	62,0	61,3
Белок, мг/г	106	86	146	164	177	172	134	163	147	168
Гонады										
Жир, %	–	3,3	21,2	–	41,1	–	3,3	20,0	–	–
Влага, %	–	81,7	79,2	–	50,2	–	81,7	78,8	–	–
Белок, мг/г	–	107	107	–	249	–	101	153	–	–
Дата отбора проб	28.09.1981	5.05.1982	5.05.1982	25.05.1983	25.05.1983	14.02.1981	5.05.1982	16.10.1982	25.05.1983	25.05.1983



А



Б

Рис. 4. Срез яичников пиленгаса из Молочного лимана, май 1982 г. А — II стадия зрелости, возраст 3; ооциты протоплазматического роста достигают в диаметре 65 мкм; Б — II-III стадии зрелости, возраст 3; единичные ооциты диаметром до 300 мкм находятся на стадии завершения вакуолизации. Ув. $10 \times 8 \times$

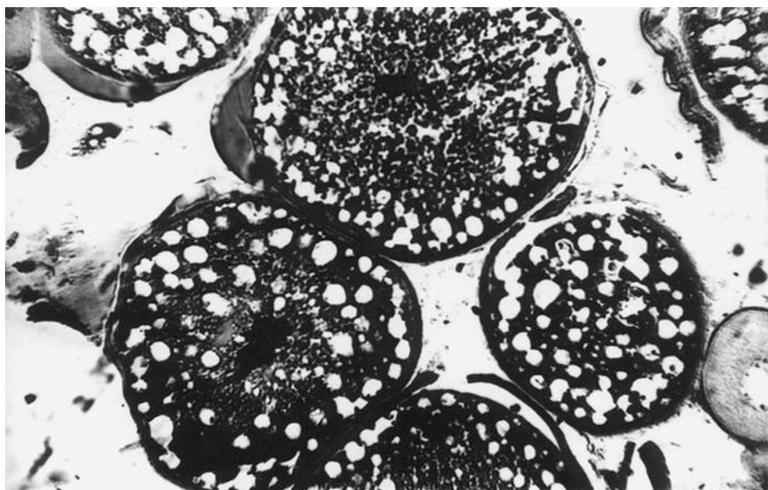


Рис. 5. Срез яичника пиленгаса из Молочного лимана, май 1983 г. III-IV стадия зрелости, возраст 4 года; ооциты старшей генерации диаметром до 500 мкм, наполнены желтком. Ув. $8 \times 10 \times$

Физиолого-биохимические показатели крови у самок и самцов, близких к созреванию, практически не различались. Следовательно, по показателям крови, взятой прижизненно,

можно диагностировать степень зрелости гонад без учета половых различий.

Весной 1982 г. у самцов дифференциация пола отмечалась в возрасте 3 лет при длине тела 30 см и массе 320 г. Однако осенью этого года перед зимовкой у четырехлетних довольно крупных рыб (масса тела 820 г, длина 34,8 см) гонады были I стадии зрелости. Генеративная ткань была представлена ампулами, заполненными округлыми клетками диаметром 3–5 мкм. Между ампулами располагались обширные пространства. Возможно, у какой-то части самцов в возрасте 3 лет гонады находились в текучем или близком к текучести состоянии, после чего началась активная резорбция невыметанных половых продуктов. Возможно также, что такая картина говорит о недостаточном развитии половых клеток в гонаде, т.е. об аномалии гаметогенеза. Особи с аномальным состоянием гонад характеризовались высокой интенсивностью обменных процессов, контролируемых гемоглобином (11,3 г%) и имели повышенные уровни белка и липидов в сыворотке крови, мышцах и гонадах.

Рост степени зрелости гонад со II до IV стадии у самцов пиленгаса сопровождался повышенным содержанием жира в мышцах и в печени. Самое высокое содержание жира в мышцах и сыворотке крови наблюдалось у особей с аномальным состоянием половой железы (I стадия, аномалия) (см. *табл. 2*). Анализ собранного материала в сезонном аспекте без учета половой специфики обмена показал, что от осени к весне, с ростом стадии зрелости гонад от I до II–III, III–IV наблюдали одинаковую направленность обменных процессов. За время зимовки содержание жира в мышцах снизилось на 36–40 %, белка — на 11–20 %. Отмечали оводненность тканей. В печени наблюдали снижение содержания жира, содержание белка после зимовки практически не изменилось.

Таблица 3. Сезонная динамика показателей обмена веществ пиленгаса в процессе формирования маточного стада в условиях Северного Приазовья

Показатели	Время отбора проб					
	Осень 1981 г.	Весна 1982 г.	Изменения за зиму, %	Осень 1982 г.	Весна 1983 г.	Изменения за зиму, %
Стадия зрелости	ювенальная	II; III-III		I (аномалии)	II-III; III-IV	
Возраст, лет	2+	3		3+	4	
Длина, см	29,3	30,5		34,8	39,5	
Масса, г	420	367		820	1070	
Гемоглобин, г%	8,2	8,9	+8	11,2	12,7	+11
Мышцы						
Жир, %	7,0	4,5	-35,7	11,7	7,0	-40,2
Влага, %	76,8	78,0	+1,5	74,7	76,7	+2,6
Белок, мг/г	155	138	-11	187	149	-20,3
Печень						
Жир, %	47,3	42,5	-10,2	45,3	42,3	-8,3
Влага, %	61,7	66,4	+7	60,7	63,0	+3,2
Белок, мг/г	106	122	-	163	157	-
Гонады						
Жир, %	-	92,0	-	20,0	41,1	+105
Влага, %	-	81,0	-	78,8	50,2	-36,3
Белок, мг/г	-	105	-	153	249	+62,6

В гонадах самок от I до II-III, III-IV стадии зрелости содержание жира увеличилось более чем на 100 %, белка — на 63 %. При созревании от I до III-IV стадии зрелости влажность ткани гонад снизилась на 36,3 % (табл. 3). При сравнении показателей физиологического состояния самок пиленгаса, привезенных осенью 1981 г. с Дальнего Востока, с особями одинаковой степени зрелости из стада, формирующегося в

условиях Молочного лимана, обращает на себя внимание более высокий темп соматического роста и более раннее формирование гонад у самок, выращиваемых в условиях Молочного лимана. Так, гонады на II–III стадии зрелости обнаружены у самок формируемого стада в возрасте 3 года (рис. 4 А). У самок, привезенных с Дальнего Востока, аналогичная стадия зрелости гонад обнаружена у 5–6-годовиков (рис. 6, 7), возможно, созревающих повторно.

Высокое содержание липопротеидов в сыворотке крови акклиматизированных рыб указывало на то, что они хорошо питались. Однако в мышечных депо этих рыб было отмечено низкое содержание жира и белка по сравнению с дальневосточными самками. Возможно, эти различия обусловлены интенсивным гаметогенезом весной у акклиматизантов (табл. 4) (Старушенко, Подол, 1976; Старушенко, Бабенко, 1982).

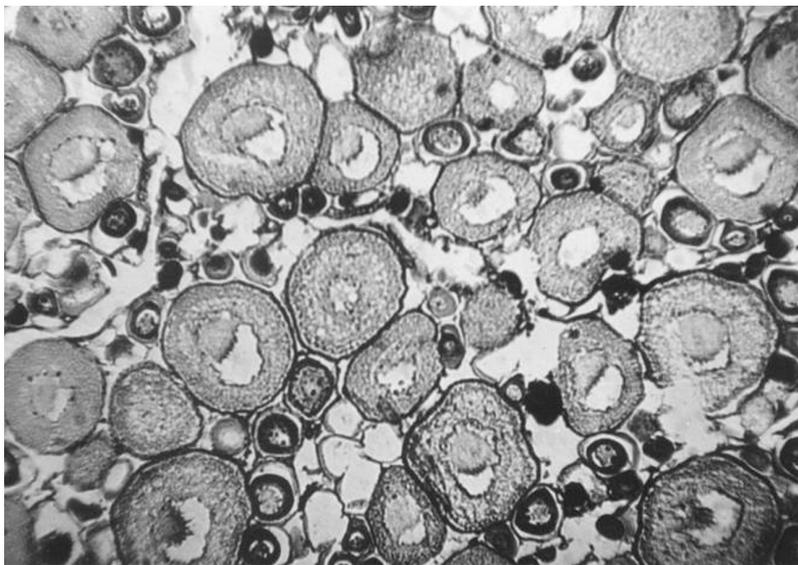
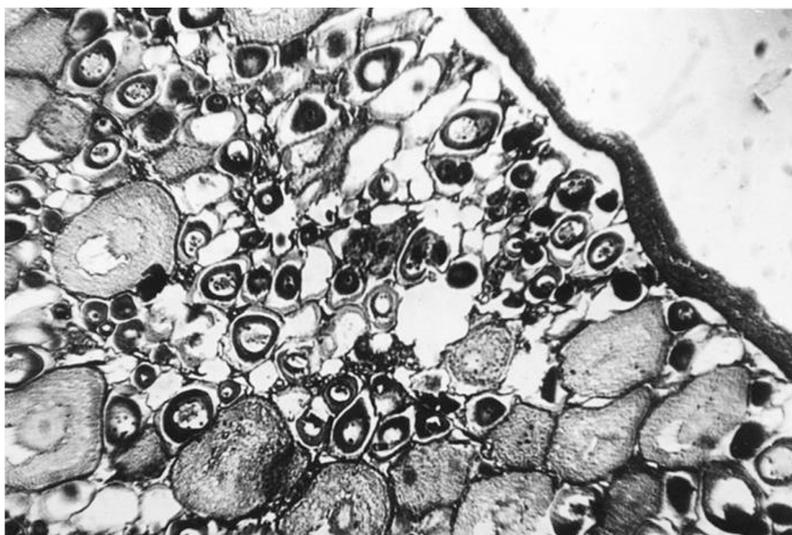


Рис. 6. Срез яичника пиленгаса II–III стадии зрелости из Южного Приморья, октябрь 1981 г., возраст 5+, 6+. Видны ооциты периода середины вакуолизации диаметром до 210 мкм. Ув. 8 × 10 ×



*Рис. 7. Срез яичника пиленгаса II–III стадии зрелости из Южного Приморья, октябрь 1981 г., возраст 5+, 6+. Поздносозревающие рыбы.
Ув. $8 \times 10 \times$*

Чтобы подтвердить достоверность полученных результатов, рассмотрим усредненные показатели физиологического состояния дальневосточного аборигенного и акклиматизируемого в Молочном лимане пиленгаса без учета его возрастных и половых особенностей. Анализ показал, что как в естественных условиях обитания (Казанский, 1966), так и в условиях Молочного лимана маточное стадо пиленгаса гетерогенно и состоит из раной поздносозревающих рыб (табл. 4, рис. 6, 7).

Высокое содержание гемоглобина в крови, липопротеидов в сыворотке крови и повышенное содержание жира в печени указывает на то, что у особей, выращиваемых в Молочном лимане, весной 1983 г. проходил активный гаметогенез, гонады, как по биохимическому состоянию, так и по гистологической характеристике, находились на завершающих этапах развития (табл. 5).

Таблица 4. Некоторые показатели физиологического состояния пиленгаса, выросшего в разных экологических условиях

Показатели	Место и время отбора проб				
	Амурское Приморье (осень)		Молочный лиман (весна)		
	1981 г.		1982 г.	1983 г.	
Стадия зрелости	II–III	II–III	II–III	II–III	II–III; III–IV
Возраст, лет	4+	4+; 5+	3	4	4
Длина, см	34,7	32,6	31,5	40	39,5
Масса, г	490	420	430	940	1070
Гемоглобин, г%	–	8,0	8,0	7,2	12,7
Белок в сыворотке, г%	43,6	5,9	6,4	6,1	8,5
Липиды в сыворотке, мг%	953	1070	2631	2177	1825
Мышцы					
Жир, %	9,3	9,3	3,7	5,7	7,0
Влага, %	77,1	79,0	78,5	76,3	77,0
Белок, мг/г	117	119	115	146	149
Печень					
Жир, %	32,1	21,7	35,1	49,5	45,8
Влага, %	72,2	76,1	68,7	62,7	63,0
Белок, мг/г	163	156	146	164	164
Гонады					
Жир, %	11,2	8,6	21,2	–	41,1
Влага, %	79,7	79,6	79,2	–	50,2
Белок, мг/г	186	186	107	–	249

Таблица 5. Некоторые показатели физиологического состояния пиленгаса, выращенного в пресной и соленой воде

Показатели	Место и время отбора проб			
	оз. Цыганское (Ростов-на-Дону)			Молочный лиман (Северное Приазовье)
Время отбора проб	03.10.1980	15.04.1981	14.11.1981	28.09.1981
Возраст, г	1+	2	2+	2+
Длина, см	14,8	13,5	19,3	29
Масса, г	37,7	37,4	102	420
Гемоглобин, г%	8,0	8,6	8,7	8,2
Белок в сыворотке, г%	7,7	5,5	7,1	6,6
Липиды в сыворотке, мг%	6180	2521	–	1864
Мышцы				
Жир, %	13,4	17,3	4,7	7,0
Влага, %	75,2	79,2	77,6	76,8
Белок, мг/г	185	119	208	155
Печень				
Жир, %	39,0	38,0	40,2	47,3
Влага, %	65,5	–	65,7	61,7
Белок, мг/г	–	92	172	106

Примечание: Стадия зрелости гонад — ювенальная

Представляет интерес динамика обменных процессов у пиленгаса, выращиваемого в пресной воде в условиях Нижнего Дона (оз. Цыганское). Анализ собранного материала показал, что при выращивании в садках в пресной воде молодь пиленгаса плохо росла по сравнению с одновозрастными

особями, выращиваемыми в Молочном лимане (табл. 5). Из этой таблицы видно, что уже в трехлетнем возрасте (2+) пиленгас, выращенный в соленой воде Молочного лимана, отличается от «пресноводного» высоким темпом роста и более интенсивным накоплением жира в тканевых депо, что в дальнейшем сказалось на более раннем формировании его гонад.

Таким образом, оказалось возможным формирование маточного стада дальневосточного пиленгаса в условиях Молочного лимана (Северное Приазовье) в садках и прудах. При акклиматизации и выращивании пиленгаса в этих условиях отмечен более высокий темп его соматического роста, чем при выращивании в пресной воде и естественных условиях обитания (Южное Приморье).

За время зимовки в условиях садкового выращивания у пиленгаса наблюдался активный гаметогенез, который проходил на фоне интенсивных трат резервных трофоπλαстических веществ, аккумулированных в тканевых депо организма.

Половая зрелость самцов в условиях садкового выращивания в Молочном лимане, по-видимому, наступила у наиболее крупных особей в трехгодичном возрасте. Однако в результате отсутствия условий для нереста развилась дегенерация и резорбция невыметанных половых продуктов, после чего началась новая волна сперматогенеза, обнаруженная осенью (I стадия).

Таким образом, четырехлетними исследованиями (1979–1983) физиологического состояния пиленгаса было установлено, что условия выращивания в садках и прудах в определенной степени соответствовали его физиологическим потребностям на разных этапах жизненного цикла. Наблюдения показали принципиальную возможность получения зрелых половых продуктов от дальневосточного пиленгаса, акклиматизируемого и выращиваемого в условиях Северного Приазовья, что открыло широкие возможности для проведения экспериментов по управлению его половым циклом.

Сотрудниками Керченского филиала ФГБНУ «АзНИИРХ» успешно проводятся работы по подбору условий для получения жизнестойкой молодежи пиленгаса (Куликова и др., 1993; Туркулова и др., 2015; Новоселова, Туркулова, 2017).

В дальнейших исследованиях были показаны особенности физиологического состояния пиленгаса, обитающего в водах Азово-Черноморского бассейна с разной экологией.

ГЛАВА 4

Особенности физиолого-биохимического состояния пиленгаса в Азово-Черноморской (морской) зоне Российской Федерации

Акклиматизация дальневосточной кефали пиленгаса в Азовском бассейне предполагала, согласно Б.Н. Казанскому (1989), наиболее полное использование экологической ниши рыб — детритофагов, пустовавшей в этой экосистеме. В течение восьмидесятых годов утечка рыб из маточного стада аквахозяйства в районе Молочного лимана сформировала самовоспроизводящуюся азовоморскую популяцию, размеры которой позволили открыть полномасштабный промышленный лов, результаты которого достигли в 1997–1999 гг. 3,4–8 тыс. т. К концу XX века пиленгас освоил для обитания всю акваторию Азовского моря и западную часть Таганрогского залива, ежегодно отмечался выход нерестовых скоплений пиленгаса в Черное море через Керченский пролив. Мальки пиленгаса отмечались практически на всем протяжении Азово-Черноморского побережья в границах Российской Федерации.

Создание рациональных основ эксплуатации стада пиленгаса (безущербное изъятие промысловой части популяции без подрыва способности к воспроизводству, изъятие части молоди из естественной популяции для обеспечения потребностей прудовой аквакультуры) предполагало оптимизацию пропорций сохранения численности и возрастного состава производителей в природной среде обитания для обеспечения неистощимого характера природопользования. Наиболее актуальным является установление характера созревания и продуктивности производителей на различных акваториях Азовского моря, т.к. эксплуатация имеющегося стада велась предприятиями двух государств, имеющих различные взгляды на источники происхождения и пополнения популяции.

В связи с этим было проведено сравнение репродуктивного потенциала особей из натурального ареала и ареала вселения; изучено созревание самцов и самок пиленгаса в Азовском ареале; исследованы физиологические границы для осуществления производителями продуктивного нереста, условий, лимитирующих эффективность воспроизводства популяции; проведен расчет репродуктивного потенциала популяции и анализ влияющих факторов. Исследования были выполнены по материалам, полученным в рейсах по исследованию физиологического состояния рыб, и при анализе рыб из уловов береговых орудий лова в районе Керченского пролива при нерестовой миграции рыб из Азовского в Черное море (Дудкин и др., 2000).

В ареале вселения у пиленгаса отмечают более высокие темпы роста по сравнению с натуральным, на что указывают многие исследователи (Старушенко, 1977; Мизюркина, Марковец, 1981; Мизюркина, Мизюркин, 1983; Семененко, 1986; 1987; Шевцова, 1991; Пряхин, 1998). Однако большинство авторов изучали темп роста пиленгаса в отдельных изолированных водоемах, в частности, в Шаболатском и Молочном лиманах. Поэтому целесообразным представлялось сравнение темпов роста у рыб из родного ареала (Амурский залив), откуда собственно и отбирались особи для акклиматизации, и акватории Азовского моря как наиболее общей единицы ареала вселения, где и произошло зарождение и формирование самовоспроизводящейся популяции (*табл. 6*).

Более высокий темп роста в новом ареале был связан, по-видимому, с двумя основными факторами — более высокой суммой температур воды в течение годового цикла в мелководном, хорошо прогреваемом Азовском море и более богатыми трофическими условиями ареала вселения.

Таблица 6. Сравнительные показатели роста пиленгаса в исходном и новом ареалах

Возраст, лет	Амурский залив*		Азовское море**	
	длина, см	масса, г	длина, см	масса, г
2+	18,9	62,2	28,1	376,1
3+	–	–	34,1	682,7
4+	33,4	363,5	42,8	1327,5
5+	–	–	51,0	2089,3
6+	48,1	1104,6	57,1	3506,0
7+	–	–	62,9	4436,5
8+	56,6	1790,0	67,0	5209,5
10+	66,0	2700,0	–	–

Примечание: *Казанский и др., 1968; **Пряхин, 1998

Анализ питания пиленгаса выявил расширение в новом ареале спектра кормовых объектов. Наряду с богатым органическим веществом (в т.ч. микробиальным белком) детритом в пищевом комке отмечались моллюски гидробия и мелкая абра; существенную часть питания составляли также многощетинковые черви нереис и нефтис. Хорошие условия нагула обуславливали накопление к зимнему сезону высоких жировых запасов, сосредоточенных преимущественно в виде жира брюшной полости тела, в меньшей степени в составе жировых запасов печени; некоторое количество жира откладывалось в стенке брюшины, подкожной жировой клетчатке и между мышечными волокнами. Отмечено очень высокое содержание в печени жирорастворимых витаминов по сравнению с другими видами азовских рыб (рис. 8).

Исследование влияния антропогенного загрязнения на биохимические параметры и репродуктивное качество рыб выявило относительную видовую устойчивость пиленгаса по сравнению с другими рыбами. Активность микросомальных монооксигеназ в печени — основных факторов

детоксикации — была ниже, чем у других видов рыб, и не претерпевала существенных изменений на конечных этапах созревания (рис. 9). Содержание цитохрома

P450 и его неактивной формы P420 выше у самцов, что закономерно и для других видов рыб.

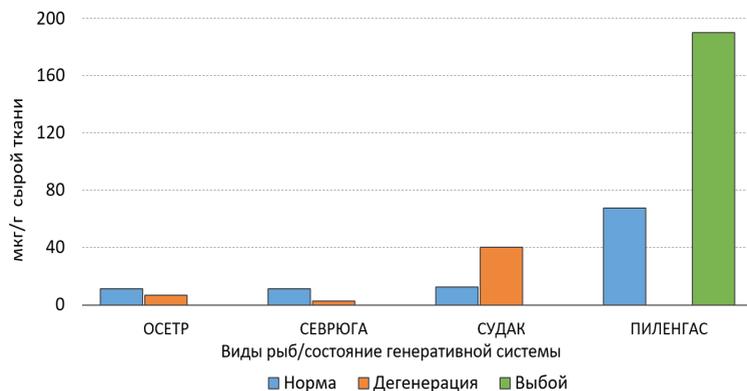


Рис. 8. Содержание токоферола в печени азовских промысловых рыб разного генеративного качества в нерестовый период

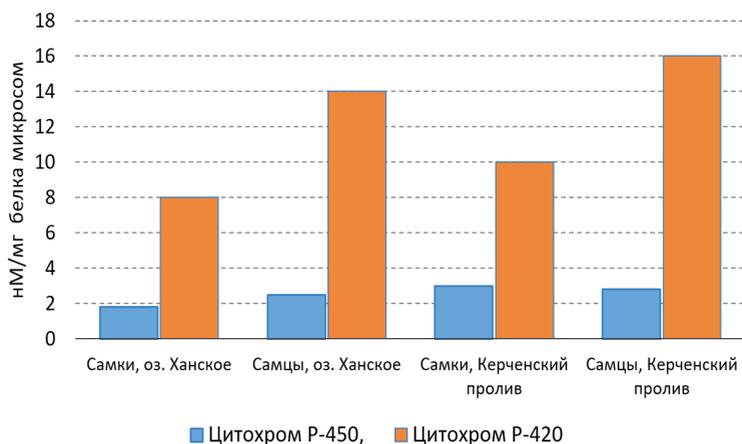


Рис. 9. Содержание цитохромов P450 и P420 в микросомах печени пиленгаса в разных районах обитания

В основе стабильности репродуктивной функции пиленгаса лежит адекватная обеспеченность организма биологическими антиоксидантами и, в первую очередь, антиоксидантными жирорастворимыми витаминами. Исследования содержания токоферола в печени показывали неизменно высокую обеспеченность токоферолом рыб в Азовском море, намного превышающим таковую у осетровых и хищных рыб. У значительной части особей судака, камбалы-калкана и осетровых созревание сопровождалось существенным истощением запасов токоферола в тканях и перераспределением его в гонады, что выражалось дефицитом витамина Е в печени и нарушением воспроизводства. У пиленгаса в Азовском море в связи с характером питания и особенностями полового созревания такого истощения не наблюдалось, что создавало биохимические предпосылки стабильности его репродуктивных качеств (рис. 10).

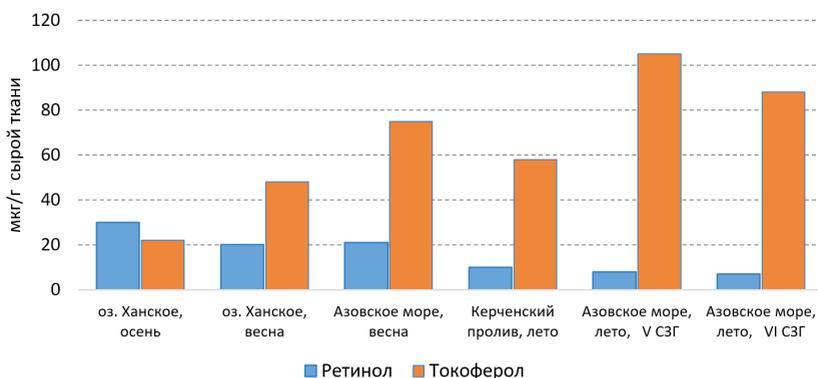


Рис. 10. Содержание токоферола и ретинола в печени самок пиленгаса в разных районах обитания

Вместе с тем, исследование выборки пиленгаса в оз. Ханское накануне зимовки 1999 г. показало низкую обеспеченность рыб токоферолом, что, вероятно, было связано с высокой плотностью его популяции и низким резервом кормовых

ресурсов. Это подтверждалось и крайне низким запасом полостного жира (коэффициент жиронакопления 0,35 по сравнению с 2,25 у рыб в Азовском море накануне зимовки). Зимним промыслом, открытым в оз. Ханское в течение октября 1999 по январь 2000 г., было изъято свыше 240 тыс. особей пиленгаса (по данным Кубаньрыбвода), что создало предпосылки для улучшения условий нагула оставшихся рыб. К апрелю индексы жирности самок из оз. Ханское возросли до 1,21, а обеспеченность тканей токоферолом — более чем в 2 раза (рис. 10), хотя они и уступали по уровню этих показателей рыбам из Азовского моря. При этом следует отметить, что в связи с использованием трофических ресурсов на формирование половых продуктов в апреле 2000 г., содержание токоферола в печени самцов, в отличие от самок, оставалось на невысоком уровне (рис. 11).

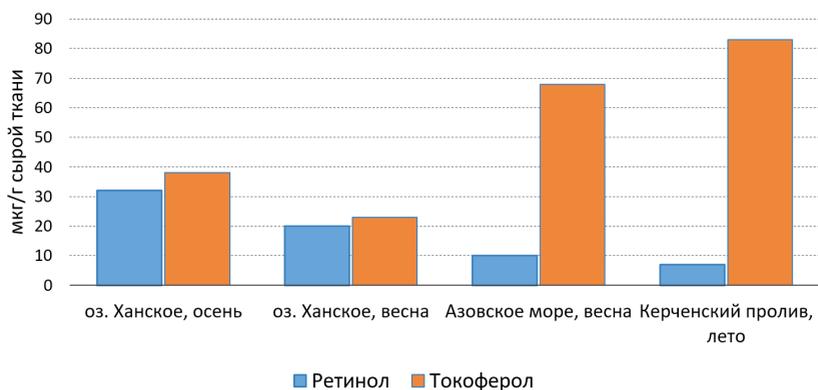


Рис. 11. Содержание токоферола и ретинола в печени самцов пиленгаса в разных районах обитания

Такое межтканевое перераспределение антиоксидантных ресурсов характерно для всех видов рыб в ходе созревания гонад и обычно сопровождается возрастанием не только абсолютного, но и относительного содержания токоферола в гонадах самок пиленгаса (рис. 12) (Дудкин и др., 2000).

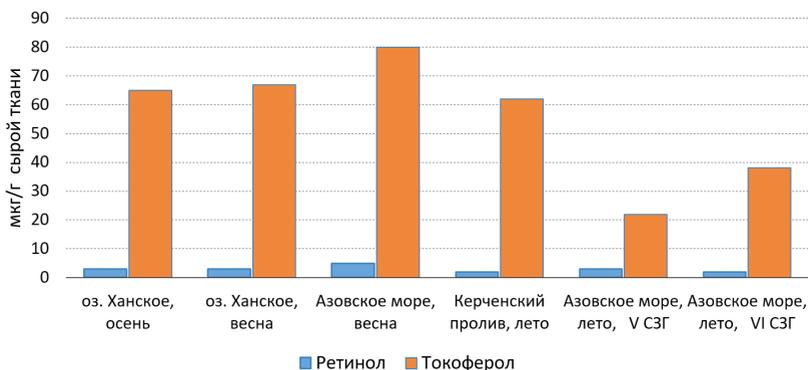


Рис. 12. Содержание токоферола и ретинола в гонадах самок пиленгаса в разных районах обитания

У самцов отмечалось накопление токоферола в семенниках (рис. 13). Содержание ретинола в печени при созревании самок незначительно снижалось, что отражало его интенсивное расходование на процессы дифференцировки половых клеток, размножение и трофоплазматический рост ооцитов (рис. 11). Следует отметить, что в половых клетках ретинол не накапливался и в зрелых половых яйцеклетках достигал нескольких микрограммов на грамм сырой массы, а у самцов в спермиях выявлялись только следовые количества ретинола на уровне чувствительности метода.

В половых клетках могут накапливаться только метаболитические предшественники ретинола — вещества с ярко выраженными антиоксидантными свойствами — каротиноиды. Степень их аккумуляции обеспечивается как биологическими видовыми особенностями рыб (чем длительнее процесс эмбриогенеза, тем выше содержание каротиноидов), так и условиями обитания (спектр кормовых объектов, обеспеченность пищей, наличие в среде токсикантов, разрушающих каротиноиды, и др.). Наиболее наглядно биохимическая неоднородность по содержанию ксантофиллов в печени и гонадах представлена на рис. 14. Наиболее высокое содержание ксантофиллов обнаруживалось у пиленгаса, обитающего в оз. Ханское, и у рыб

в Керченском проливе, совершающих нерестовую миграцию из Азовского в Черное море. Минимальное их количество отмечалось у рыб, обитающих и нерестящихся непосредственно на акватории Азовского моря (рис. 14), что, по-видимому, связано с различиями в условиях обитания рыб и указывает на их физиолого-биохимическую неоднородность.

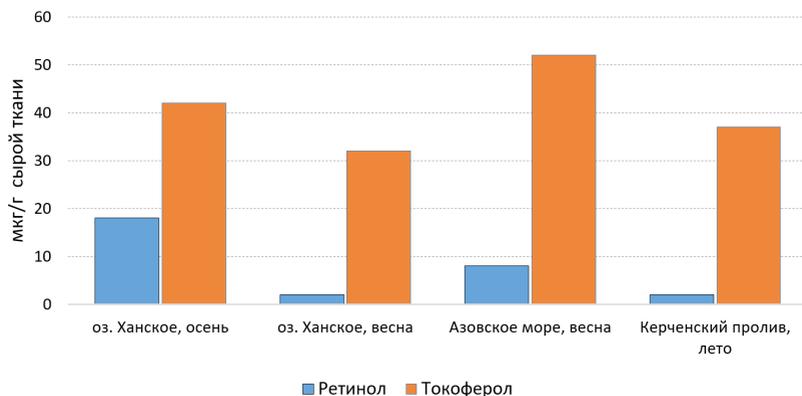


Рис. 13. Содержание токоферола и ретинола в гонадах самцов тилленгаса в разных районах обитания

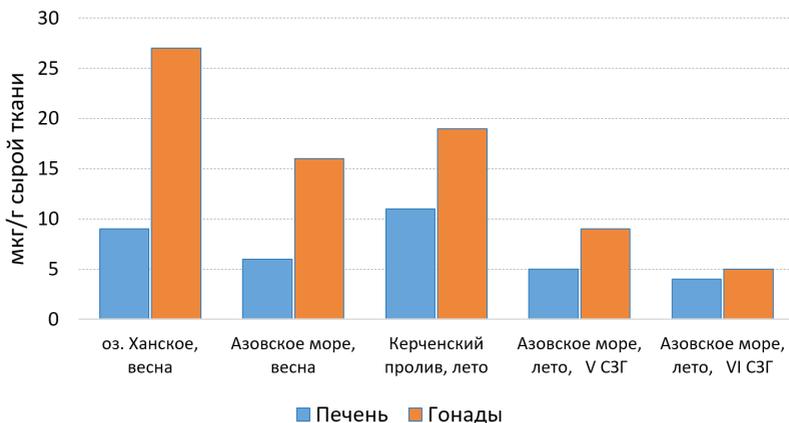


Рис. 14. Содержание ксантофиллов в печени и гонадах самок тилленгаса в разных районах обитания

Конечные этапы созревания, овуляция икры, состояние текучести самок и последующая после нереста перестройка гонад (в т.ч. резорбция остаточных невыметанных половых клеток) сопровождались существенной активацией микросомального комплекса (в 3–5 раз) по сравнению с рыбами III стадии зрелости гонад. Наиболее высокая активность лизосом отмечалась в печени рыб, что обнаруживалось по возрастанию активности основной протеиназы — катепсина D (рис. 15).

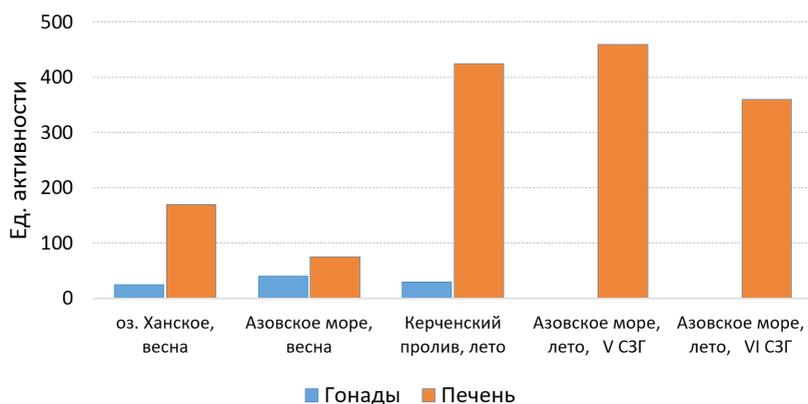


Рис. 15. Активность катепсина D в печени и гонадах самок пиленгаса в разных районах обитания

Таким образом, были получены биохимические свидетельства неоднородности пиленгаса разных вариационных выборок из различных районов обитания. Высокое содержание токоферола (соединения, абсолютно необходимого для нормального формирования, роста и развития половых клеток) характерно для всех сезонов года и значительно возрастает даже после вымета половых клеток в период размножения. У пиленгаса высокое содержание токоферола в печени отражает значительные поступления этого соединения с пищей, т.к. этот витамин животные не могут самостоятельно синтезировать; единственным источником первичной продукции

токоферола в водных экосистемах является фитопланктон и гидрофиты. Вместе с тем, эта особенность азовского пиленгаса не является видовой и обусловлена трофическими условиями экосистемы.

Высокое содержание токоферола в печени и, соответственно, в гонадах у азовского пиленгаса создают биохимические предпосылки стабильности репродуктивной функции у рыб в новом ареале обитания, а повышение темпа роста и хорошие условия нагула — ускорение созревания рыб по сравнению с натурным ареалом (Дудкин и др., 2000).

Так, по данным Б.Н. Казанского и Л.И. Старушенко (1980) в материнских водоемах самцы пиленгаса впервые созревают в четырехлетнем возрасте, самки — на год позже. Исследуя созревание рыб в Шаболатском лимане, они установили более раннее половое созревание самцов в трехлетнем и самок в четырехлетнем возрасте. Аналогичные сроки созревания отмечала и Л.И. Семенович (1991) для условий Молочного лимана, а также Ю.В. Прякин (1995; 1996) для собственно Азовского моря. При этом некоторая часть самок (около 30 %) созревала даже в трехлетнем возрасте.

Половой цикл пиленгаса характеризуется тем, что вторая половина лета и осень являются сезонами интенсивного нагула и роста, темп роста гонад низок и в зимовку рыбы уходят во II, II–III стадиях зрелости гонад. Основные процессы сперматогенеза и увеличения гонадосоматического индекса начинаются с ранней весны до наступления нерестового периода при интенсивном питании особей. Так, в июне–июле у рыб, нерестящихся на акватории Азовского моря и Таганрогского залива, отмечались низкая активность детоксикационных систем печени, показывающая устойчивость особей к действию антропогенных загрязнителей среды обитания; высокое содержание антиоксидантных компонентов в тканях (*табл. 7*).

В начале 2000-х гг. гематологический анализ показывал картину, близкую к норме. По сравнению с периодом 1996–

1997 гг., когда влияние загрязнения на физиологические параметры рыб вызывало отклонение в лейкоцитарной формуле и отмечалось возрастание числа нейтрофилов (в 2 раза) и моноцитоз (примерно в 10 раз) на фоне умеренной лимфопении, в этот период показатели крови пиленгаса приближались к норме.

Таблица 7. Содержание и активность биохимических показателей в тканях азовского пиленгаса в нерестовый период

Показатели	Самки $M_{cp}=3,41\pm 0,25$ кг $L=55,13\pm 1,41$ см		Самцы $M_{cp}=2,35\pm 0,19$ кг $L=48,86\pm 1,22$ см	
	печень	гонады	печень	гонады
Цитохром P ₄₅₀ [*] нМоль/мг белка	1,15±0,15	–	0,92±0,15	–
Цитохром P ₄₂₀ [*] нМоль/мг белка	1,99±0,23	–	2,27±0,31	
Цитохром B ₅ [*] нМоль/мг белка	2,93±0,44	–	2,49±0,52	–
Супероксиддисмутаза, ед. акт/мг белка	8,14±1,13	3,12±0,25	9,24±0,76	–
Токоферол, мкг/г с. тк.	95,01±15,71	62,16±8,09	57,72±13,62	47,19±0,40
Ретинол, мкг/г с. тк.	19,24±3,02	6,14±1,49	31,32±1,63	0,54±0,42

Гистологический анализ печени пиленгаса, обследованного в начале 2000-х гг., показывал также, что патологические явления встречались единично.

Таким образом, анализ физиолого-биохимических и гистологических показателей состояния тканей азовского пиленгаса в преднерестовый период показал следующее:

- относительную по сравнению с другими азовскими рыбами устойчивость репродуктивной функции к негативному влиянию антропогенного загрязнения;

- высокую стабильность антиоксидантного статуса, необходимую для нормального формирования половых клеток;
- отсутствие в цикле созревание — нерест периодов физиологического напряжения (длительных перерывов в питании, как у осетровых рыб; протяженных нерестовых миграций, как у проходных и некоторых полупроходных рыб), провоцирующих негативные сдвиги в состоянии в случае воздействия повреждающих факторов.

Установлено, что наиболее стабильной является репродуктивная функция самцов. После зимовки у самцов отмечается II и II–III стадии зрелости семенников, значения гонадосоматического индекса невелики и колеблются от 0,1 до 3,3 %. К началу апреля у самцов семенники достигают III стадии зрелости с величиной гонадосоматического индекса 6,3 0,49 %. В этот период в семенниках присутствуют половые клетки на разных этапах сперматогенеза и отмечается образование сперматозоидов.

В июне – начале июля семенники самцов обычно достигают IV, IV–V стадии зрелости. При визуальном осмотре и гистологическом исследовании патологических изменений не выявлялись; довольно часто встречалась разноразмерность отдельных семенников у одного и того же самца, отмечались особи с одним семенником. Текущие самцы встречались по всей акватории моря, а также в западной и центральной частях Таганрогского залива.

Е.Б. Моисеева (1994) не выявляла какой-либо асинхронности в развитии половых клеток у самцов азовского пиленгаса на завершающих этапах гаметогенеза, а также «догоняющей» волны сперматогенеза, которая описана у пиленгаса Дальнего Востока (Казанский и др., 1968; Моисеева, Любомудров, 1997).

Таким образом, у самцов азовского пиленгаса состояние текучести спермы сохраняется непродолжительное время

(дни), и, как отмечает Е.Б. Моисеева, «длительность нерестового периода популяции обуславливается индивидуальными вариациями состояния самцов и их разновременным переходом в текучее состояние...» (Моисеева, Любомудров, 1997).

Вместе с тем, встречаемость текучих самцов пиленгаса в разных точках его азовского ареала еще не свидетельствует о возможностях продуктивной эффективности оплодотворения в зонах с различной соленостью среды.

Для оценки солевых границ возможной эффективности оплодотворения сперматозоидами по времени их активного движения был проведен эксперимент с использованием растворов различной солености (Дудкин и др., 2000). Результаты представлены на *рис. 16*.

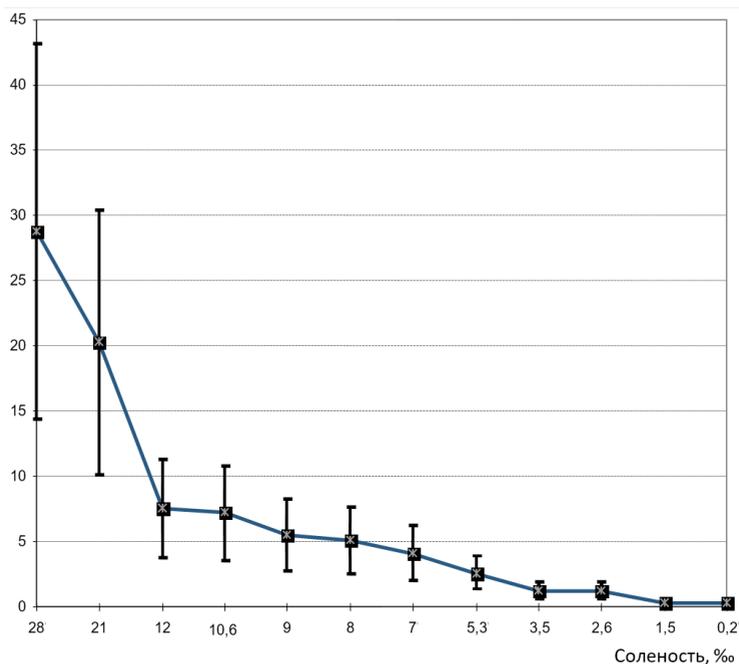


Рис. 16. Максимальное время активного движения спермиев пиленгаса в воде различной солености

Выявленный эффект популяционного оптимума в границах более высоких значений солености, чем отмечаются на акватории Азовского моря, по-видимому, объясняет наличие выраженного ежегодного нерестового хода зрелых производителей из Азовского в Черное море через Керченский пролив в зоны повышенной солености. При этом встречаемый нерестовыми косяками отрицательный температурный градиент между двумя морями, вероятно, является основным фактором, заставляющим производителей продвигаться по мелководным, наиболее прогретым участкам Керченского пролива и Черноморского побережья.

Естественно, что определяющая роль в формировании популяционной плодовитости принадлежит самкам. Еще пионеры акклиматизации пиленгаса в Азово-Черноморский бассейн отмечали, что, наряду с увеличением темпов роста и ускорением созревания, у рыб в новом ареале возростала абсолютная плодовитость самок (Казанский и др., 1968; Старушенко, 1977; Семененко, 1986; 1987). Однако эти данные касались самок, созревавших в условиях Шаболатского и Молочного лиманов, отчасти рыб, выращенных в садках либо иных экспериментальных условиях. Поэтому мы сочли необходимым определить плодовитость самок, взятых из сформированной естественной азовской популяции.

Так же, как и у самцов, у самок пиленгаса основные процессы оогенеза и созревания происходят после окончания зимовки. К началу апреля гонады всех самок достигали III стадии зрелости с яйцеклетками в разных фазах вителлогенеза. У 30 % самок была выявлена III стадия зрелости (фаза Д2).

Цитоплазма ооцитов наполовину или немного более половины заполнена вакуолями. Гонады 30 % самок были представлены III стадией зрелости с фазой Д1–Е. В зоне периферических вакуолей некоторых ооцитов отмечены гранулы желтка (Е1), основную массу половых клеток со-

ставляли ооциты более ранних фаз трофоплазматического роста (Д1 и Д2). Треть самок была представлена III стадией зрелости с фазой Е1. Отмечалось начало отложения желтка, желточные гранулы занимали менее половины цитоплазмы ооцита.

В это время года наиболее продвинутые в развитии ооциты в яичниках III стадии зрелости достаточно обособлены от резервного фонда половых клеток последующих циклов развития гонад, что является свидетельством их готовности к нересту.

Завершающие стадии оогенеза у самок пиленгаса наблюдаются со второй половины апреля и в течение мая на фоне повышения температуры воды. Отдельные самки начинают нереститься уже к концу мая, однако основная масса самок созревает и нерестится во второй половине июня. В это время гонады у подавляющего числа самок из рейсовых уловов находились в стадии зрелости гонад IV и IV–V. В отличие от натурального ареала, где у самок сохраняется порционность нереста (2–3 и более порций икры) и растянутость периода размножения, в азовском ареале преобладалась в основном единовременность созревания икры и однопорционность икрометания. Невыметанная икра более ранних стадий развития, по-видимому, подвергается тотальной резорбции.

Т.к. данные литературы по плодовитости самок в новом ареале противоречивы и часто относятся либо к раннему периоду вселения, либо созреванию в экспериментальных условиях или придаточных водоемах с отличными от Азовского моря температурными, кормовыми и другими условиями, мы провели определение возрастной плодовитости азовских самок пиленгаса. Всего были определены параметры плодовитости у 98 рыб 7 возрастных групп от трехлеток до рыб девятилетнего возраста. Материалы представлены на *рис. 17*.

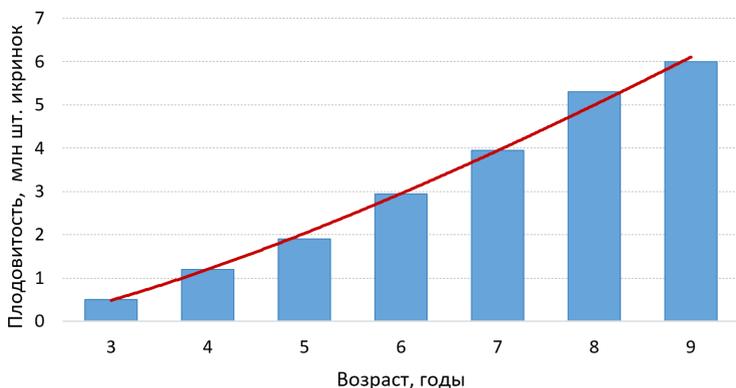


Рис. 17. Зависимость общей плодовитости пиленгаса от возраста

Как видно из *рис. 17* абсолютная плодовитость линейно зависит от возраста самок. При этом самка 8–9-летнего возраста по абсолютной плодовитости заменяет 11–12 впервые созревающих рыб, а, учитывая невысокий процент созревания последних (31,2 %), имеет репродуктивный потенциал приблизительно тридцати пяти штук самок поколения трехлеток (Пряхин, 2002).

Таким образом, для сохранения высокого репродуктивного потенциала популяции пиленгаса очень важно сохранять возрастную структуру популяции, регулируя промысловые нагрузки. Чтобы оценить общую популяционную плодовитость стада азовского пиленгаса, необходим учет еще одного биологического фактора, а именно, соотношения самок и самцов в возрастных поколениях. Так, в поколениях трехлеток количество самок выше, чем самцов (58 %). С возрастом количество самок в поколениях увеличивается, достигая у 8–9-летних рыб 68–70 %. Возможно, причина этого — повышенная естественная смертность самцов. Однако Е.Б. Моисеева при детальном гистологическом анализе самцов азовского пиленгаса отмечала наличие в семенниках 45,7 % рыб половых клеток противоположного пола (Моисеева, Любомудров, 1997). Их развитие в семенниках не идет далее начальных стадий периода прото-

плазматического роста. Овоидные клетки не всегда выглядят нормальными, в отдельных случаях дают гиперхромное окрашивание и, по-видимому, дегенерируют. Но в большинстве случаев по морфологическим признакам женские половые клетки не отличаются от обычных ооцитов соответствующей фазы развития, которые наблюдаются в яичниках. Овоидные клетки встречаются в семенниках во все сезоны года. Число их варьирует от единичных клеток на 20–80 срезах до 108 ± 17 на одном срезе (Моисеева, Любомудров, 1997). Возможно, присущий пиленгасу массовый скрытый гермафродитизм самцов может быть источником реверса пола у части рыб и тем самым пополнения числа самок в старшевозрастных группах популяции.

Для расчета популяционной плодовитости также необходим учет созревающих самок. Для трехлетних рыб он составляет 31 %; часть самок остальных поколений также может не созревать и пропускать нерест, как это было описано выше. Эта доля самок усреднена в поколениях до 11 %. Используя возрастную структуру популяции и численность рыб разных поколений (Пряхин, 1998), мы попытались оценить общую популяционную плодовитость азовского пиленгаса в нерестовый сезон 1998 г. (табл. 8).

Таблица 8. Популяционная плодовитость пиленгаса в 1998 г.

Возраст, лет	3	4	5	6	7	8	9
Год генерации	1995	1994	1993	1992	1991	1990	1989
Всего рыб, тыс. шт.	200	500	1700	4200	1700	300	100
В т.ч. самок, тыс. шт.	116	300	1105	2730	1105	204	68
В т.ч. репродуктивно-полноценных, тыс. шт.	37	262	971	2380	952	171	51
Плодовитость самок, млн икринок/экз.	0,51	1,28	1,98	3,21	3,92	5,63	6,04
Популяционная плодовитость, млрд икр.	19	335	1923	7640	3732	963	308
Итого, млрд икр.	14920						

Как видно из *табл. 8*, общая популяционная плодовитость пиленгаса в Азовском море составила в 1998 г. огромную величину (около 15 триллионов икринок). Основной вклад (свыше половины в общее число икринок) внесло урожайное поколение самок генерации 1992 г., которые к моменту нереста достигли шестилетнего возраста. В целом, поколения генераций 1991–1993 гг. определили около 90 % репродуктивного потенциала популяции азовского пиленгаса и были представлены самками 5–7-летнего возраста.

Более старшевозрастные группы, в т.ч. поколения, давшие начало массовой самовоспроизводящейся промыслово-значимой популяции (генерации 1982–1988 гг.), были сильно обловлены промыслом и не смогли внести вклад в формирование репродуктивного потенциала. Это замечание касается и первого массового поколения генерации 1989 г.

Промысел является важным фактором, изменяющим общую численность производителей. С начала его открытия в Азовском бассейне его структура постоянно менялась, как и эффективность, и сроки применения различных орудий лова. В первые годы промысел базировался на облове преднерестовых скоплений и нерестовых косяков в течение весны и первой половины лета береговыми орудиями лова и носил относительно «щадящий» режим для тех особей, которые нерестились в акватории собственно моря. Одновременно совершенствовались методы зимнего лова промысловыми судами, и в настоящее время разработаны эффективные способы морского лова, обуславливающие основной вылов пиленгаса в бассейне (*рис. 18, 19*).

Зимний лов существенно снизил численность производителей, в результате чего промысловые усилия берегового ставного лова весной и в начале лета по традиционному облову преднерестовых и нерестовых скоплений в 1999 г. оказались неэффективными.

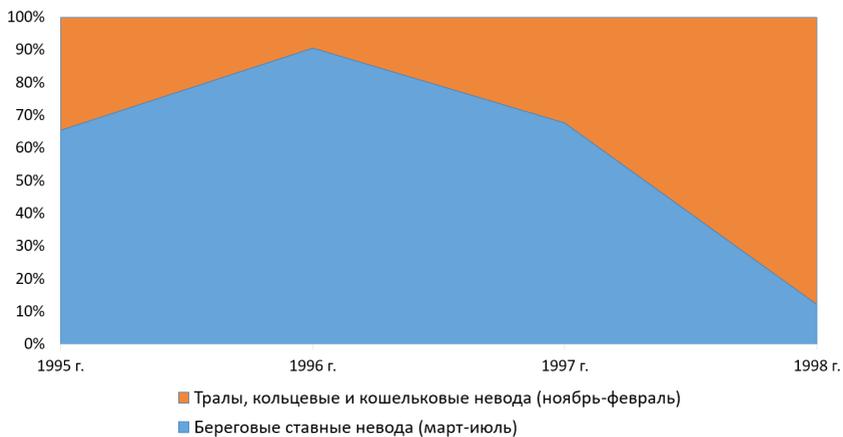


Рис. 18. Вылов тиленгаса различными орудиями лова

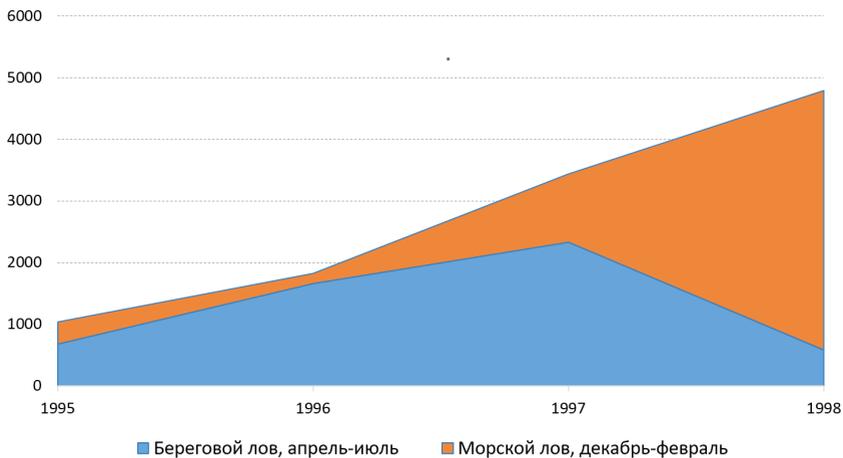


Рис. 19. Структура промыслового изъятия азовского тиленгаса, т

Тем не менее, представляет интерес анализ влияния промысловых усилий и изъятия производителей на общую популяционную плодовитость пиленгаса в современных условиях изъятия поколений. Рассмотрим убыль поколений и изменение их репродуктивного потенциала на примере наиболее мощного промыслово-значимого поколения генерации 1992 г., т.к. анализ этого поколения сопряжен с минимальными погрешностями в оценках. В возрасте трехлеток, когда это поколение вступило в репродуктивный возраст, уже были развиты учетный лов и промысловая эксплуатация поколения 1995 г. Численность поколения оценивалась свыше 12 млн шт. особей. К 1998 г. вследствие промысловых нагрузок численность этого поколения снизилась до 4,2 млн шт., т.е. было изъято $2/3$ особей (Воловик, Пряхин, 1996; 1999; Пряхин, Воловик, 1997). График изменений численности поколения, числа репродуктивных самок и популяционной плодовитости этого поколения представлен на *рис. 20*.

Вместе с тем, промысловое изъятие $2/3$ поколения не привело к снижению популяционной плодовитости (на момент анализа 1998 г.) и в течение 1996–1998 гг. последняя не только не снизилась, но даже и незначительно возросла. Это подтверждает сделанный нами ранее вывод о необходимости регулирования промысловых нагрузок с целью сохранения в популяции старшевозрастных высокопродуктивных самок (*рис. 20*).

Есть основание полагать, что изменение полового состава и возрастной рост плодовитости самок являются адаптационными элементами популяционного уровня, задействованными в условиях нового ареала вселения.

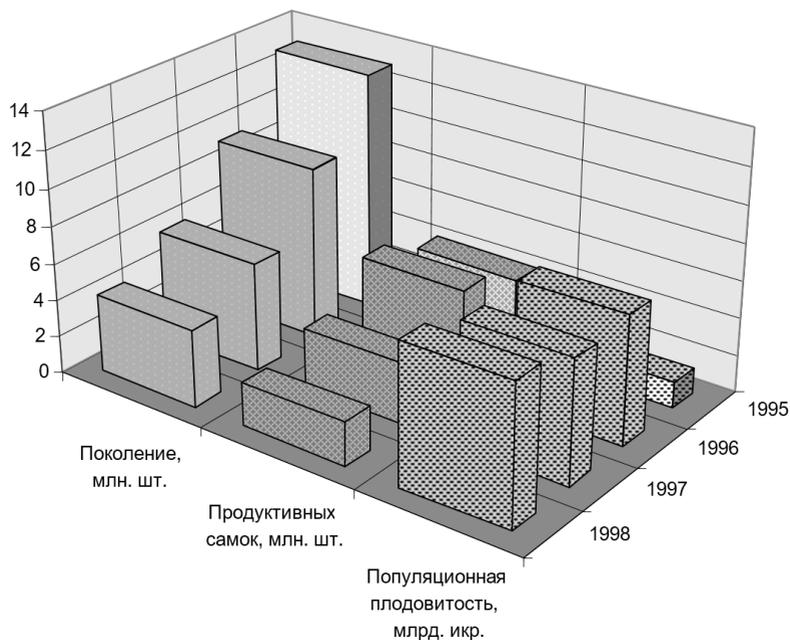


Рис. 20. Популяционная плодовитость пиленгаса поколения 1992 г.

При всей важности численности самок и соленостных границ возможного продуктивного оплодотворения икры эффективность воспроизводства популяции в большей степени определялась ранними стадиями онтогенеза: развитием оплодотворенной икры, условиями морфогенеза личинок и величинами естественного отхода на ранних стадиях развития. Возвращаясь к табл. 8 и рис. 20, мы видим резкие различия в величине урожайности поколений (1992 г. — около 12,5 млн особей в возрасте трехлеток, а 1995 г. — 0,2 млн особей в этом же возрасте), хотя нет никаких оснований считать, что популяционная плодовитость самок в это время претерпевала резкие колебания (рис. 20). Если принять (пренебрегая неизбежной погрешностью) величину ежегодной популяционной плодовитости азовского пиленгаса примерно 15 трлн

икринок, то к возрасту трехлеток от выметанной икры в поколении 1992 г. развилась 1 особь из миллиона, а в поколении 1995 г. — 1 особь из 75 млн выметанных икринок.

Столь значительные флуктуации урожайности поколений требуют дополнительных исследований и, по-видимому, являются неизбежной платой популяции за освоение экологических ниш в новом ареале обитания.

Повторить такого рода исследования особенностей созревания популяции пиленгаса не представляется возможным из-за сокращения численности и изменения направленности тематики работ по пиленгасу.

В заключении главы 4 необходимо отметить, что, рассматривая особенности функционального состояния популяции, были получены материалы, свидетельствующие о биохимической неоднородности пиленгаса из различных биотопов. Отмечено, что стабильность репродуктивной функции определяется адекватной обеспеченностью организма антиоксидантами, поступающими с пищей в водоемах различной трофической обеспеченности.

Эксперимент по оценке эффективности оплодотворения подтвердил наличие оптимума в границах более высоких значений солености (12–22 ‰), однако не отрицается возможность оплодотворения при более низких значениях солености.

Исследования физиологических границ для осуществления производителями эффективного нереста показало, что в формировании популяционной плодовитости важная роль принадлежит самкам старшего возраста. При рассмотрении убыли поколений и изменения репродуктивного потенциала подчеркивается необходимость регулирования промысловых нагрузок с целью сохранения в популяции высокопродуктивных самок старшего возраста.

ГЛАВА 5

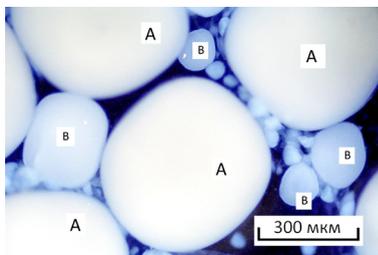
Физиологические аспекты роста, полового цикла, созревания пиленгаса Азово-Черноморского бассейна

5.1. Адаптационные особенности репродуктивной системы пиленгаса из Азово-Черноморского бассейна

Адаптационные особенности репродуктивной системы пиленгаса из Азово-Черноморского бассейна изучались подробно, но, как показывает анализ литературных данных, полученные разными исследователями результаты достаточно разнородны, а иногда и противоречивы (Бугаев и др., 2019). Различия в параметрах среды обитания между Азово-Черноморским бассейном и заливом Петра Великого по показателям сезонных изменений температур, температурного максимума, солености воды привели к определенным изменениям в физиологии и морфологии вида. Показано, что более высокий температурный фон Азовского и Черного морей стал причиной увеличения темпов роста и снижения возраста первого созревания в среднем на 1–2 года (Куликова, Моисеева, 1999). Адаптация к азово-черноморским условиям проявилась в размерной гетерогенности зрелой икры (Моисеева, 1994), а также в снижении средних размеров ооцитов по сравнению с дальневосточной популяцией (Куликова, Моисеева, 1999; Пряхин и др., 2001). Имеются сведения о порционности созревания гонад у самок, выловленных у черноморских побережий Кавказа и Крыма (Селивестров, 1999; Бугаев и др., 2003; Пьянова, 2002; 2004).

Наши исследования показали, что в начале зимы до 25 % самок имели гонады II–III стадии зрелости и до 75 % — III стадии зрелости. Начиная с осеннего периода, в гонадах самок пиленгаса присутствуют ооциты двух генераций: резервного и текущего продукционного фонда (рис. 21). Первые превителлогенные ооциты в течение текущего сезона

не созревают и остаются на стадии цитоплазматического роста; диаметр этих ооцитов составляет 30–140 мкм. Они служат резервом для репродукции следующего периода. Ооциты второй группы выделяются своим размером и находятся в более зрелом состоянии, являясь расходным фондом текущего нереста; диаметр ооцитов варьирует в пределах 160–450 мкм (рис. 22). Зимуют рыбы, имея гонады II, II–III и III стадий зрелости. В течение зимнего периода, в зависимости от температуры, развитие гонад либо приостанавливается, либо идет в замедленном темпе (Куликова, 1982; Куликова и др., 1996).



◀ **Рис. 21.**

*Микрофотография ооцитов пиленгаса.
Стадия зрелости гонад II–III.
Ув. 40×10*

*A — ооцит трофоплазматического
роста (III стадия зрелости),
B — ооцит протоплазматического
роста (II стадия зрелости)*

Особенности созревания самок пиленгаса в весенний и начальный летний периоды подробно описаны в ряде работ (Моисеева, 1994, Куликова и др., 1996). Показано, что ооциты обеих популяций к середине марта увеличиваются в размерах. Ооциты резервного фонда прекращают рост, достигнув размеров 150–250 мкм; группа трофоплазматических ооцитов представлена разноразмерными клетками без выраженной модальности. В наших исследованиях выявлено, что ооциты трофоплазматического роста характеризуются разноразмерностью (225–450 мкм) с выраженной моноили бимодальностью. В среднем по всей выборке пиленгаса, выловленного в конце марта – начале апреля, модальная группа трофоплазматических ооцитов находится в диапазоне 300–400 мкм (рис. 22). Большинство самок в этот период имели гонады III стадии зрелости.

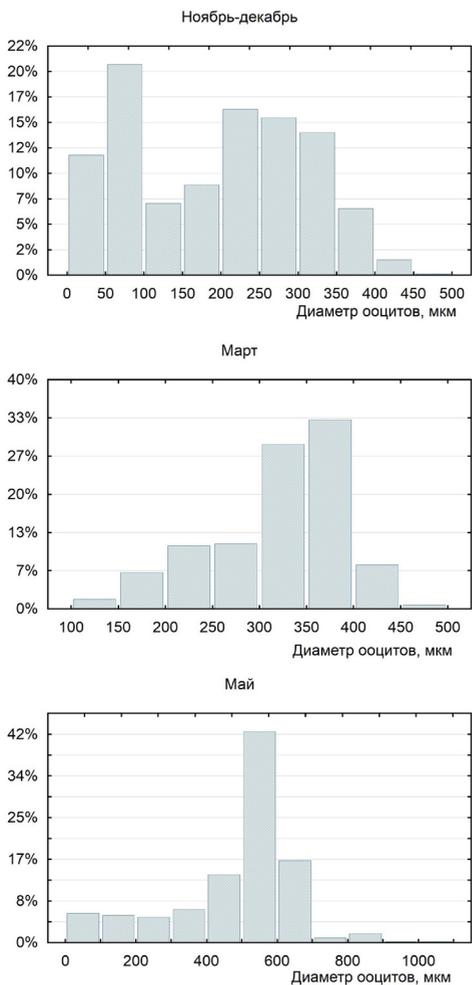


Рис. 22. *Размерный состав ооцитов пчеленгаса в различные сезоны наблюдения*

ооцитов; расстояние между модами составляло 50 мкм. В качестве образца бимодального распределения созревающих ооцитов приводим самку пчеленгаса, выловленную в Темрюкском заливе в начале июня 2015 г. (рис. 23).

Формирование расходного фонда половых клеток происходит у пчеленгаса на фоне повышения температуры воды в сравнительно короткий срок, продолжительностью 20–40 суток, начиная со второй декады мая. К концу мая в яичниках пчеленгаса ооциты представлены популяциями 150–250 мкм и 500–700 мкм с одним модальным размером 500–600 мкм. Большинство самок при этом имеют гонады III–IV стадии зрелости. Стоит отметить, что в отдельные годы, по нашим данным, выявлялось до 60 % созревающих самок с бимодальным распределением диаметров

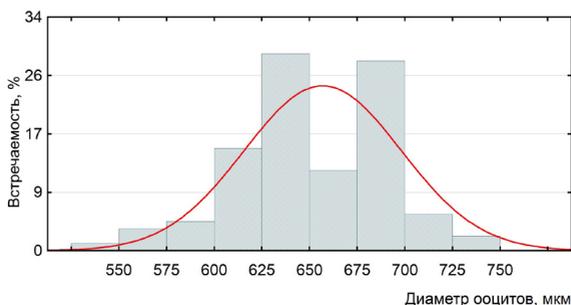


Рис. 23. Пример бимодального распределения диаметров ооцитов у самки пиленгаса с III–IV стадией зрелости гонад, выловленной в Темрюкском заливе в начале июня 2015 г.

По поводу структуры репродуктивного цикла самцов пиленгаса пока имеются некоторые расхождения, относящиеся к ранним стадиям зрелости. По данным исследований Е.Б. Моисеевой и А.К. Любомудрова (1997), II стадия зрелости семенников встречается у самцов в Азовском море с августа по февраль–март, а переход к II–III и III стадиям начинается с середины января. Результаты других исследований (Бугаев и др., 2003; Житенева и др., 2003) показывают, что самцы с II–III и III стадиями зрелости гонад ловятся уже в конце ноября – начале декабря и количество таких самцов в общей массе доминирует. Эти данные совпадают с наблюдениями за дальневосточным пиленгасом (Шкарина и др., 1989).

Самцы-производители, отловленные в середине и конце марта как в открытом море, так и в прибрежной зоне, имеют синхронно созревающие гонады III стадии. С повышением температуры воды с 9,6–11 °С (апрель) до 15,5–16,8 °С (май) происходит быстрое созревание половых продуктов (Моисеева, Любомудров, 1997). К концу мая большинство производителей имеют гонады IV стадии зрелости. В условиях нативного ареала обитания большинство самцов в этот период имеют III стадию зрелости гонад (Шкарина и др., 1989). Многие авторы отмечают, что в Азово-Черноморском ареале происходит

единовременное созревание гонад без признаков асинхронности, что в условиях быстрого повышения температуры воды в начале–середине июня обеспечивает полноценный нерест по кратковременному типу (Моисеева, Любомудров, 1997; Ложичевская и др., 2001; 2011). У пиленгаса Дальнего Востока описана асинхронность развития половых клеток на завершающих стадиях сперматогенеза, а также догоняющая волна сперматогенеза (Мизюркина, 1984; Шкарина и др., 1989).

Таким образом, у пиленгаса, акклиматизированного в Азово-Черноморском бассейне, наблюдаются определенные адаптационные изменения в репродуктивном цикле, вызванные новыми для него, по сравнению с заливом Петра Великого, условиями среды обитания. Самки из Азово-Черноморского бассейна созревают единовременно, признаки асинхронности наблюдаются эпизодически. Высокие темпы повышения температуры воды в период начала лета привели к адаптивному единовременному созреванию самцов. Тем не менее при выраженном изменении условий обитания в виде похолодания в весенний преднерестовый период отмечались случаи асинхронного созревания гонад самцов, характерного для дальневосточного ареала обитания.

Фотографии гистологических препаратов гонад самок и самцов пиленгаса разных стадий зрелости представлены на *рис. 24–32*.

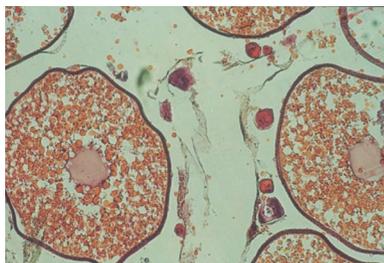


Рис. 24. Гонады самки пиленгаса. Начало IV стадии зрелости, норма. Ооциты трофоплазматического роста. Ув. $8 \times 10 \times$

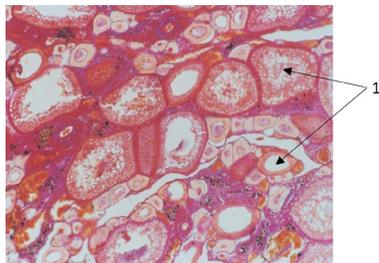


Рис. 25. Гонады самки пиленгаса. III стадия зрелости, остаточная резорбция зрелых ооцитов (1). Видна соединительная ткань. Ув. $8 \times 10 \times$

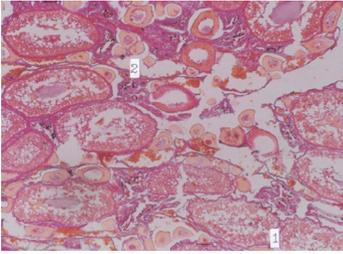


Рис. 26. Гонады самки пчеленгаса. Асинхронность созревания. Видны ооциты: созревающие ооциты III стадии (1) и II стадии зрелости (2). Ув. $10 \times 10 \times$

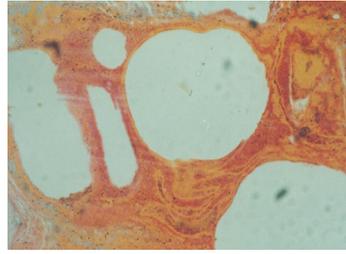


Рис. 27. Гонады самки пчеленгаса. Прошлогодняя резорбция, тяжи соединительной ткани. Ув. $7 \times 10 \times$

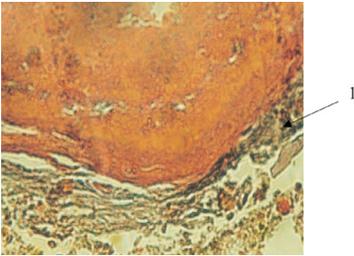


Рис. 28. Гонады самки пчеленгаса. Тяж резорбированной ткани (1). Ув. $7 \times 10 \times$

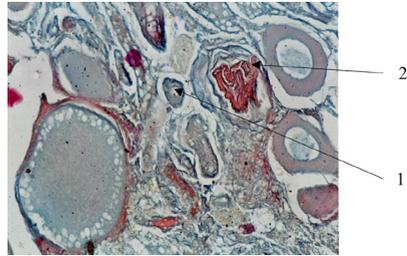


Рис. 29. Гонады самки пчеленгаса. Стадия зрелости VI-II. Видны ооциты протоплазматического роста (1) и лопнувшие фолликулы (2). Ув. $8 \times 10 \times$

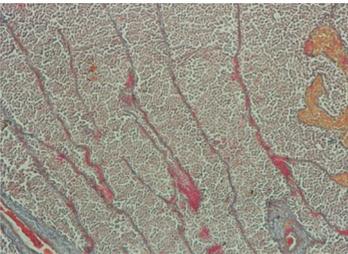


Рис. 30. Гонады самца пчеленгаса, III стадия зрелости. Ампулы заполнены сперматоцитами и единичными сперматозоидами. Норма. Ув. $7 \times 10 \times$

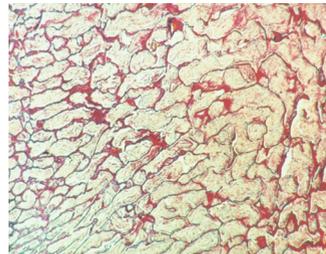
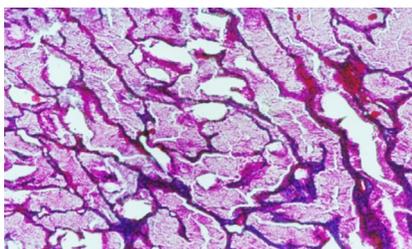


Рис. 31. Гонады самца пчеленгаса, IV стадия зрелости. В ампулах много сперматозоидов. Норма. Ув. $8 \times 10 \times$



◀ *Рис. 32.*
Гонады самца пиленгаса.
Вакуолизация ампул.
Ув. 8 × 10 ×

Исследование функционального состояния пиленгаса на разных этапах репродуктивного цикла с использованием физиолого-биохимических показателей позволяет дать качественную оценку состояния отдельных особей и популяции в целом. Расчет диапазонов «нормы» или референсных диапазонов может базироваться только на очень больших выборках, что не всегда возможно для некоторых объектов исследования.

Обойти ограничения, связанные с количеством эмпирического материала, позволяют методы математического распределения данных с генерацией повторных выборок (ресемплинга) (Бугаев и др., 2019).

Описанные в работе физиолого-биохимические показатели имеют тесную связь с полом особи и сезоном наблюдения, так как обеспечивают адаптацию рыб к текущим условиям существования и в конечном итоге определяют жизнеспособность популяции в целом.

Количество белка и липидов в мышечной ткани, гонадах и печени рассматривается как показатель протекания пластического обмена у рыб (Шульман и др., 1993). В предзимовальный период прослеживается зависимость уровня накопления белка и жира в мышечной ткани от степени зрелости гонад. Выявлено, что и самцы, и самки пиленгаса с гонадами III стадии зрелости имели более высокие значения накопления белка и жира, чем особи с гонадами II стадии зрелости. Таким образом, лучшие условия нагула и накопления резервных веществ положительно сказываются на скорости созревания половых продуктов к началу зимнего сезона.

К ранневесеннему периоду количество пластических резервов в мышечной ткани рыб снижается по сравнению с осенью; динамика снижения показателей продолжается и к началу нерестового периода при сравнении рыб с одной и той же стадией зрелости.

Содержание общего белка в гонадах самок в предзимовальный период значительно превышает эти показатели у самцов независимо от текущей стадии зрелости. По окончании зимы различия по данному показателю между самками и самцами отсутствуют при сравнении особей с одинаковой стадией зрелости гонад. При этом самцы и самки с гонадами III стадии зрелости демонстрируют более высокие значения по сравнению с особями со II стадией зрелости. В преднерестовый период в гонадах самок содержание общего белка превышает таковое у самцов почти в три раза независимо от уровня зрелости гонад. Аналогичное соотношение между самками и самцами в преднерестовый период отмечается по содержанию общих липидов в гонадах.

В ранневесенний сезон самцы и самки с незрелыми гонадами имеют схожие показатели по количеству общих липидов в гонадах. У самок с гонадами III стадии зрелости количество липидов в гонадах более чем в три раза превышает показатели незрелых самок и самцов и отражает кумуляцию пластических веществ в репродуктивных органах в период трофоплазматического роста ооцитов.

Содержание общих липидов в печени самцов почти не изменяется в течение репродуктивного цикла и, по всей видимости, отражает исключительно общий уровень состояния здоровья рыбы и качество питания, а не процессы, детерминированные созреванием гонад. У самок в преднерестовый период количество липидов в печени значительно снижается по сравнению с периодом после зимовки и может отражать перераспределение липидов в организме рыб, связанное с созреванием гонад, увеличением их массы и накоплением желтка в ооцитах.

Качественные и количественные характеристики метаболической функции крови являются информативными показателями при оценке функционального состояния изучаемого объекта. Показатели белково-липидного комплекса сыворотки крови отражают такие биологические процессы, как степень нагула, истощение, процессы, связанные с созреванием или дегенерацией икры (Корниенко и др., 1998).

По данным Г.Ф. Металлова и А.В. Ковалевой (2017) концентрация общего белка в крови находится в тесной взаимосвязи с репродуктивным циклом рыб. Авторами показано, что наиболее высокая концентрация белка в крови наблюдается на III–IV стадиях зрелости гонад. По завершении процесса созревания количество его в сыворотке снижается.

Отклонения, выявленные в белковом обмене, могут свидетельствовать о дефиците сывороточных белков, что может лимитировать их участие в биохимических процессах. Понижение уровня липидов в сыворотке крови может указывать как на интенсификацию использования липидов на нужды организма, так и ослабление функциональной активности печени.

Количество сывороточных белков у пиленгаса имеет сезонную динамику и отражает интенсивность обменных процессов, характерных для текущего этапа репродуктивного цикла. Максимальное количество белка обнаруживается в период подготовки к зиме с преобладанием значений у более зрелых особей над менее зрелыми. Максимум количества липидов в сыворотке отмечается в ранневесенний период, что согласуется с данными Г.Ф. Металлова и А.В. Ковалевой (2017) и, очевидно, характеризует интенсификацию обменных процессов при подготовке репродуктивной системы к нересту.

Как известно, холестеринный обмен у рыб находится в тесной взаимосвязи с качеством питания (Сидоров, 1983), и его динамика в сыворотке крови в определенной степени

сопоставима с динамикой сывороточного белка (Металлов и др., 2016).

Анализ полученных данных показал, что максимальное количество холестерина в крови рыб отмечается в конце осени, во время окончания нагула. Уровень холестерина у самок несколько ниже, чем у самцов. В период формирования зрелых половых продуктов уровень холестерина постепенно снижается.

Таким образом, необходимость формирования качественной оценки функционального состояния рыб на основе тех или иных показателей заставляет осуществлять поиск границ, в рамках которых состояние организма может быть охарактеризовано как «нормальное» или «не нормальное».

В работе на основе обширного эмпирического материала, который прошел обработку с использованием ресемплинга, рассчитаны значения референсных точек, ограничивающих 80 и 90 % выборки. Открытым пока остается вопрос, можно ли использовать полученные значения референсных границ в практике аквакультуры пиленгаса, выращиваемого с применением искусственных кормов (Бугаев и др., 2019).

Важной характеристикой состояния популяции любого вида является ее способность к репродукции. Акклиматизация пиленгаса в Азово-Черноморский бассейн привела в ряду адаптационных изменений репродуктивного цикла, которые обеспечили популяции способность к самовоспроизводству. Выявлено, что в условиях Азово-Черноморского бассейна нерест пиленгаса протекает по типу однопорционности за исключением лет, характеризующихся холодной и затяжной зимой, когда отмечалась возможность двухпорционного нереста. Эта репродуктивная стратегия отличается от особенностей многопорционного нереста в условиях нативного ареала.

5.2. Физиолого-биохимическая характеристика пиленгаса при созревании гонад в различных водоемах Азово-Черноморского бассейна

У пиленгаса из современной азовской популяции был выявлен более высокий темп соматического роста и уровень накопления резервных веществ в тканях по сравнению с дальневосточным пиленгасом. Особи из ареала вселения в возрасте 5–6 лет достигали массы 3 кг, а из материнского водоема 1 кг. Концентрация сывороточных белков и липидов у азовского пиленгаса в конце осеннего нагула была на 50 % выше, чем у дальневосточного. Уровни жиронакопления в печени и мышцах азовских рыб в 1,5 раза превышали таковые у вселенцев (рис. 33). Зимовка пиленгаса в Азовском море сопровождалась незначительными тратами жировых запасов (до 20 %) в отличие от рыб из нативного ареала, где интенсивный ход пиленгаса на зимовку в опресненные зоны и реки Дальнего Востока и обратно приводит к резкому падению уровня содержания жира в мышцах более чем в 2 раза (Ложичевская и др., 2001; 2011).

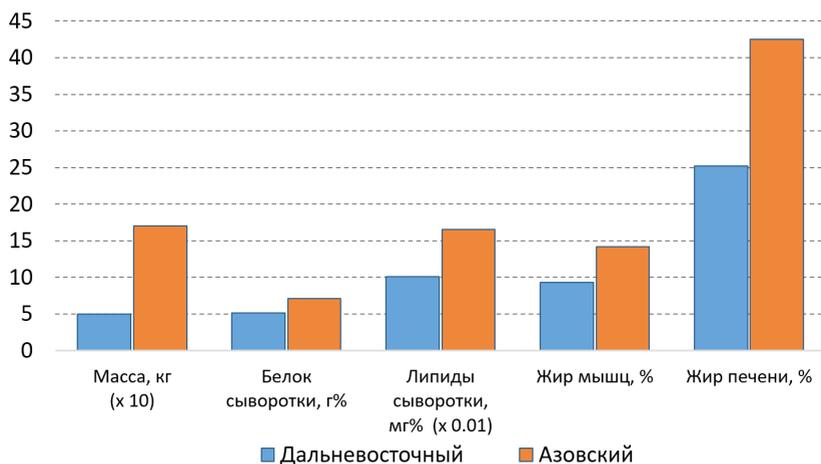


Рис. 33. Показатели физиологического состояния пиленгаса, завезенного с Дальнего Востока, и пиленгаса из Азовского моря

В предзимовальный период у пиленгаса в возрасте 5–6 лет из разных ареалов Азовского бассейна гонады были II и III стадий зрелости. В гонадах самок из нативного ареала уже на II стадии зрелости выявлялась разноразмерность ооцитов.

В гонадах азовских рыб диаметр ооцитов протоплазматического роста варьировал незначительно. Асинхронность развития и созревания ооцитов в яичниках дальневосточного пиленгаса завершается порционностью икрометания и растянутостью нереста каждой особи. При неблагоприятных условиях ооциты, отстающие в развитии, резорбируются, снижая плодовитость рыб. Самки азовского пиленгаса в начале акклиматизации характеризовались относительно синхронным ростом и созреванием ооцитов и преимущественно однопорционным икрометанием. Длительность нерестового периода пиленгаса достигалась разным сроком перехода отдельных особей в нерестовое состояние (Бугаев и др., 2003; 2004; 2019).

Интенсивный нагул и рост пиленгаса в Азовском море происходит в летний и осенний периоды. Максимальные уровни накопления резервных веществ в сыворотке крови, печени и мышцах пиленгаса, а также значительное отложение внутрисполостного жира отмечались у рыб в конце осеннего нагула. Гонады производителей перед зимовкой были преимущественно II–III стадии зрелости. Встречались единичные особи с гонадами III стадии зрелости. Годовые колебания запасов энергопластических веществ у рыб в конце нагула бывают незначительны. Однако у пиленгаса в условиях теплой осени бывают повышены концентрация общего белка на 15–25 % и жиронакопление в печени и мышцах на 15–20 % по сравнению со среднемноголетними показателями. В это время 50 % особей обоих полов имели гонады III, а остальные — II–III стадии зрелости.

В последние годы отмечена тенденция снижения жировых запасов в теле рыб. Перед зимовкой в период 2007–2015 гг. количество жира в мышечной ткани, липидов в сыворотке

крови пиленгаса было снижено на 15–18 % по сравнению с показателями восьми предыдущих лет. Концентрация белка в печени пиленгаса по годам варьировала от 9,2 до 11,4 %, в мышцах — от 12,2 до 15,9 % (табл. 9).

Таблица 9. Показатели физиологического состояния пиленгаса в конце нагула в Азовском море

Показатели/Годы	1999–2006	2007–2015
Длина, см	53±1	48±1
Масса, кг	2,7±0,2	2,1±0,2
Сыворотка крови		
Белок, г%	7,1±0,2	7,0±0,3
Липиды, мг%	1510±25	1240±33
Холестерин	590±47	520±44
Иммуноглобулины, у.е.	3,0±0,2	3,0±0,4
Печень		
Белок, %	10,3±0,3	10,8±0,6
Влага, %	63,6±1,0	65,8±1,2
Жир, %	44,2±4,0	40,6±3,9
Мышцы		
Белок, %	14,0±0,9	13,2±1,3
Влага, %	75,4±0,3	76,4±0,4
Жир, %	15,5±1,3	13,1±1,4

Гистологический анализ гонад показал, что в конце нагула у самок пиленгаса в возрасте 5–7 лет ооциты находились во второй стадии зрелости. На препаратах четко просматривалась разноразмерность ооцитов — II начальной и II поздней стадий зрелости. У самок старшего возраста 8–9 лет разноразмерность ооцитов была более выражена. В гонадах находились ооциты II, III и III–IV стадии. Иногда в гонадах встречались гонии (I стадии зрелости). У этих рыб была отмечена текущая резорбция (5–10 % созревающих ооцитов III и III–IV стадии). У 30 % старшевозрастных рыб при оптимальных уровнях резервных веществ в тканях гонад была выявлена тотальная резорбция ооцитов, свидетельствующая об угасании репродуктивной функции, что является закономерным физиологическим процессом у пиленгаса в возрасте 8–9 лет.

Анализ состояния половых желез, проводимый в 2003–2008 гг., позволил выявить увеличение диапазона асинхронности созревания ооцитов в гонадах рыб по сравнению с показателями раннего периода освоения пиленгасом Азовского бассейна.

За период зимовки степень зрелости гонад у пиленгаса практически не изменяется. В зависимости от термического режима было отмечено снижение биохимических показателей сыворотки крови на 10–30 %, мышечного белка и жира — на 8–20 %. В этот период расходуются запасы внутритропостного жира (табл. 10).

В условиях зимы с длительным ледоставом (2007–2008 гг., 2015 г.), когда была резко снижена подвижность пиленгаса и замедлены метаболические процессы в организме, амплитуда трат резервных веществ в сыворотке крови была небольшой.

Таблица 10. Показатели физиологического состояния пиленгаса в период зимовки в Азовском море

Показатели	Декабрь	Март
Длина, см	48±2	54±1
Масса, кг	2,4±0,7	3,1±0,3
Сыворотка крови		
Белок, г%	8,9±0,6	6,0±0,3
Липиды, мг%	1552±82	1358±83
Холестерин	618±52	570±55
Иммуноглобулины, у.е.	3,2±0,2	3,4±0,4
Печень		
Белок, %	9,4±0,4	10,0±0,3
Влага, %	63,0±1,0	64,8±1,3
Жир, %	46,0±2,1	44,2±3,2
Мышцы		
Белок, %	13,5±0,7	13,2±1,3
Влага, %	73,7±0,4	75,9±0,6
Жир, %	19,0±1,1	17,0±2,1

В период весеннего нагула пиленгаса в Азовском море происходит активизация метаболических процессов и интенсивное созревание рыб. Уже в апреле все самки и самцы имели гонады III стадии зрелости. Дозревание гонад и нерест рыб в мелководных, быстро прогреваемых водоемах, например, в оз. Ханское, происходило в середине мая, в Азовском море позже — в конце

мая, июне. Высокая эвригалинность пиленгаса позволила ему освоить обширный ареал с широким диапазоном солености. Часть производителей пиленгаса ежегодно мигрировала из Азовского моря через Керченский пролив на нерест в лиманы Черного моря. Весной в период созревания и нерестовой миграции у производителей пиленгаса запасы жира в мышцах

снижались на 40–50 %. Жирность печени самок весной уменьшалась вдвое, у самцов оставалась стабильной. Различный характер динамики жировых запасов в печени самок и самцов в весенний период был обусловлен более высоким накоплением жира в яичниках (до 50 %). Содержание жира в семенниках было ниже, чем у самок (14 %), а содержание влаги в гонадах самцов достигало 80 %. Гонадосоматический индекс у самцов с гонадами IV стадии зрелости был выше (12–14 %), чем у самок (9–10 %). Показатели сыворотки крови в весенний период сохранялись на достаточно высоком уровне, что обеспечивалось интенсивным питанием рыб. У зрелых самцов уровень биохимических компонентов сыворотки крови, в т.ч. и иммуноглобулинов, одного из факторов гуморального иммунитета, были несколько снижены по сравнению с показателями самок. Средние показатели физиологического состояния самок и самцов пиленгаса в период нерестовых миграций в Азовском море представлены в *табл. 11*.

Таблица 11. Показатели физиологического состояния самок и самцов пиленгаса в Азовском море в весенний период в 2006 и 2015 гг.

Показатели	Самки		Самцы	
	2006	2015	2006	2015
Длина, см	46	50	49	45,5
Масса, кг	1,8	2,1	1,7	1,7
Сыворотка крови				
Белок, г%	6,7	5,6	6,1	5,8
Холестерин	560	391	533	574
Гонады				
Белок, %	20,3	28,6	7,2	10,1
Жир, %	49,1	54,5	14,1	15,3
Печень				
Белок, %	11,8	15,3	12,0	16,7
Жир, %	20,6	25,7	44,0	52,5
Мышцы				
Белок, %	12,1	28,6	10,9	30,1
Жир, %	9,5	7,4	10,2	15,3

Нами был проведен сравнительный анализ физиологического состояния пиленгаса, нерестящегося, возможно, в Азовском море (отловлен в центральном и западном районах), и пиленгаса, мигрирующего на нерест в Черное море (отловлен в Керченском проливе). В уловах в период исследования преобладали самки с гонадами IV стадии зрелости,

единично встречались текущие особи V стадии зрелости. У самок пиленгаса с гонадами IV стадии зрелости в Керченском проливе был выявлен повышенный уровень биохимических показателей сыворотки крови на 33–48 % по сравнению с параметрами самок из Азовского моря. Повидимому, особи с гонадами IV стадии зрелости в Керченском проливе совершают более длительные и дальние нерестовые миграции в Черное море, чем особи, нерестящиеся в Азовском море, что требует повышенного расхода резервных веществ сыворотки крови. Биохимические показатели сыворотки крови у самок с текущими половыми продуктами (V стадия зрелости) в Керченском проливе были значительно ниже по сравнению с таковыми значениями самок с гонадами IV стадии зрелости. Содержание энергопластических веществ в печени и мышцах пиленгаса в сравниваемых группах рыб с гонадами IV стадии зрелости практически не отличалось (*табл. 12*).

Следует подчеркнуть, что высокая эвригалинность, адаптационная пластичность, увеличение численности пиленгаса способствовали освоению этим видом новых ареалов с большим диапазоном солености, границы которого постоянно расширялись. Возросло значение в нагуле и размножении пиленгаса прибрежных районов восточной части Азовского моря и прилегающих водоемов с относительно низкой соленостью, например, Бейсугского лимана.

Сравнение физиолого-биохимических показателей пиленгаса, отловленного в III декаде мая 2008 и в 2002–2006 гг. в Бейсугском лимане и Керченском проливе (район мыса Тузла) во время миграции из Азовского моря в Черное море, показало некоторые различия между исследованными выборками. Производители пиленгаса, мигрирующие через Керченский пролив, были разнокачественными. Степень зрелости гонад варьировала от III до V, что приводило к удлинению сроков нереста популяции пиленгаса.

Структура и биохимический состав гонад у большинства рыб диагностировали их нормальное развитие. Содержание белка в сыворотке крови пиленгаса, отловленного в Керченском проливе, было повышено на 15 % по сравнению с содержанием в сыворотке крови рыб в аналогичные периоды прошлых лет (2002–2006 гг.). Количество сывороточного белка изменялось в широком диапазоне — от 3,5 до 10,6 (среднее значение 7,0 г%). Это обусловлено недоиспользованием белковых ресурсов у незрелых производителей. Количество рыб со сниженной концентрацией иммуноглобулинов (1,0 у.е.) составило всего 10 %. Однако в 2008 г. у мигрантов был отмечен более низкий уровень сывороточного холестерина (378 мг%), являющегося предшественником не только половых гормонов, но и кортикостероидов, обеспечивающих адаптацию организма к изменяющимся условиям среды обитания. Средние уровни резервных веществ в мышцах пиленгаса, мигрирующего через Керченский пролив, в 2008 г. не отличались от показателей 2002–2006 гг. (рис. 34).

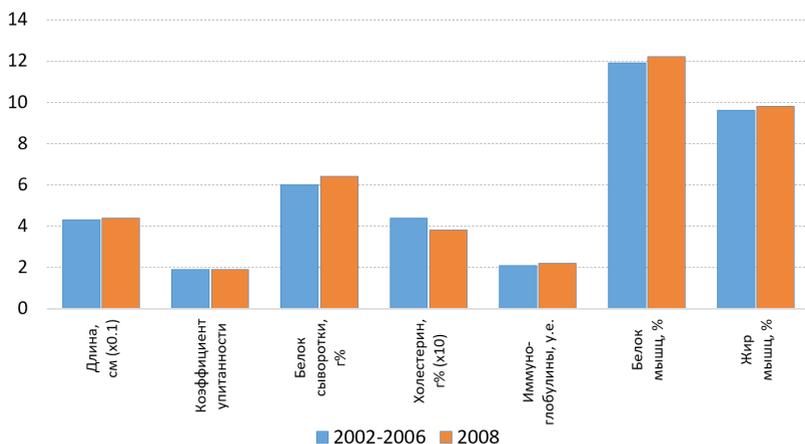


Рис. 34. Показатели физиологического состояния производителей пиленгаса в Керченском проливе

Таблица 12. Показатели физиологического состояния самок пиленгаса в июне в Азовском море и Керченском проливе (2007–2008 гг.)

Показатели	Азовское море		Керченский пролив	
Стадия зрелости гонад	IV		IV	V
Длина, см	54±2		49±2	49±3
Масса, кг	3,6±0,2		2,4±0,2	2,5±0,3
Сыворотка крови				
Белок, г%	4,7±0,3		7,0±0,4	5,0±0,6
Липиды, мг%	1188±36		1455±40	1060±50
Холестерин	460±29		640±35	552±38
Иммуноглобулины, у.е.	2,4		3,2	1,4
Гонады				
Белок, %	19,1		18,3	6,1
Влага, %	50,0		50,3	78,5
Жир, %	50,6		49,2	51,7
Печень				
Белок, %	9,5		10,3	10,3
Влага, %	73,2		71,7	73,0
Жир, %	28,4		27,3	30,5
Мышцы				
Белок, %	10,2		11,5	10,5
Влага, %	78,1		76,5	77,3
Жир, %	11,0		10,1	9,1

У производителей пиленгаса из Бейсугского лимана (Азовское море) концентрация белка в сыворотке крови составляла 5,3 г%, холестерина — 390 мг%, иммуноглобулинов — 2,2 у.е. Содержание белка в печени достигало 15 %, в мышцах — 16,2 %. Эти данные характеризуют достаточно высокий уровень нагула нерестового стада пиленгаса, отловленного в Бейсугском лимане. Однако

у 20 % производителей были выявлены критически низкие показатели иммуноглобулинов (0,5–1,0 у.е.), обеспечивающих защитные реакции организма. Гонады самок и самцов пиленгаса были преимущественно IV стадии зрелости. Самки пиленгаса из Бейсугского лимана характеризовались наибольшей подготовленностью к нересту. Они имели максимальный гонадосоматический индекс (15,2 %) по сравнению с индексом у самок из Керченского пролива (12,5 %) и оптимальное содержание белка в икре (21,4 %).

В гонадах зрелых самок из Бейсугского лимана ооциты IV стадии зрелости имели равномерные оболочки, ядра смещались к периферии яйцеклеток, ядрышки приближались к центру. Одновременно в гонадах развивались ооциты следующей генерации (II стадия зрелости), которые созревают на следующий год. У 13 % самок в возрасте 5–6 лет гонадосоматический индекс составлял всего 1,7 %. Ооциты были I и II стадий зрелости, патологии в развитии ооцитов не отмечено. Содержание биохимических показателей крови были снижены в среднем на 30 %, содержание жира в мышцах — почти в 3 раза по сравнению с показателями зрелых рыб (*рис. 35*). Эти показатели свидетельствовали о задержке созревания или о пропуске нереста у части рыб репродуктивного возраста с низкими запасами резервных веществ в тканях. В гонадах зрелых самцов также были отмечены две волны созревания половых клеток. Зрелые сперматоциты находились в центре ампул, кровеносные сосуды расширены. У некоторых самцов на периферии семенника были отмечены пустые ампулы, свидетельствующие о переходе пиленгаса в текучее состояние. Структурные нарушения в гонадах рыб не выявлялись. Гонадосоматический индекс у самцов пиленгаса из Бейсугского лимана, также как у производителей из Керченского пролива, был одинаков — 12,5 %.

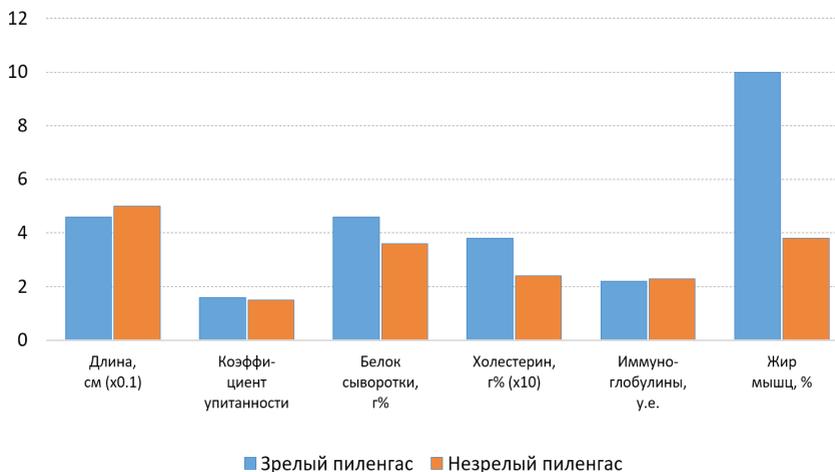


Рис. 35. Показатели физиологического состояния пиленгаса в Бейсугском лимане с различной стадией зрелости гонад (2008 г.)

Важным показателем обмена является содержание каротиноидов. Каротиноиды характеризуются высокой полифункциональностью: участвуют в процессах размножения, дыхания и окислительном метаболизме клеток, тесно связанном с липидным и жирнокислотным обменом, обеспечивают организм рыб витамином А, обладают антиоксидантными свойствами и способны ингибировать процессы перекисного окисления липидов (Nakano et al., 1995; 1999). Сравнительный анализ уровня жирорастворимых антиоксидантов у мигрантов пиленгаса из Керченского пролива показал статистически достоверное превышение концентрации каротиноидов в печени и гонадах самок пиленгаса по сравнению с показателями рыб, выловленных в северо-восточной части Азовского моря. В гонадах самок из Керченского пролива было отмечено превышение удельного содержания каротиноидов на 33 % по сравнению со среднемноголетними значениями, что обеспечивало самкам из

Керченского залива повышенный репродуктивный потенциал. Вместе с тем, у самцов из Керченского залива было отмечено статистически значимое снижение уровня каротиноидов в печени и в гонадах по сравнению со среднеголетними показателями и значениями у рыб из Азовского моря (табл. 13).

Таблица 13. Удельное содержание каротиноидов в печени и гонадах производителей пиленгаса из Азово-Черноморского бассейна в мае

Показатели	Средне-многолетние показатели		Азовское море		Керченский пролив	
	1999–2012 гг.		2008 г.		2008 г.	
	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы
Содержание каротиноидов в печени, мкг/г	12,5	12,1	10,5	10,3	14,1*	5,8**
Содержание каротиноидов в гонадах, мкг/г	21,0	5,8	15,4	1,4	27,9*	0,9**

*Примечания: *Статистически достоверное увеличение показателя по сравнению с рыбами из Азовского моря ($p \leq 0,05$); **Статистически достоверное снижение показателя по сравнению с рыбами из Азовского моря ($p \leq 0,05$)*

Снижение уровня каротиноидов у производителей пиленгаса делает их уязвимыми к воздействию антропогенных факторов среды обитания, снижая их репродуктивный потенциал. В исследованиях на других рыбах было предложено использовать уровень каротиноидов в печени и гонадах рыб как биомаркер репродуктивной устойчивости рыб в условиях антропогенного загрязнения (Цема, Дудкин, 2009).

По-видимому, приспособленность пиленгаса к питанию детритом, содержащим ксенобиотики микробиального или

антропогенного происхождения, сопровождается присущей виду высокой детоксикационной активностью, позволяющей ему снизить влияние токсичности среды обитания. Детрит в пищевом коме у пиленгаса в кубанских лиманах составляет 68–74 %, что позволяет получать среднегодовой прирост массы рыбы 420–1460 г (Василенко и др., 1996; Порошина, Попова, 2014). Существование пиленгаса в условиях эвтрофного Азовского моря поддерживается значительным количеством важных прорепродукторов, таких как токоферол и каротиноиды, которые находятся в составе детрита. Таким образом, метаболические особенности пиленгаса определяют стабильную репродукцию в современных экотоксикологических условиях (Дудкин и др., 2000).

Нереализованные высокие потенциальные возможности нагула некоторых особей пиленгаса диагностируют патологические изменения в обменных процессах, обусловленные, по-видимому, негативным воздействием среды обитания. Ежегодно у 10–20 % самок пиленгаса в Азовском и Черном морях выявляется частичная резорбция зрелых ооцитов в ястыке. В структуре остальных зрелых ооцитов следующей генерации (II и III стадий зрелости) патологий не отмечалось. Возраст, коэффициент упитанности у самок с частичной резорбцией ооцитов не отличались от этих параметров рыб с нормальным развитием икры. Гонадосоматический индекс у рыб с патологией гонад был повышен на 27 %. Уровни резервных веществ в тканях резорбирующих самок были существенно снижены. Особенно резко снижены показатели содержания холестерина в сыворотке крови и жира в печени, мышцах. У рыб с патологией гонад также было снижено содержание каротиноидов в печени (*табл. 14*).

Таблица 14. Показатели физиологического состояния самок пиленгаса в Азовском и Черном морях с нормальным развитием икры и с частичной резорбцией

Показатели	Нормальное развитие икры	Частичная резорбция икры	% отклонения от «нормы»
Возраст, лет	3,6	4,0	–
Коэффициент упитанности	1,54	1,58	–
Гонадосоматический индекс	12,5	15,9	+27
Белок, г%	6,27	4,41	-30
Липиды, мг%	969	713	-26
Холестерин, мг%	510	275	-46
Иммуноглобулины, у.е.	2,73	1,70	-38
Жир печени, %	39,2	15,6	-60
Жир мышц, %	10,4	6,5	-37
Содержание каротиноидов в печени, мкг/г	11,2	5,1	-46
Количество рыб, %	80	20	–

Таким образом, частичная резорбция икры обусловлена недостаточной степенью нагула рыб с высокой исходной плодовитостью. Это является приспособительной реакцией самок пиленгаса для обеспечения нормального развития остальной икры. Снижение в 2 раза уровня каротиноидов в печени рыб с резорбцией гонад по сравнению с показателями нормально созревающих самок (табл. 14) диагностирует их реакцию на токсическое воздействие среды обитания (Ложичевская и др., 2011).

5.3. Морфофизиологическая характеристика печени и селезенки пиленгаса

5.3.1 Печень

Барьерная функция печени заключается в детоксикации продуктов обмена и инактивации чужеродных веществ в организме рыб. Влияние токсикантов, адсорбированных в печени, приводит не только к изменению ее функциональной активности, но и к нарушениям морфологической структуры.

Печень пиленгаса представляет собой компактный орган, оболочка которого состоит из плотных ретикулярных клеток. Клетки паренхимы полигональные с гетерохромными ядрами, которые содержат 2–6 ядрышек. Цитоплазма в основном зернистая, сосуды кровенаполненные. Регулярный контроль за морфофункциональным состоянием печени пиленгаса показал, что в печени единичных особей отмечались патологические изменения, не наблюдаемые в начале акклиматизации. Степень их и количество рыб с дефектной структурой постепенно увеличивались. Динамика морфопатологических изменений в печени может служить критерием оценки влияния среды обитания и качества корма на популяцию пиленгаса в предшествующий период. Пиленгас, питаясь детритом и бентосными организмами, испытывает негативное воздействие токсических веществ, накопившихся в корме из придонного слоя.

В начале акклиматизации у части популяции пиленгаса, отловленного в море в середине июня обнаружены изменения в органах кроветворения отдельных рыб, связанные с локальным расстройством в них кровообращения. Подобные изменения характерны для начальных этапов токсикоза (Корниенко и др., 1998). На гистологических срезах печени присутствовали расширенные и наполненные кровью венозные капилляры, эритроциты, заполняющие капилля-

ры были с измененной формой и пикнотическими ядрами. В отдельных капиллярах наблюдались только клетки белой крови. В паренхиме печени отмечены инфильтрированные кровоизлияния, периваскулярные инфильтраты и глыбки цероида, иногда образующего большие скопления. Вся паренхима была представлена гомогенной массой, в которой в увеличенном объеме расположены слабо окрашенные ядра без ядрышек, цитоплазма гепатоцитов вакуолизована.

В разных районах Азовского бассейна встречалось от 37 до 70 % особей пиленгаса, у которых структура печени была без изменений или с незначительными морфологическими изменениями адаптационного характера. У остальных рыб, преимущественно самцов, были отмечены признаки предпатологии или патологии, проявляющиеся в расстройстве микроциркуляции, утолщении стенок сосудов, образовании инфильтратов, вакуолизации цитоплазмы, смещении ядер к периферии гепатоцитов и другие. В целом, гистологическая структура печени у зрелых самок без изменений, что, по-видимому, обусловлено значительным использованием жировых запасов печени в период формирования яйцеклеток. В дальнейшем происходит ежегодный сброс токсических веществ с икрой во время нереста. Это приводит к частичному очищению печени самок от жирорастворимых токсикантов и улучшению ее функционального состояния. Нами были классифицированы изменения морфологической структуры печени от нормы до значительной степени патологии и составлена пятибалльная шкала оценки проявления патологии (*табл. 15*). В основу положена система оценки, предложенная И.О. Земковым (2003) для осетровых рыб, которая была дополнена и откорректирована с учетом морфологических нарушений в печени пиленгаса в современный период.

Таблица 15. Морфологические изменения в печени и селезенке пиленгаса

Степень патологии, баллы	Печень	Селезенка
5	Дискомплексація печеночних балок. Обширные инфильтраты. Фибриноидное набухание	Границы между красной и белой пульпы нет. Инфильтраты вокруг сосудов. Деструкция коллагена. Некроз реактивных центров
4	Крупновокуолизованные гепатоциты. Инфильтраты вокруг сосудов и портальных трактов. Полнокровие. Стаз	Селезенка плотной консистенции. Сосуды кровенаполненные, их стенки утолщены. Пигмента мало. Преобладает белая пульпа.
3	Вакуольная дистрофия гепатоцитов. Периваскулярные и перипортальные инфильтраты. Утолщение стенок сосудов	Селезенка рыхлая. Четкая граница между красной и белой пульпой. Пигмент. Стенки сосудов утолщены, пигментированы
2	Мелковокуолизованные гепатоциты. Пигмент. Сосуды без изменений	Селезенка плотная. Сосуды без изменений. Пигмент
1	Отсутствие изменений	Отсутствие изменений

В последние годы частота встречаемости пиленгаса с морфопатологией в печени стабилизировалась и отмечена зависимость степени патологии печени от районов вылова рыб (табл. 16).

Морфофункциональное состояние печени пиленгаса в нагульный и преднерестовый периоды в Ясенском заливе и Бейсугском лимане было относительно благополучным. Количество рыб с нормальной структурой или адаптационными изменениями в печени варьировало от 60 до 77 % (в 2008 г. 73 %). Лишь у 2 % рыб были выявлены патологические изменения в этом органе. У остальных рыб изменения носили предпатологический характер. Аналогичные данные были получены при анализе пиленгаса, отловленного в Черном море на КНП «Лазарь».

ревское» (2006 г.). Максимальное количество рыб с морфопатологией печени было выявлено во время осеннего нагула в Темрюкском заливе и Керченском проливе, которые характеризовались значительным уровнем комплексного загрязнения. Особи с нормальной структурой печени в этом районе не встречались.

Таблица 16. Соотношение рыб с разной стадией патологии печени и селезенки в разных районах лова в 2005–2007 и 2008 гг., %

Степень патологии, баллы	Годы	Ясенский залив, Бейсугский лиман	Азовское море	Темрюкский залив	Керченский пролив	КНП Лазаревское (Черное море)
1	2005–2007	21	20	0	11	10
	2008	20	0	0	10	–
2	2005–2007	49	37	37	55	50
	2008	53	25	75	50	–
3	2005–2007	38	23	38	29	35
	2008	27	75	25	40	–
4	2005–2007	2	20	25	3	5
	2008	0	0	0	0	–
5	2005–2007	0	0	0	2	–
	2008	0	0	0	0	–

Нормальное строение и виды нарушений структуры печени проиллюстрированы photographиями (рис. 36–49).

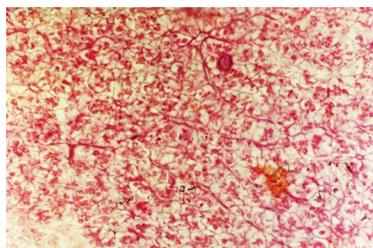


Рис. 36. Печень тиленгаса.
Норма. Ув. $10 \times 20 \times$

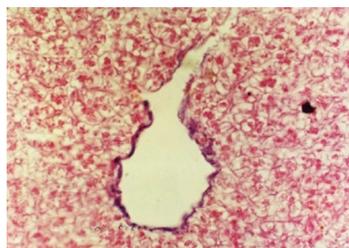


Рис. 37. Печень тиленгаса.
Утолщение стенок сосудов.
Вакуолизация гепатоцитов. Пред-
патология 3 балла. Ув. $10 \times 20 \times$

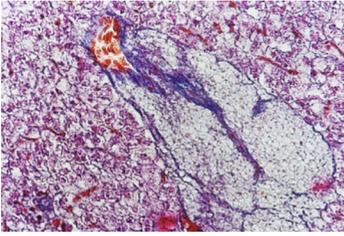


Рис. 38. Гидропическая дистрофия печени. Скопление липофусцина. Утолщение стенок сосудов. Границы гепатоцитов явно выражены, ядра клеток расположены в центре. Полнокровие. Патология 4 балла. Ув. $10\times 20\times$

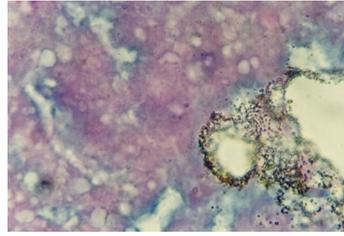


Рис. 39. Десквамация паренхимы печени тиленгаса. Обширные инфильтраты. Ув. $10\times 20\times$

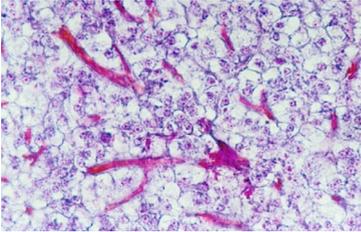


Рис. 40. Диффузная гиперемия. Жировая дистрофия печени тиленгаса. Межбалочные капилляры расширены и заполнены кровью. Ув. $10\times 20\times$

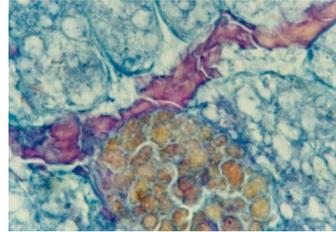


Рис. 41. Мелкоклеточная вакуолизация гепатоцитов тиленгаса. Скопление липофусцина. Ув. $10\times 20\times$

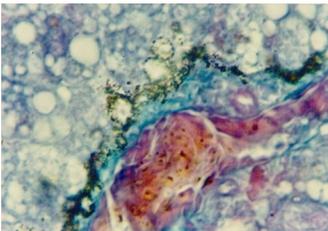


Рис. 42. Вытеснение пигментных зерен за пределы сосуда печени тиленгаса. Ув. $10\times 20\times$

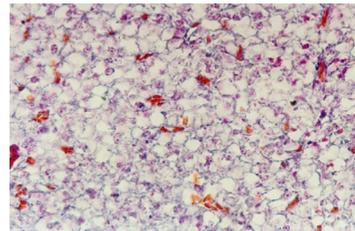


Рис. 43. Жировая дистрофия печени тиленгаса. Локальная гиперемия. Некроз. Ув. $10\times 20\times$

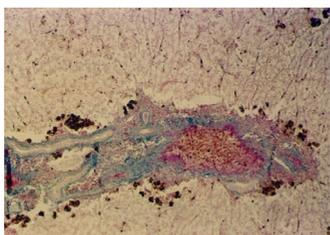


Рис. 44. Диффузная гиперемия. Жировая дистрофия печени тилангаса. Межбалочные капилляры расширены и заполнены кровью. Ув. $10 \times 20 \times$

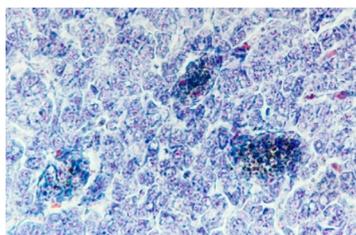


Рис. 45. Меланофаги в сосудах и паренхиме печени тилангаса. Ув. $10 \times 10 \times$

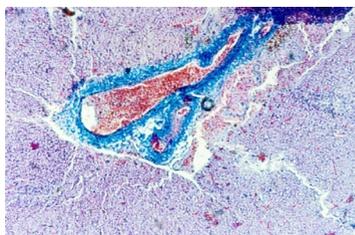


Рис. 46. Деструкция коллагена, инфильтраты вокруг сосудов печени тилангаса. Ув. $10 \times 10 \times$

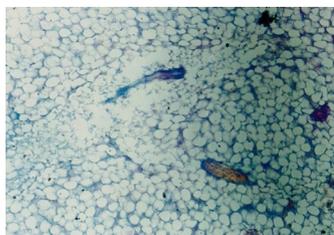


Рис. 47. Жировая дистрофия печени тилангаса переходит в гидротическую. Ув. $10 \times 10 \times$

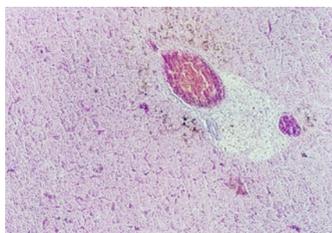


Рис. 48. Гидротическая дистрофия печени тилангаса. Ув. $10 \times 10 \times$

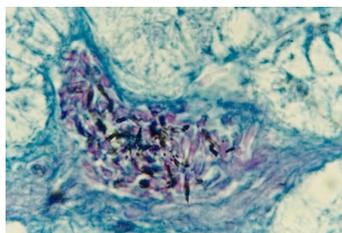


Рис. 49. Деструкция стенок сосуда, пигмент в ткани печени. Ув. $10 \times 10 \times$

5.3.1 Селезенка

Селезенка рыб участвует в кроветворении, иммунной защите гуморального типа и характеризует реакцию рыб на

эндогенные (зараженность паразитами) и экзогенные негативные факторы. В селезенке пиленгаса также были обнаружены патологические изменения разной степени: усиление кровотока, пролиферация эпителиальной ткани и другие.

У некоторых особей пиленгаса отмечено синхронное развитие нарушений в печени и селезенке, однако у большинства рыб степень патологии в этих органах различна. Изменения морфологических показателей в печени и селезенке пиленгаса из различных районов Азово-Черноморского бассейна, оцененные по пятибалльной шкале, представлены в *табл. 15*.

Срезы селезенки показали полнокровие красной пульпы, кровеносные сосуды были заполнены агглютинированными эритроцитами. На начальных этапах токсикоза по периферии органов появляются точечные, очаговые участки фиброзного перерождения в виде мелкоклеточных тяжей, при этом вокруг их конечных участков наблюдаются многочисленные скопления светлых крупных клеток (от 10 до 17 мкм). При хроническом воздействии на орган формируются бесструктурные коллагеновые, слабобазофильные ткани с зоной лизиса под ними. Кровеносная система в местах поражения остаются без изменений, кровоснабжение ткани печени сохраняется при полном исключении на этом участке функционального действия печени. На завершающем этапе фиброза орган практически покрыт бесструктурным слабобазофильным слоем клеток со светлыми ядрами. Изучение последовательных этапов развивающегося процесса интоксикации позволяет оценить особенности патогенеза и дает возможность классифицировать параметры интоксикации и районировать ее проявления.

Изменения в тканях кроветворных органов развивались в течение нескольких лет и связаны, возможно, с жизнью в воде с пониженной соленостью, загрязнением водоема различными поллютантами, а также с особенностями спектра питания пиленгаса.

В 2007 г. стадия предпатологии была выявлена у 50 % рыб. Весной 2008 г. у всех рыб, обследованных в Бейсугском лимане, в селезенке обнаружена разная степень зараженности микроспоридиями. Морфологическая структура селезенки у 40 % производителей находилась в стадии адаптации, у 60 % — предпатологии.

В 2008 г. у производителей пиленгаса, отловленного в Керченском проливе, морфологические изменения структуры селезенки были более выражены, чем у рыб из Бейсугского лимана. У 90 % рыб селезенка находилась в стадии предпатологии, у 10 % — патологии, что снижает активность кроветворения и защитных функций этого органа и является биоиндикатором воздействия негативных факторов на организм рыб.

Нормальное строение и виды нарушений структуры селезенки проиллюстрированы фотографиями (рис. 50, 51).

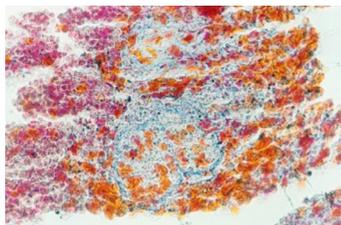


Рис. 50. Селезенка пиленгаса.
Норма. Ув. 10× 20×

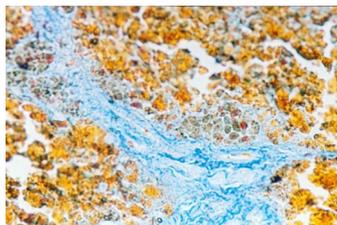


Рис. 51. Селезенка пиленгаса.
Деструкция коллагена. Границы между красной и белой пульпой нет.
Инфильтраты вокруг сосудов.
Ув. 10× 20×

5.4 Гематологические показатели пиленгаса

Экологическая пластичность дальневосточной кефали-пиленгаса позволила успешно акклиматизировать ее в Азовском море (Житенева и др., 1989). В 1985 г. в первой декаде октября с целью исследования общего состояния организма рыб производился прижизненный забор крови у 10 производителей пиленгаса в возрасте 4+.

В начале акклиматизации пиленгаса содержание гемоглобина в среднем составляло 7,9 г%. Красная кровь была представлена в основном ортохромными эритроцитами. Интенсивность эритропоэза была 4,6 %. Основную массу молодых форм представляли полихроматофильные эритроциты. Состояние клеток красной крови периферического русла характеризовалось незначительным полиморфизмом ядер эритроцитов. Наблюдалась редкие amitotически делящиеся ядра эритроцитов. Были отмечены единичные случаи патологического деления и уменьшения размеров полиморфоядерных клеток белой крови до 7–9 мкм при норме 9–10 мкм (Житенева и др., 1997); эозинофилов до 7–9 мкм (норма 10–13). Количество фагоцитирующих клеток не превышало норму. Формула белой крови была следующей: лимфоциты — 86,9 %, моноциты — 0,3, нейтрофилы палочкоядерные — 7,9, нейтрофилы сегментоядерные — 3,7, эозинофилы — 1,3 % (табл. 17).

Таблица 17. Показатели крови пиленгаса (4+) в начале акклиматизации в Азовском море

Показатели	Значения
Гемоглобин, г%	7,9
Гематокрит, %	41,6
Интенсивность эритропоэза, %	4,6
Белая кровь, %	
лимфоциты	86,9
моноциты	0,3
Нейтрофилы, %	
палочкоядерные	7,9
сегментоядерные	3,7
эозинофилы	1,3

Описанные характеристики красной крови говорят об отсутствии признаков гипоксии, связанной с повышенным температурным фоном в летний период, о нормальном функционировании кроветворной системы, хотя и работающей с несколько повышенным напряжением. Показатели белой крови указывают на высокий иммунный статус рыб, отсутствие

инфекционных заболеваний или аллергических реакций.

В начале акклиматизации на мазках крови пиленгаса были обнаружены овальные тромбоциты с рыхлыми ядрами, кото-

рые располагались группами от 5 до 20 шт. У них отмечен высокий эритропоз (до 12 %), при этом на мазках выявлялись эритробласты, процент базофильных и полихроматофильных нормобластов был увеличен, дефинитивные эритроциты с базофильной цитоплазмой. Наблюдались значительный анизопойкилоцитоз клеток красной крови и увеличение полиморфизм ядер. Часто встречались амитотические деления, причем все случаи амитозов являлись патологическими. Встречались и безъядерные эритроциты, а у 12 % клеток эритропоэтического ряда ядра были смещены, отмечено большое количество ядерных теней и «монетных столбиков». Процент лимфоцитов снизился с 80 до 68 %. В периферической крови исчезли эозинофилы. Индекс сдвига лейкоцитов повысился с 0,2 до 0,4. Последнее свидетельствует о развитии воспалительных процессов. Увеличение процента моноцитов с 3,0 до 5,0–10,0 % указывает на хроническое заболевание, а усиление интенсивности эритропоза свидетельствует о развитии анемии.

Следует отметить, что увеличение эритроцитов в крови при появлении гипохромазии, частые случаи амитотического деления и появление в кровотоке безъядерных клеток красной крови можно рассматривать как варианты приспособительных реакций организма, обеспечивающих выживание пиленгаса в новых экологических условиях обитания.

Учитывая высокую миграционную активность и адапционную пластичность пиленгаса, для определения локального воздействия токсикантов были использованы высокочувствительные лабильные гематологические показатели. Ежегодные исследования крови пиленгаса выявили количественные и качественные изменения гематологических показателей, которые варьируют по годам и районам вылова.

Показатели крови пиленгаса близки к норме, но у отдельных особей выявлены патологические изменения в крови, как в физиологическом (увеличение числа эозинофилов), так и в морфологическом аспекте.

Наиболее показательным оказался морфологический метод оценки лейкоцитов. Так, установленное увеличение молодых форм нейтрофилов и эозинофилов позволяет судить о воспалительном процессе в организме рыб (табл. 18).

Таблица 18. Показатели крови пиленгаса в 2001 г.

Показатели	Индекс сдвига лейкоцитов	Лимфоциты	Моноциты	Нейтрофилы	Эозинофилы	Интенсивность эритропоэза
Среднее	0,27	77,6	1,0	4,3	16,8	0
Значения нормы	0,12–0,25	70–90	0–3	7–9	3–7	–

Значительная патология клеток крови пиленгаса была отмечена в период нерестовой миграции 2004 г. (конец мая) в Керченском проливе. Средний индекс сдвига лейкоцитов был увеличен до 0,37 (норма 0,12–0,24). У некоторых особей количество лимфоцитов было снижено до 30 % (норма 70–90 %). У 30 % производителей отмечалась патологическая зернистость цитоплазмы лимфоцитов, а количество юных форм нейтрофилов было увеличено до 7,4 %, что свидетельствовало о развитии воспалительных реакций в организме рыб. Повышение интенсивности эритропоэза до 7–12 % отражает процесс наращивания молодых форм эритроцитов, компенсирующий анемию, проявляющуюся в гипохромазии и вакуолизации цитоплазмы эритроцитов. У единичных экземпляров пиленгаса выявлено нарушение осмотической резистентности и даже кариорексис в клетках красной крови. У всех обследованных рыб была отмечена агглютинация эритроцитов. Патология клеток белой и красной крови коррелировала с уменьшением уровня сывороточных иммуноглобулинов. Такие изменения комплекса параметров крови диагностировали снижение защитных функций и развитие токсикоза у пиленгаса, отловленного в преднерестовый период 2004 г. в Керченском проливе.

Лабильность исследуемых параметров свидетельствовала о влиянии негативных факторов среды на пиленгаса в Керченском проливе или в предпроливной зоне Азовского моря.

В мае 2006 г. в Ясенском заливе были выявлены изменения в лейкоцитарной формуле в сторону снижения количества лимфоцитов и увеличения юных форм нейтрофилов. Индекс сдвига лейкоцитов у 35 % рыб был в два раза выше нормы. У этих же рыб были отмечены нарушения в эритроцитах, которые проявлялись в образовании «монетных столбиков», гипохромазии, вакуолизации цитоплазмы, гемолизе, образовании микроядер. Патоморфология эритроцитов вызывала интенсификацию эритропоза до 7 %, что свидетельствует об обратимости реакции. Средние уровни гематологических показателей самок и самцов пиленгаса представлены в *табл. 19*.

Существенные изменения в крови пиленгаса были установлены в конце осеннего нагула 2006 г. в Темрюкском заливе, когда патологические изменения были выявлены в ядрах эритроцитов. У всех обследованных рыб была отмечена разная частота встречаемости эритроцитов с полиморфизмом ядер.

Таблица 19. Гематологические показатели пиленгаса в преднерестовый период 2006 г., Ясенский залив Азовского моря

Показатели	Индекс эритропоза	Индекс сдвига лейкоцитов	Лимфоциты	Моноциты	Нейтрофилы	
					п/я	с/я
Самки						
Среднее	6	0,3	82	1	11	6
Самцы						
Среднее	8	0,4	62	1	14	12
Значения нормы	0	0,2–0,24	70–90	0–3	6–23	4–9

У большинства особей были выявлены нарушения осмотической резистентности эритроцитов, что приводит к снижению содержания гемоглобина. У единичных особей отме-

чалась гипохромазия, вакуолизация и отслоение цитоплазмы, тотальный лизис стромы эритроцитов. В лейкоцитах также выявлено отслоение оболочек. В лейкоцитарной формуле были отмечены изменения процентного соотношения разных форм клеток. Полученные данные отражают реакцию рыб на неблагоприятные факторы среды обитания.

Гематологический анализ производителей пиленгаса, отловленных в Бейсугском лимане в III декаде мая 2008 г., выявил изменение соотношения клеток крови в лейкоцитарной формуле у 30 % рыб. У этих рыб количество лимфоцитов было снижено до 43–60 % при норме 70–90 %. Количество нейтрофилов и моноцитов увеличено в 2 раза. Это привело к увеличению индекса сдвига лейкоцитов в среднем до 0,33 при среднемноголетнем показателе 0,27 у.е. В эритроцитах производителей были выявлены гипохромазия и вакуолизация цитоплазмы, диагностирующие развитие анемии. У большинства рыб отмечено нарушение осмотической резистентности эритроцитов, отдельные клетки гемолизированы. У 40 % производителей интенсивность эритропоэза была очень высокая (10–30 %), что свидетельствовало об увеличении количества молодых форм эритроцитов, компенсирующих анемию. В периферическом русле крови также, как и в селезенке, была обнаружена разная степень зараженности микроспоридиями. Выявленные изменения гематологических параметров, по-видимому, являются адаптационной реакцией рыб на негативное воздействие, в частности, на массовую зараженность микроорганизмами.

В лейкоцитарной формуле у большинства рыб, отловленных в Керченском проливе после катастрофы 2008 г., наблюдались различные изменения. У 20 % рыб были отмечены незначительные отклонения от нормы доли лимфоцитов в сторону уменьшения или увеличения. У 10 % рыб было выявлено увеличение относительного количества нейтрофилов в 1,5 раза и моноцитов в 2 раза. У всех рыб лимфоциты были разных разме-

ров, активированы, с многочисленными выростами цитоплазмы, что указывало на усиление фагоцитарной функции крови. Аналогичное явление наблюдали у производителей пиленгаса осенью 2007 г. в Ейском лимане. Патологические изменения в эритроцитах пиленгаса проявлялись в их бледной окраске, свидетельствующей об анемии. У 10–20 % рыб была отмечена вакуолизация цитоплазмы и адгезия эритроцитов. Эффект образования «монетных столбиков» косвенно свидетельствует об увеличении скорости оседания эритроцитов, происходящем в результате аутоиммунизации рыб эритроцитами, которые стимулируют образование аутогемагглютиноидов.

Норма и патология клеток крови представлены на фотографиях (рис. 52–60).

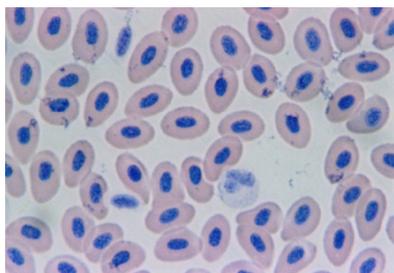


Рис. 52. Кровь пиленгаса. Норма.
Ув. $25 \times 100 \times$

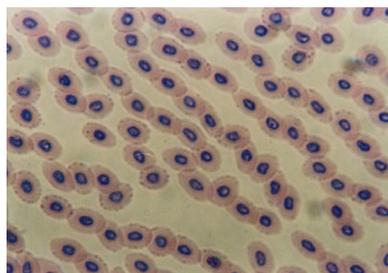


Рис. 53. Кровь пиленгаса. Монетные столбики, адгезия эритроцитов.
Ув. $25 \times 100 \times$

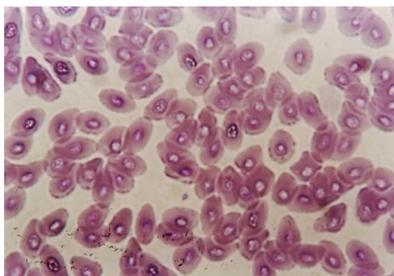
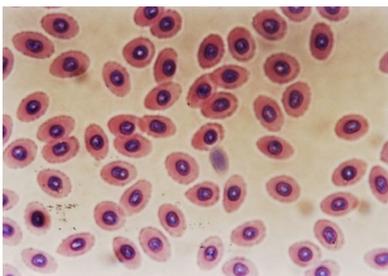
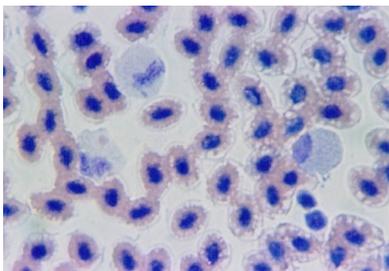
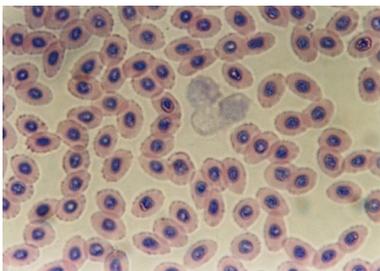


Рис. 54. Кровь пиленгаса. Вакуолизация ядер эритроцитов. Ув. $25 \times 100 \times$

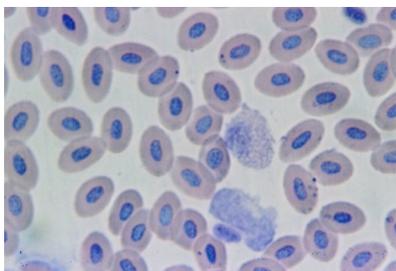




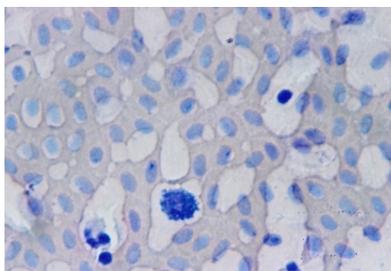
*Рис. 55. Кровь пиленгаса.
Нарушение осмотической
резистентности.
Ув. $25 \times 100 \times$*



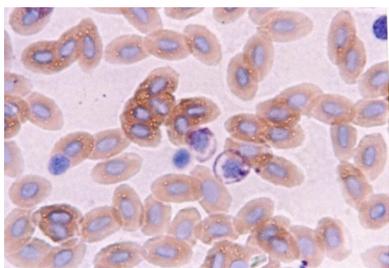
*Рис. 56. Кровь пиленгаса.
Нарушение осмотической
резистентности, вакуолизация
нейтрофилов. Ув. $25 \times 100 \times$*



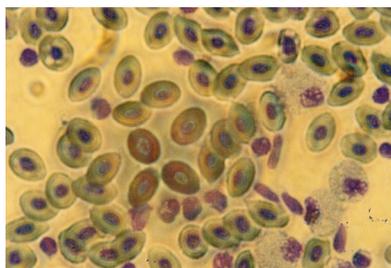
*Рис. 57. Кровь пиленгаса.
Увеличение размеров тромбоцитов,
вакуолизация цитоплазмы нейтро-
филов. Ув. $25 \times 100 \times$*



*Рис. 58. Кровь пиленгаса.
Лизис стромы эритроцитов.
Строматоллиз. Ув. $25 \times 100 \times$*



*Рис. 59. Кровь пиленгаса.
Круглые тромбоциты.
Ув. $25 \times 100 \times$*



*Рис. 60. Кровь пиленгаса. Тромбоцитоз.
Множественная вакуолизация клеток
белой крови. Ув. $25 \times 100 \times$*

В заключение необходимо отметить, что, оценивая физиологические аспекты роста, полового цикла, созревания пиленгаса в ареале вселения по результатам биохимического и гистологического анализа показателей крови, печени, селезенки, гонад, мышц в разные периоды жизненного цикла, выявлен более высокий темп соматического роста и уровень накопления резервных веществ в тканях по сравнению с дальневосточным пиленгасом.

В последние годы у мигрантов пиленгаса отмечен более низкий уровень сывороточного холестерина по сравнению с показателями прошлых лет, являющегося предшественником половых гормонов и кортикостероидов, обеспечивающих адаптацию организма к изменяющимся условиям среды обитания.

Морфофункциональные исследования печени и селезенки пиленгаса показали, что количество рыб с дефектной структурой постепенно увеличивается. Динамика морфопатологических изменений в печени может служить критерием оценки влияния среды обитания на популяцию пиленгаса.

Максимальное количество рыб с патологией печени выявлено во время осеннего нагула в Темрюкском заливе и Керченском проливе, которые характеризуются значительным уровнем комплексного загрязнения (*табл. 20*).

Таблица 20. Соотношение особей пиленгаса с разной стадией патологии печени в разных районах вылова, %

Баллы	Азовское море	Темрюкский залив	Керченский пролив
1	0	0	10
2	25	75	50
3	75	25	40

Значительная патология клеток крови была отмечена у пиленгаса в период нерестовой миграции (конец мая) в Керченском проливе, что диагностирует снижение защитных функций и развитие токсикоза.

Нереализованные репродуктивные возможности пиленгаса в нерестовой период приводят к резорбции половых продуктов. Ежегодно у 10–20 % самок пиленгаса в Азов-

ском и Черном морях выявляется частичная резорбция зрелых ооцитов в ястыке. Структура остальных зрелых ооцитов следующей генерации (II и III стадий зрелости) без патологии.

У азовоморского пиленгаса отмечены адаптационные изменения в репродуктивном цикле. Гонады самок и самцов созревают однопорционно, признаки асинхронного созревания половых клеток наблюдаются периодически при выраженных изменениях условий обитания (к примеру, температурные аномалии) в зимний и преднерестовый периоды. Такая репродуктивная стратегия отличается от особенностей многопорционного нереста в нативном водоеме.

ГЛАВА 6

Биологическая и физиолого-биохимическая характеристика пиленгаса в условиях Азово-Черноморского бассейна с учетом воздействия загрязняющих веществ

6.1 Физиологическая характеристика пиленгаса в условиях антропогенной нагрузки

Интенсивная хозяйственная деятельность на акватории бассейна, сокращение и перераспределение речного стока, загрязнение воды и донных отложений отрицательно повлияло на продуктивность экосистемы и состояние промысловой ихтиофауны.

По данным лаборатории аналитического контроля водных экосистем ФГБНУ «АзНИИРХ» перечень загрязняющих веществ разных классов, обнаруженных и идентифицированных в воде и донных отложениях Азовского моря, насчитывает более 300 соединений (Кленкин и др., 2007). Из приоритетных загрязняющих веществ по критериям экологической опасности (токсичности, генотоксичности, канцерогенности, распространенности, частоте встречаемости) для Азовского моря характерны хлорорганические соединения (пестициды), нефтепродукты, полиароматические углеводороды, пестициды, полихлорированные бифенилы и ряд тяжелых металлов. В конце XX века содержание загрязняющих веществ было высоким, в начале XXI века оно несколько уменьшилось, но эти вещества продолжают обнаруживаться постоянно, что позволяет заключить: Азовское море испытывает хроническую нагрузку от антропогенного воздействия.

Исследования поступления загрязняющих веществ в Азовское море позволило выделить районы наибольшего экологического риска, где в воду ежегодно попадают различные загрязняющие вещества. Оказалось, что это практически все побережье Азовского моря. Кроме того, загрязненные районы отмечены не только в узкой прибрежной полосе, но и прости-

раются далеко в море, в Таганрогский залив поступает весь спектр поллютантов, север и запад моря загрязнен нефтепродуктами, тяжелыми металлами и полихлорбифенилами, зона поступления пестицидов распространяется на восток моря, включая Ясенский залив. Содержание поллютантов и в воде, и в донных отложениях отмечено на юге моря в районах Крымского полуострова, Керченского пролива и Темрюкского залива. Это связано, вероятно, с активным судоходством в этом районе, наличием перевалочной базы для танкерного флота, а также влиянием стока р. Кубань. В Темрюкском заливе, помимо нефтепродуктов и тяжелых металлов, встречаются полихлорбифенилы и пестициды.

К зоне экологического риска можно отнести и северную часть Азовского моря от Обиточной косы до Таганрогского залива (Кленкин и др., 2007).

В научной литературе накоплено множество материалов, свидетельствующих о различных нарушениях экологического состояния водоемов, физиологического состояния гидробионтов под воздействием загрязняющих веществ (Корниенко и др., 2017). Обитание рыб в загрязненной различными веществами воде приводит к нарушению физиолого-биохимического статуса организма, основных физиологических функций, к аномалиям при формировании воспроизводительной системы рыб.

Высокая токсичность ХОС, способность накапливаться в организмах и передаваться по пищевой цепи, их химическая устойчивость обеспечивают длительность присутствия этих соединений в окружающей среде. Хроническое воздействие даже малых концентраций ХОП вызывает патоморфологические и патофизиологические изменения в крови, глубокие нарушения функций и гистологических структур печени, нарушает воспроизводительную функцию гидробионтов, увеличивает частоту злокачественных новообразований и ряд других патологий (Корниенко и др., 1998; 2004; Корпакова,

Воловик, 2001). Была установлена четкая зависимость между значениями концентраций стойких пестицидов в икре и печени рыб и их созреванием, доказано нарушение воспроизводительной функции осетровых (Макаров и др., 1997). Целью проводимых работ явилось изучение динамики показателей функционального состояния рыб Азовского бассейна, обитающих или мигрирующих в зонах экологического риска, для оценки возможного негативного влияния последствий аварийного загрязнения водной среды на физиологобиохимические показатели.

К примеру, в 2008 г. в III декаде мая после аварии судов в Керченском проливе (осенью 2007 г.) проведены сравнительные исследования содержания антиоксидантов-прорепродукторов (токоферол, каротиноиды) в печени и гонадах пиленгаса IV стадии зрелости, отловленного в Азовском море и в районе Керченского пролива (м. Тузла). Анализ полученных данных показал снижение на 30 % содержания каротиноидов в печени и гонадах самок пиленгаса, выловленного в Азовском море по сравнению с 2007 г. (от 15,0 до 10,5 и от 22,0 до 15,4 мкг/г сырой ткани, соответственно). Аналогичные изменения произошли в гонадах самцов, где отмечено снижение концентрации каротиноидов на 62 % (от 3,6 до 1,4 мкг/г) (Дудкин, 2005; Корниенко и др., 2017).

Исследования уровня жирорастворимых антиоксидантов у мигрантов пиленгаса в Керченском проливе (м. Тузла) выявило значительное превышение концентрации каротиноидов в печени (на 87 %) и гонадах (на 81 %) самок пиленгаса по сравнению с рыбами, отловленными в этот же период в северо-восточной части Азовского моря. Их значения составили, соответственно, 10,5 и 14,1, 15,4 и 27,9 мкг/г сырой ткани. Содержание каротиноидов в мышцах было близко по своим значениям (4,5 и 4,1 мкг/г сырой ткани). Напротив, у самцов выявлено снижение уровня каротиноидов в печени на 43 %, в гонадах — на 34 %, а в мышцах — на 50 % (в пе-

чени 10,3 и 5,8; в гонадах 1,4 и 0,9; в мышцах 6,2 и 3,1 мкг/г сырой ткани, соответственно).

В составе детрита, представленного преимущественно отмершей массой фитопланктона, содержится значительное количество таких важных прорепродукторов, как токоферол и каротиноиды. Таким образом, метаболические особенности пиленгаса обеспечивают его стабильную репродукцию в современных трофических и экотоксикологических условиях ареала (Дудкин, 2005).

6.2 Влияние хлорорганических соединений на физиологические показатели пиленгаса в Черном море

В задачи настоящего раздела входило исследование загрязнения хлорорганическими соединениями воды и донных отложений российской части Черного моря за период 1992–2012 гг. и выявление экологически неблагополучных районов; изучение накопления ХОП и ПХБ промысловыми рыбами и установление связи между накоплением этих соединений и патологическими изменениями в организме рыб. В этой связи были проведены комплексные исследования по выявлению корреляции между показателями физиологического состояния рыб на примере пиленгаса и уровнем накопления в его тканях ХОП и ПХБ. Повреждения печени рыб под воздействием ксенобиотиков хорошо изучены и могут быть использованы в качестве показателей состояния здоровья рыб и биомаркеров загрязнения (Корниенко и др., 1998; 2004; Ващенко и др., 2005; Корпакова и др., 2013).

В 1992–2012 гг. концентрации ХОП в воде моря менялись в очень широких пределах — от $<0,1$ до 800 нг/л. Концентрации ХОП, превышающие предельно допустимую концентрацию (ПДК) для рыбохозяйственных водоемов (условно 10 нг/л) (Нормативы ..., 2011), были обнаружены в 1,4–100,0% проанализированных проб воды. Аномально высокие концентрации, превышающие ПДК в 7–80 раз, встречались в водной толще

моря по 2007 г. включительно. В 2001 г. в воде моря зафиксирована концентрация ХОП 800 нг/л, в 2003 г. — 208 нг/л, в 2004 г. — 155 нг/л, в 2007 г. — 184 нг/л. В 2009–2012 гг. концентрации, превышающие ПДК, в воде моря не обнаружены, а диапазон найденных концентраций составил <0,1–10 нг/л.

Среднегодовая концентрация ХОП с 1992 по 2001 г. снизилась с 3 до 0,5–1,0 ПДК, а в период наблюдений с 2008 по 2013 г. она составляла 0,15–0,25 ПДК. Но, по материалам Г.В. Поповой и Л.Д. Шамровой (1987), хроническое воздействие даже относительно низких концентраций стойких пестицидов может отрицательно повлиять на способность рыб давать биологически полноценное потомство (Макаров и др., 1997).

Наибольшую пестицидную нагрузку во все годы наблюдений несут прибрежные и шельфовые акватории. Особых отличий в содержании пестицидов в воде, отобранной на разных горизонтах в этих районах, не отмечено. Несколько выше были концентрации в поверхностном слое. Наиболее загрязненными были и остаются участки моря в районах крупных причерноморских городов: Сочи, Туапсе, Новороссийска, Анапы.

Наряду с фактором запрета на использование развитыми странами препарата дихлордифенил трихлорметилметан (ДДТ) и гексахлорана (ГХЦГ) межгодовая динамика загрязнения воды Черного моря определяется объемом поступления пестицидов в водную среду (объем речного стока рек, климатические особенности года) и процессами выведения этих веществ из морской среды (биodeградация, испарение, гидролиз, фотолиз, накопление в донных отложениях и гидробионтах).

Промысловая ихтиофауна. Доказано, что переход ДДТ и его метаболитов от низшего звена трофической цепи к высшему сопровождается возрастанием концентрации на один порядок, и, чем длиннее цепь, тем больше этих соединений накапливается в высших звеньях пищевой цепи (Брагинский и др., 1979). Хлороорганические соединения встречаются во всех органах и тканях (мышцах, печени и гонадах) рыб, но

максимальное накопление пестицидов и хлорбифенилов зафиксировано в печени черноморских рыб. Поэтому важно более подробно рассмотреть накопление ХОС в рыбах, принадлежащих к разным звеньям пищевой цепи (шпрот, мерланг, акула-катран, камбала-калкан и пиленгас). Отмечено, что в тканях этих рыб на протяжении исследуемого периода (2006, 2010–2013 гг.) содержание ХОП и ПХБ оставалось достаточно высоким (Корпакова и др., 2013).

Безопасность уровней накопления ХОП и ПХБ в различных органах морских рыб оценивали по санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам (Гигиенические требования ..., 2001), утвержденным Постановлением № 36 Главного государственного санитарного врача Российской Федерации 06.11.2001 г. Допустимые уровни (ДУ) накопления ХОП и ПХБ в органах рыб приведены в *табл. 21*.

Таблица 21. Допустимые уровни накопления хлорорганических пестицидов и полихлорбифенилов в различных органах морских рыб, мкг/кг сырой массы

Показатель	Объект исследования		
	мышцы	печень	гонады
ГХЦГ (a, b, g-изомеры)	200	1000	200
ДДТ и его метаболиты	200	3000	2000
ПХБ	2000	5000	2000

В 2006, 2010–2012 гг. содержание ХОП в печени, гонадах и мышцах пиленгаса менялось в пределах 35–265, 2,6–53,4 и 0,8–47,5 мкг/кг сырой массы, соответственно. Концентрации ХОС, обнаруженные в органах и тканях пиленгаса, не превышали ДУ. В печени самцов накопление пестицидов несколько выше, чем в печени самок, соответственно, 140–265 и 35–147 мкг/кг сырой массы. ПХБ в органах и тканях пиленгаса находились в пределах <1,0–98 мкг/кг сырой массы. В наибольшей степени хлорбифенилы зафиксированы в печени (до 86 % обследован-

ных рыб), в мышцах и гонадах они встречались реже (у 29 %). Накопление ПХБ в печени было выше, чем в мышцах и гонадах, и составило, соответственно, <1,0–98, <1,0–52 и <1,0–66 мкг/кг сырой массы (Короткова, 2004).

Поскольку гистопатологические изменения печени рыб можно рассматривать как биомаркеры токсического воздействия загрязняющих веществ на организм рыб, оценка состояния была проведена по приведенной выше пятибалльной шкале (см. табл. 15) (Земков, 2003).

Гистопатологические исследования показали, что у рыб, в мышцах и печени которых явных изменений не обнаружено (степень патологии равна 1 баллу), содержание ХОП составляло 5,0–14,4 и 42,7–89,0 мкг/кг, соответственно. У рыб, в мышцах и печени которых выявлены патологические изменения, накопление ХОП было выше: в мышцах — 0,8–47,5, в печени — 106–265 мкг/кг сырой массы. В гонадах самок с высокой степенью патологии (3 балла) концентрация ХОП была выше (52,6 мкг/кг), чем у самок, в гонадах которых гистопатологические изменения оценены в 2 балла (12,8 мкг/кг). В гонадах самцов такой зависимости не наблюдалось. В наибольшей степени просматривается связь между патологическими изменениями печени и содержанием в ней ХОП (рис. 61).

Четкая корреляция между патологическими изменениями в органах рыб и содержанием в них ПХБ отсутствует. Так, у рыб с гистопатологическими изменениями печени в 2 и 3 балла содержание ПХБ в печени и гонадах выше, чем в этих органах у рыб без явных изменений. В то же

Рис. 61. Физиологическое состояние печени пиленгаса в зависимости от содержания в ней хлорорганических пестицидов, мкг/кг сырой массы



время у рыб со степенью патологии печени 4 балла ПХБ ни в печени, ни в гонадах не обнаружены ($<1,0$ мкг/кг). Высокое содержание ПХБ (52 мкг/кг) отмечено в мышцах рыб с выраженными изменениями структуры печени.

Таким образом, результаты многолетних исследований в российской части Черного моря свидетельствуют о том, что загрязнение акватории ХОП и ПХБ несколько уменьшилось, но эти вещества продолжают обнаруживаться постоянно, что позволяет заключить: российский участок моря испытывает хроническую нагрузку от воздействия ХОС. Нахождение в воде и донных отложениях хлорорганических соединений, обладающих высокой устойчивостью и длительным периодом полураспада, обуславливает долговременное воздействие загрязнения данного вида на экосистему, следствием которого является высокое накопление токсикантов в органах и тканях промысловых и других видов рыб, в результате чего проявляются негативные изменения в организме гидробионтов. Приведенные данные свидетельствуют о накоплении ХОП в гидробионтах и значительном ущербе, наносимом биологическим ресурсам моря от загрязнения его хлорорганическими соединениями и полихлорбифенилами.

6.3 Характеристика ксенобиохимических параметров и адаптивных антиоксидантных систем пиленгаса

Бурный рост популяции пиленгаса и несколько лет эффективного нереста, сформировавшие высокоурожайные поколения, создают впечатление более высокой устойчивости пиленгаса к отрицательному воздействию загрязняющих веществ на репродуктивные качества по сравнению с другими видами. Целью этого направления работ явилась более полная характеристика ксенобиохимических показателей и адаптивных антиоксидантных систем пиленгаса в сравнении с другими рыбами. Были исследованы три выборки пиленгаса. Первую выборку представляли особи пиленгаса, отлов-

ленного в период зимовки в декабре в северо-западной части Азовского моря. Две другие составляли особи в преднерестовом состоянии, отловленные в центральной части моря в июле в период нереста (II) и у мыса Железный Рог в Черном море в период нерестовой миграции из Азовского в Черное море (III). При этом II группа отнерестилась в Азовском море при солености 13–14 ‰, а III группа — в Черном море при солености 18–20 ‰.

По сравнению с периодом зимовки у рыб в преднерестовом состоянии значительно возрастает активность монооксигеназного комплекса в печени (табл. 22). Так, содержание функционально активного компонента цитохрома P450 возрастает в среднем в 2,9–4,1 раза. Увеличение инактивированной формы цитохрома P450 в среднем в 1,9–2,6 раза указывает на существенность функциональной нагрузки на монооксигеназный комплекс у пиленгаса в преднерестовый период и, очевидно, на наличие в спектре действующих ксенобиотиков агрессивных труднометаболизируемых соединений.

Таблица 22. Содержание компонентов монооксигеназного комплекса в печени пиленгаса (нг/мг белка микросом)

Компонент	Зимовка	Преднерестовое состояние	
		Азовское море	Черное море
Цитохром P ₄₅₀	1,43±0,28	4,21±0,82	5,89±0,69
Цитохром P ₄₂₀	3,15±0,51	5,98±1,05	8,11±0,83
Цитохром b ₅	4,32±0,75	11,00±3,02	11,93±1,60

Обращает внимание высокая вариабельность содержания компонентов микросомального комплекса в печени однородной выборки рыб с одинаковой стадией зрелости гонад (IV завершенная). Минимальное содержание цитохромов в микросомах составляло 0,10–0,82 нг/мг белка, что можно расценить как отсутствие индукции ксенобиотиками; а максималь-

ное — 14,88–33,62 нг/мг белка — свидетельствует о сильном функциональном ответе на ксенобиотический пресс.

Высокие отличия выявляются у рыб в преднерестовом состоянии относительно периода зимовки и по активности антиокислительных ферментов, обеспечивающих неспецифический адаптивный ответ организма. Исследования осетра, севрюги и судака в период нерестовой миграции показали, что наряду с исчерпанием неферментативных антиоксидантов резкому снижению функционального состояния противостоит поддержание активности антиокислительных ферментов на стабильно высоком уровне, и снижение этой активности наблюдается только при развитии патологических процессов (Дудкин, 2000). У пиленгаса, напротив, в преднерестовый период активность антиокислительных ферментов в основном ниже относительно периода покоя (табл. 23).

Таблица 23. Активность антиокислительных ферментов в печени и гонадах пиленгаса (уд. ед. акт./мг белка)

Компонент	Зимовка	Преднерестовое состояние	
		Азовское море	Черное море
Супероксиддисмутаза, печень	12,20±1,39	3,96±0,41	4,78±0,34
Глутатионпероксидаза, печень	14,05±1,31	11,73±1,19	12,19±1,77
Глутатионпероксидаза, гонады	16,51±1,67	19,95±4,87	2,53±0,46

Анализ второй составляющей факторов устойчивости к повреждающим воздействиям — неферментативных антиоксидантов — показал, что у пиленгаса нет необходимости в дополнительном использовании антиокислительных резервов за счет ферментов; в отличие от других исследованных видов рыб его печень содержит очень высокие концентрации токоферола, превышающие содержание этого компонента в гонадах. Отличается и динамика содержания токоферола в печени в преднерестовый период: если у большинства исследованных видов в этот период отмечается усиленное расходе-

вание запасов токоферола в мышцах и печени, то у пиленгаса отмечается его существенное накопление. И лишь динамика содержания ретинола, как легкоаутооксидабельного компонента, расходуемого в монооксигеназных реакциях, в печени подобна основным закономерностям у других видов рыб, что подтверждает наличие общих механизмов негативного воздействия ксенобиотиков (табл. 24).

Таблица 24. Содержание токоферола и ретинола (в мкг/г сырой ткани) в печени гонадах пиленгаса в разные периоды

Компонент	Ткань	Зимовка Азовское море	Преднерестовое состояние	
			Азовское море	Черное море
Токоферол	Печень	115,72±23,37	189,40±57,3	164,16±35,58
	Гонады	109,50±6,74	135,70±15,90	142,44±6,95
Ретинол	Печень	55,46±3,14	27,34±6,13	31,61±4,24
	Гонады	2,33±0,53	6,48±1,38	4,12±0,43

Вариабельность содержания токоферола в печени пиленгаса необычайно высокая — от 14,67 до 470,29 мкг/г сырой ткани, что не отмечается ни у одного из исследованных видов рыб. При этом в общей выборке около 45 % рыб имеют параметры, сопоставимые с уровнями у других видов рыб. Причины столь очевидных биологических отличий подлежат более детальному исследованию.

Активность лизосомальных протеолитических ферментов, оцениваемая по катепсину D, в период функциональной активности выше, чем при зимовке, подобна динамике этого показателя, характерной и для других видов рыб (табл. 25).

Здесь прослеживается отчетливая взаимосвязь этих двух проявлений — в основе стабильности репродуктивной функции лежат биохимические особенности, в частности, обеспеченность организма биологическими антиоксидантами при довольно «спокойном» состоянии детоксикационных систем печени.

Таблица 25. Активность катепсина D (в мкМ тирозина/мг белка) в тканях пиленгаса в разные периоды

Ткань	Зимовка	Преднерестовое состояние	
		Азовское море	Черное море
Печень	11,09±7,73	182,19±19,59	144,43±23,23
Гонады	21,21±3,06	43,10±6,15	37,55±4,92

Даже в неблагоприятный с точки зрения уровня загрязнения период 1991–1996 гг., а тем более в период 1999–2005 гг., характеризующийся снижением уровня загрязнения, активность детоксикационных систем в печени сохранялась на стабильно низком уровне, содержание цитохрома P450 не превышало 5 нМоль/мг белка микросом. В период снижения уровня загрязнения активность детоксикационных компонентов печени находилась в пределах гомеостазных значений. Так, содержание цитохрома P450 в печени у самцов составляло в среднем $0,92 \pm 0,15$, а у самок — $1,15 \pm 0,15$ нМоль/мг белка микросом. Это указывало на незначительность негативного влияния антропогенного загрязнения на репродуктивные качества этого вида рыб в Азовском ареале.

Исследования 2003–2004 гг. показывают увеличение экотоксикологической нагрузки в Азовском бассейне по сравнению с периодом 1999–2002 гг. В частности, у пиленгаса отмечено повышение активности детоксикационных систем печени по сопоставимым выборкам (табл. 26).

Таблица 26. Фоновые значения биомаркеров загрязнения у пиленгаса ($n=26$) в различных акваториях Азовского бассейна в 2003–2004 гг.

Местообитание, район акватории	Содержание P ₄₅₀ , нМоль/мг белка (% особей с гипериндукцией)	ECOD, мкМоль кумарина/мг белка×мин, (% особей с гипериндукцией)
Азовское море, юговосточная часть (ст. 14–16, 19–21, 27–29)	3,44±0,62 (16)	168,47±33,28 (13)
Керченский пролив	2,77±0,32 (12)	136,42±41,65 (16)

Содержание Р450 превышает физиологическую норму у 12–16 % особей пиленгаса в исследованном районе, что свидетельствует об изменении метаболической функции печени под воздействием антропогенного загрязнения среды обитания, которое может вызывать отклонения в репродуктивной функции этих рыб. Значения активности ECOD выше 200 мкМоль кумарина/мг белка×мин., также указывающие на существенные для репродукции отклонения метаболизма, отмечаются у 13–16 % особей. Такие изменения могут вызывать нарушения в репродуктивной функции особей, что может приводить к снижению генеративного потенциала популяции в среднем на 10–15 %. Следует отметить, что полученные значения детоксикационных ферментов у пиленгаса ниже, чем у других исследованных видов рыб и, повидимому, отражают его биологические особенности как вида, более устойчивого к негативному воздействию загрязнения среды обитания. Учитывая высокую миграционную активность пиленгаса в течение годового жизненного цикла в пределах всей акватории Азовского моря, полученные данные указывают на влияние общего фонового уровня загрязнения в ареале в целом (Корниенко и др., 2017).

В последние годы наметилась тенденция к формированию и стабилизации черноморской части популяции, генетически связанной с азовской. Некоторые черты биологии пиленгаса, его высокая подвижность и холодостойкость позволяют этому виду до сих пор уходить от промыслового истребления. При этом вид сохраняет в обозримом будущем промысловую перспективу. В числе эколого-физиологических факторов, подкрепленных биохимическими механизмами и особенностями метаболизма этого вида, обеспечивающих пиленгасу высокую репродуктивную стабильность, можно отметить удачное соответствие пищевого спектра имеющимся ресурсам пищи в эвтрофном Азовском море, слабую межвидовую пищевую конкуренцию с 30–40-суточного возраста, высокий

пищевой поток липидных антиоксидантов — стабилизаторов развития и репродукции. Именно поэтому, несмотря на более вероятную по сравнению с другими видами рыб, потенциальную возможность попадания с пищевым детритом и пеллитом загрязняющих веществ экотоксикантов, реальная токсикация пиленгаса, судя по биомаркерным показателям и химико-токсикологическим уровням накопления, была и остается на достаточно низком уровне (Дудкин, 2005).

Исследования 2006 г. показали, что у пиленгаса активность компонентов I фазы детоксикации была ниже по сравнению со среднемноголетними значениями за период 1995–2005 гг., однако выше, чем у других азовских рыб. Так, содержание P450 составило $1,71 \pm 0,34$ нмоль/мг белка микросом печени, цитохрома P420 — $3,84 \pm 0,62$; а цитохрома b5 — $0,71 \pm 0,10$ нмоль/мг белка, что в 6 раз выше, чем у русского осетра сопоставимой возрастной группы. Таким образом, по уровню воздействия экотоксикантов пиленгас входит в «группу риска» видов, испытывающих эффект индукции P450. Однако, другие негативные проявления токсикации у пиленгаса, по сравнению с другими видами, сглажены. Этому, по-видимому, способствует обнаруженный у пиленгаса широкий диапазон активности основного компонента II фазы детоксикации — глутатион-S-трансферазы (ГТФ). В период физиологического голодания, например, при совершении нерестовых миграций, когда экзогенный поток экотоксикантов слаб, активность ГТФ снижается до величин в диапазоне 10–80 мкМоль глутатиона/мг белка цитозоля печени в 1 минуту. Такие величины близки к значениям, характерным для питающихся хищных рыб. При питании пиленгаса зообентосом (например, фораминиферами и нереисом), активность ГТФ возрастает до величин в диапазоне 100–200 мкМоль глут/мг белка×мин., а интенсивное питание детритом с высоким содержанием чужеродных соединений биогенного и антропогенного происхождения повышает активность ГТФ до

250–350 мкМ глУ/мг×мин. У некоторых особей активность при этом достигает самых значительных из зарегистрированных нами у рыб значений — до 3000 ед. Поэтому приспособленность пиленгаса к питанию детритом, потенциально содержащим ксенобиотики микробияльного или иного происхождения, сопровождается присущей виду высокой детоксикационной активностью, что позволяет ему преодолевать и воздействие антропогенной токсикации среды обитания. При существовании пиленгаса в условиях эвтрофного водоема в составе детрита, представленного преимущественно отмершей массой фитопланктона, содержится значительное количество таких важных прорепродукторов, как токоферол и каротиноиды. Например, даже у черноморского пиленгаса содержание токоферола в печени составляет $76,43 \pm 8,80$ мкг/г сырой массы ткани. Таким образом, метаболические особенности пиленгаса обеспечивают его стабильную репродукцию в современных трофических и экотоксикологических условиях ареала, в результате чего вид сохраняет свою промысловую, и, пока не реализованную, аквакультурную перспективы в Азово-Черноморском бассейне на ближайшее будущее.

Необходимо отметить, что проведенные исследования по оценке воздействия загрязняющих веществ на физиологическое состояние пиленгаса из разных водоемов Азово-Черноморского бассейна позволило заключить, что устойчивость репродукции неодинакова у разных видов рыб и зависит от пола и других физиологических особенностей. Наиболее информативными и удобными объектами при изучении формирования биоответа на загрязнение среды обитания являются рыбы-бентофаги и детритофаги. Мониторинговые исследования показали, что в современный период у азовских рыб значения исследуемых биомаркеров загрязнения (P450, ECOD, EROD, GST) показывают повышенную индукцию в печени рыб ферментов детоксикации, что свидетельствует о поступлении в организм по пищевой цепи таких ксенобиоти-

ков, как нефтепродукты, полиароматические углеводороды, пестициды и полихлорбифенилы. В то же время анализ материалов по экологической обстановке и фоновому уровню загрязнения донных отложений Азовского и Черного морей показал, что наблюдаемый в настоящее время уровень загрязнения акваторий не летален для взрослых рыб-бентофагов, за исключением бычков, где токсемия может снижать устойчивость особей к гипоксии и увеличивать масштабы их гибели при заморных явлениях (Кленкин и др., 2007). Выполненные исследования также показали, что уровень загрязнения донных отложений биотопов обитания донных рыб в изученных районах не оказывает депрессивного действия на темпы линейного и весового роста рыб, а также накопления в тканях трофических веществ (белки, липиды).

Анализ полученного материала показывает уязвимость изученных видов рыб к действию загрязнения. Выявленные изменения гематологических, морфологических и биохимических параметров тканей характеризуют реакцию рыб на комплекс различных негативных факторов в районе Керченского пролива и в предпроливной зоне и носят, вероятно, обратимый характер.

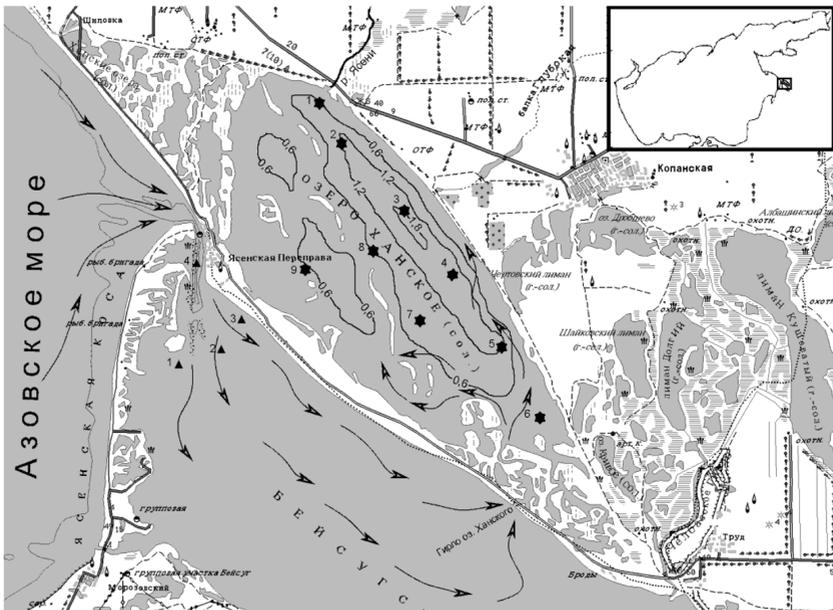
Выполненные исследования позволяют заключить, что функциональное состояние производителей основных промысловых видов рыб в разных районах Азовского моря и в Керченском проливе относительно благополучное, что обусловлено биологическими и поведенческими характеристиками этих видов рыб.

ГЛАВА 7

Воспроизводство пиленгаса в разных биотопах Азово-Черноморского бассейна (оз. Ханское – Бейсугский лиман, лиманы Витязевский, Кизилташский, Цокур)

У азовского пиленгаса имеются биохимические предпосылки стабильности репродуктивной функции и обеспечения эффективности размножения в разных биотопах.

Озеро Ханское. Изучение созревания пиленгаса обоего пола и оценку эффективности его естественного размножения в водоемах пониженной солености осуществляли в 2005 г. на примере оз. Ханского — относительно изолированного водоема в системе кубанских лиманов. Карта-схема района проведения работ и расположения контрольных станций отлова ихтиопланктонной сеткой и мальковыми волокушами представлена на *рис. 62*.



*Рис. 62. Карта-схема расположения станций в оз. Ханское
(* — станции, стрелки — направление миграций)*

Оз. Ханское представляет собой мелководный водоем временного типа, существование которого целиком зависит от макроклиматических процессов. В засушливые циклы с преобладанием восточных типов воздушного массопереноса озеро может полностью пересыхать (40-е, 60-е гг. XIX века) или существовать в режиме соленого водоема с обширными пересыхающими летом акваториями (70-е, 80-е и первая половина 90-х гг. XIX века). В циклы преобладания западного типа макроклиматических процессов озеро стабильно существует в режиме слабосоленоватоводного водоема. К 2000 г. площадь озера составляла 108 км². При этом свыше 60 % акватории занимали мелководные зоны с глубинами 5–60 см, еще 22 % — акватории с глубинами 60–120 см и только 18 % площади озера приходится на относительно глубоководные зоны с глубинами 120–180 см. Пресноводный сток в озеро осуществляется через реку Ясени и сбросные мелиоративные каналы в северной части озера и определяет изменения уровня и солености воды. От Ясенского залива Азовского моря и от Бейсугского лимана озеро отделено широкой косой и имеет одно временно функционирующее гирло, соединяющее его с Бейсугским лиманом. Гирло обеспечивает сообщение озера с лиманом в период с весеннего паводка и до середины лета. Так, в 2000 г. гирло перестало работать к концу июня. Через гирло из лимана в озеро заходят на нерест тарань, судак, тюлька и пиленгас. Часть сеголетков успевают скатиться в море, а после пересыхания гирла вся молодь рыб остается в озере. В 2000 г. соленость воды в оз. Ханском была невысокой и составляла 3,9–4,1 ‰ в течение апреля; 4,3–4,5 ‰ — в конце мая — начале июня и до 5,5–6,2 ‰ — в августе.

Облов и анализ процессов созревания пиленгаса исследовали в апреле 2000 г. Всего исследовано в акватории оз. Ханское более 500 рыб разного возраста в преднерестовый, нерестовый и посленерестовый периоды. Основу стада пиленгаса репродуктивного возраста (около 80 % всех особей)

в оз. Ханском составляли трехлетки поколения 1997 г. средней массой 547 г. Около 16 % рыб было представлено четырехгодовиками средней массой 1120 г и 4 % приходилось на пятилетних (средней массой 2180 г) и шестилетних (средняя масса 3050 г) рыб.

Мелководность озера и более высокая сумма температур по сравнению с Азовским морем стимулировали более раннее наступление генеративного возраста у трехлеток. Так, в Азовском море в этом возрасте созревало только 13 % самок, остальные особи начинали созревать только в четырехлетнем возрасте. В условиях оз. Ханское в трехлетнем возрасте созревали все самцы и 43 % самок. В отличие от Азовского моря, у пиленгаса в оз. Ханское к началу зимовки 1999/2000 гг. отмечалось очень слабое жиронакопление в полости тела (средний индекс жирности 2,25 и 0,35, соответственно), что свидетельствовало о высокой плотности его популяции в озере и недостатке трофических ресурсов. В период с октября 1999 г. по февраль 2000 г. промыслом (кольцевыми неводами) из озера было изъято свыше 180 т пиленгаса, или около 240 тыс. шт. рыб обоего пола, что, на наш взгляд, способствовало снижению внутривидовой конкуренции за пищевые ресурсы и способствовало нормальному преднерестовому нагулу и созреванию оставшихся рыб.

К началу апреля 87 % самок пиленгаса имели гонады II стадии зрелости, и лишь у 13 % отмечалось начало стадии трофоплазматического роста ооцитов (стадия зрелости II–III). Самцы в основном были представлены особями с семенниками в стадии роста (II–III СЗГ). В дальнейшем по мере прогревания воды темп созревания самцов существенно ускорился и превышал темпы созревания самок. Так, к концу апреля все самцы имели семенники III–IV стадии зрелости, а к середине мая встречались текущие особи. Гонадосоматический индекс у самцов был выше такового у одновозрастных самок. У самок в оз. Ханское трофоплазматический рост ооцитов интенсивно происходил в

течение мая и первых чисел июня. У самок в Азовском море эти процессы протекали раньше — в течение марта–апреля, что, по-видимому, связано с более высоким запасом трофических резервных веществ в виде липидов полости тела, теши, мышц. Таким образом, это еще раз свидетельствовало о высокой плотности популяции пиленгаса в оз. Ханское.

Анализ возрастного состава пиленгаса в течение мая показал пополнение стада в озере за счет притока нерестовых мигрантов через гирло из Бейсугского лимана. Мигранты были представлены рыбами в возрасте четырех, пяти и шестилеток и отличались от рыб из озера более высоким жировым запасом в полости тела и высокой зрелостью гонад самок. Гонады этих самок были в IV стадии зрелости, диаметр ооцитов составлял 830–870 мкм. Именно эти рыбы обеспечили начало нереста в озере, первые нерестующие самки были отмечены 26 мая 2000 г. при температуре воды 19,7 °С. К этому времени все самцы пиленгаса, включая местных трехлеток, были текучими. Аномалии развития семенников практически не отмечались, за исключением 0,7 % рыб с одним семенником. Созревание местных самок завершилось к первым числам июня, и они тоже приняли участие в нересте, пик которого пришелся на 2–6 июня 2000 г. Нерест пиленгаса в оз. Ханском был дружным и протекал при наступлении нерестовых температур 21–23 °С в протяжении менее двух недель. Вымет половых продуктов, как правило, был полный. У самок ястыки после вымета содержали лишь минимальное остаточное количество невыметанных икринок. Процесс восстановления гонад из стадии IV во II стадию зрелости протекал очень быстро (менее 20 суток).

Проведенные обловы икорной сетью по сетке станций, расположенных как в относительно глубоководной, так и мелководной зонах акватории оз. Ханское, показали чрезвычайно высокую эффективность развития икры и личинок пиленгаса при наблюдаемых соленостях воды 4,2–4,5 ‰ (рис. 63).



Рис. 63. Оплодотворенная икра (А) и развивающийся эмбрион (Б) пиленгаса

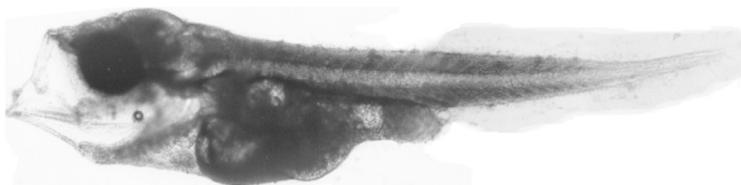


Рис. 64. Внешний вид ранней личинки пиленгаса

Так, количество развивающихся эмбрионов и ранних личинок составило при расчете методом альфа усеченного 22,6 млрд шт.; методом альфа винзоризованного — 17,0 млрд шт.; методом среднеарифметического — 22,6 млрд шт. Личинки пиленгаса располагались в толще воды преимущественно в верхних слоях, интенсивно питаются зоопланктоном — копеподами и молодью кладоцер. Внешний вид личинки пиленгаса представлен на *рис. 64*. В конце июня и начале июля были выполнены обловы акватории озера мальковой волокушей. Отмечена высокая выживаемость и темп роста личинок и мальков, достигших к концу июня средней массы 463 ± 14 мг (*рис. 65*). Запас мальков составил при расчете методами альфа усеченное и среднеарифметическое 4,97 млрд шт.; методом альфа винзоризованное 3,74 млрд шт. Таким образом, выход жизнестойкой молоди от количества ранних личинок и развивающихся эмбрионов составил 22 %, весь-

ма высокую для естественного воспроизводства величину. Было установлено хорошее физиологическое состояние мальков, высокие коэффициенты упитанности, наличие начала ската в Бейсугский лиман через гирло оз. Ханское. К концу июня сообщение озера с Бейсугским лиманом стало нерегулярным и в июле совсем прекратилось из-за падения уровня воды в озере и накоплении песчаных наносов. Скот молоди в июле прекратился. Контрольные обловы мальковой волокушей, выполненные в конце сентября, показали значительное количество молоди пиленгаса в пригирловом пространстве Ханского озера.

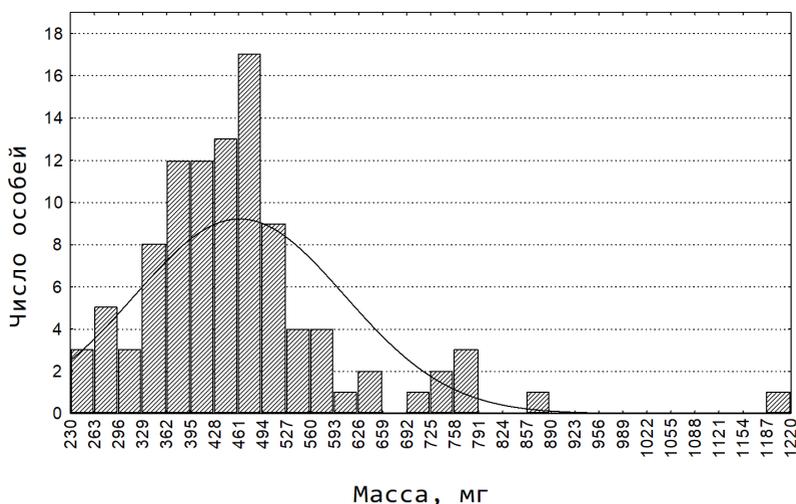


Рис. 65. Распределение сеголеток пиленгаса в оз. Ханское по массе, 20.06.2000 г.

Однако в связи с преимущественным распределением молоди на мелководьях с топкими илистыми грунтами, где ручной облов затруднен, а с лодки невозможен, получить репрезентативный материал по общему запасу молоди не представлялось возможным. Средняя масса молоди составила 5,35 г с вариацией от 1,8 до 11,6 г (рис. 66).

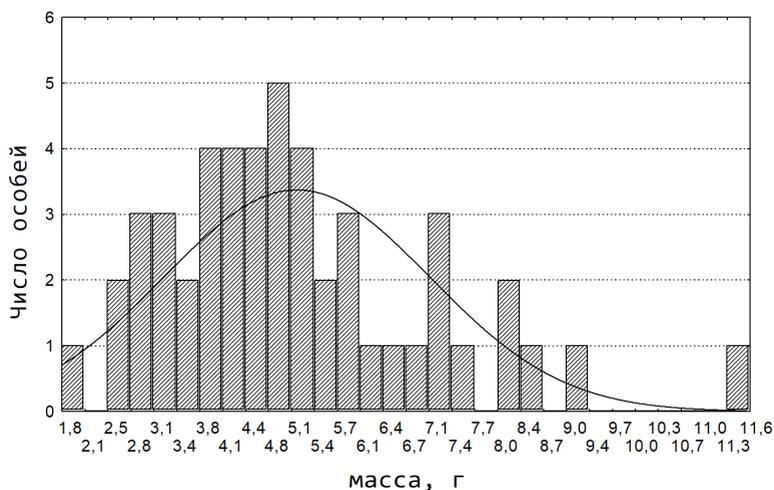


Рис. 66. Распределение сеголеток пиленгаса в оз. Ханское по массе, 20.09.2000 г.

Таким образом, нами обоснованы эколого-функциональные предпосылки и получены прямые доказательства возможности воспроизводства пиленгаса при пониженной солености воды (4,2–4,5 ‰). Следовательно, не только вся акватория собственно Азовского моря, но и центральная и западная части Таганрогского залива, а также обширные акватории осолоненных кубанских лиманов по всем эколого-функциональным параметрам могут быть, и возможно являются местами размножения пиленгаса и источниками пополнения его промысловой популяции.

Характеристика воспроизводства пиленгаса в системе Бейсугский лиман — оз. Ханское. Зима 2000/2001 гг. отличалась мягким характером, поэтому в море пиленгас не образовывал массовых зимовальных скоплений, и его морская популяция подверглась меньшему прессу промысла. Отмечено влияние теплой зимовки на ускорение процессов созревания производителей по сравнению с предшествующими годами. Так, в зимовку 2000/2001 гг. уходили самки в основном с

III стадией зрелости гонад и только около 8 % — с III–IV, IV СЗГ. Меньший пресс промысла обусловил сохранность стада в море и относительно выраженные подходы производителей в береговую зону Кубанского побережья. Морские рыбы отличались высокой упитанностью, более высоким гонадосоматическим индексом по сравнению с аналогичным периодом 2000 г. В районе косы Долгой в уловах береговых ставников пиленгас начал отмечаться с третьей декады марта, наиболее выраженные подходы были отмечены во второй–третьей декадах апреля. Возрастная структура уловов соответствовала распределению рыб в море. Основная масса рыб была представлена 4–7-летками, до 12 % особей — 9-летками и старше. Со второй половины мая в уловах отмечались текущие самцы, а в конце мая — текущие самки. С 16 апреля отмечен заход производителей из Ясенского залива в Бейсугский лиман, пик захода пришелся на срок с 26 апреля по 8 мая. Мигранты, в отличие от района косы Долгой, были представлены 4и 5-летками. По-видимому, эти рыбы были местного происхождения. Текущие самцы и самки пиленгаса в Бейсугском лимане и их нерест отмечен в конце мая – начале июня, т.е. в те же сроки, что и в 2000 г.

В оз. Ханское, ввиду отсутствия сообщения с Бейсугским лиманом с июля 2000 г. по май 2001 г., пиленгас к началу нерестового сезона был представлен изолированной группировкой с рыбами в возрасте не старше 4 лет. Выполненные в течение марта и апреля контрольные обловы показали общее депрессивное состояние популяций местных рыб по сравнению с октябрём 2000 г. Так, уловы в контрольных заметах показали снижение запаса рыб репродуктивного возраста: пиленгаса — в 35, сазана и тарани — в 20, судака — более чем в 40 раз. Таким образом, в озере к весне наблюдался массовый дефицит производителей и подрыв воспроизводственной возможности водоема. В течение марта в озере годовики пиленгаса также отмечались единично, однако они стали по-

являться в массе в течение апреля. По-видимому, зимовка годовиков происходила в русле р. Ясени и водотоках Копанских плавней. Молодь распределялась на наиболее мелководных прогреваемых участках озера и была учтена в количестве от 24 до 57 млн шт. Таким образом, в течение зимовки запас молоди в озере сократился примерно в 80 раз. По-видимому, часть молоди в процессе зимовальных миграций могла выйти в систему Бейсугского лимана (возможно, через ерики Терапунька и др.), распределиться по прилегающим водоемам, а также быть истребленной рыбацкими птицами. Средняя индивидуальная масса годовиков к марту составила 13,3 г, что ниже нормы и свидетельствовало о переуплотнении стада годовиков в водоеме.

Дождливая весна 2001 г. способствовала подъему уровня воды в озере и распреснению с 4,2 ‰ (по хлорид-аниону) в конце марта до 3,5 ‰ к концу апреля. Общая соленость с учетом сульфатной и карбонатной составляющих снизилась, соответственно, от 9 до 6 ‰. Местные производители пиленгаса созревали в течение весны несколькими «волнами», что обусловило три пика генерации мальков. Первый нерест (6 % производителей) отмечался в дни прогрева воды до 19–21 °С 26–28 апреля; второй (13 % самок) — 15–16 мая, третий и основной — с 26 мая по 5 июня. С 9 мая начало работать искусственно раскопанное гирло, стадо пиленгаса в озере пополнилось нерестовыми мигрантами из Бейсугского лимана, сроки их нереста совпали с основным пиком. Однако наблюдался массовый браконьерский вылов мигрантов в гирле и окологирловых пространствах Бейсугского лимана и оз. Ханское, что резко снизило количество возможных производителей в озере.

Таким образом воспроизводственные возможности водоема в 2001 г. были использованы далеко не в полной мере и эффективность генерации поколения пиленгаса на стадии личинки и ранних мальков по сравнению с предыдущим го-

дом снизилась с 5 млрд шт. до 670 млн шт., т.е. в 7,5 раз. К началу октября сеголетки достигли в среднем индивидуальной массы 9,2 г, а их количество в озере снизилось до 58 млн шт. Основной причиной снижения количества молоди от лета к осени явилось обеспечение условий для ее ската из озера в Бейсугский лиман через открытое гирло, что благоприятно для пополнения запаса промысловой популяции пиленгаса в море. Однако нами отмечены и негативные аспекты содержания постоянно открытого гирла. Так, в первой декаде сентября низовые нагонные явления способствовали заносу вместе с водными массами хищного гребневика мнемипсиса из Бейсугского лимана в озеро, что отмечено впервые за период существования озера и могло негативно сказаться на его кормовой базе и воспроизводственных возможностях.

Необходимо отметить, что воспроизводственные возможности этого водоема использовались далеко не в полной мере. Так, допускались значительные переловы производителей рыб в осенне-зимний период, переуплотнение популяции сеголетками и годовиками. Необходимой мерой в таких ситуациях является введение режима сохранения стад местных производителей, для чего ограничивают число пользователей водоема одной организацией и обеспечивают снижение браконьерского изъятия рыбы, а также проведение мероприятий по обеспечению свободного захода нерестовых мигрантов из моря и обеспечению ската сеголеток в море, отлова их части для целей аквакультуры. Это предполагает регулируемую «работу» гирла и соблюдение рыбоохранных мероприятий.

Созревание пиленгаса в Бейсугском лимане и оз. Ханское и его продуктивный нерест доказали наличие адаптированных к условиям пониженной солености групп рыб, которых можно использовать как ценный селекционно-генетический материал в пресноводной и слабосоленатоводной аквакультуре и интродукционных мероприятиях.

мировалась плотная популяция плевробрахии и мнемипсиса (*табл. 23*), что негативно сказалось на кормовой базе для ранней молодежи пиленгаса и других кефалей. В итоге, к октябрю в лимане было учтено 5,6 млн шт. молодежи кефалей, из которых 71 % составляла молодежь сингиля и остроноса и 28 %, или 1,57 млн шт. молодежи пиленгаса. Средняя масса мальков составляла 6,7 г, а их общая биомасса в лимане — 11,5 т. Рыбопродуктивность лимана по сеголеткам пиленгаса оказалась на низком уровне — 430 шт./га или 2,88 кг/га по биомассе.

Еще более низкой оказалась рыбопродуктивность лимана Цокур. Здесь также отмечено раннее массовое развитие популяций мнемипсиса и плевробрахии (*табл. 27*). Интересно, что визуальные наблюдения за прилегающей прибрежной акваторией Черного моря не выявили в это время наличия гребневиков. Возможно, относительно теплые условия зимы 2000/2001 гг. могли способствовать сохранению гребневиков в системе лиманов и раннему развитию их популяций. Соленость воды в различных участках лимана Цокур составляла в июне от 14,3 до 15,7 ‰. В лимане учтено 1,08 млн шт. молодежи кефалей, из них пиленгаса — 270 тыс. шт. Средняя масса молодежи составила к октябрю 5,8 г, а общая биомасса в лимане — 1,57 т. Рыбопродуктивность по сеголеткам пиленгаса составила 71 шт./га или 0,412 кг/га.

Кизилташский лиман находится под большим, чем другие лиманы группы, влиянием стока Кубанки. В результате в западных районах лимана соленость воды в июне составила от 11,4 до 12,9 ‰, а в восточных районах — от 0,1 до 5,6 ‰. Ихтиологическая съемка показала приуроченность распределения молодежи пиленгаса к наиболее распресненным акваториям лимана. При расчете рыбопродуктивности лимана выделено не менее трех зон с различной продуктивностью.

Таблица 27. Распределение гребневиков мнемипсиса и плевробрахии в лиманах Кизилташской группы в последней декаде июня 2001 г.

Место отбора, №№ станций	Соленость воды, ‰	Температура воды, °С	Концентрация плевробрахии и мнемипсиса, г/м ³
Черное море, р-н Бугазского гирла, Ст. № 6	17,2	17,4	0
Бугазский лиман			
Ст. № 1	4,1	4,5	2850
Ст. № 2	14,6	24,6	2300
Ст. № 3	14,3	24,5	2670
Ст. № 4	14,3	24,5	1900
Ст. № 5	14,1	24,7	730
Лиман Цокур			
Ст. № 1	15,7	21,0	3260
Ст. № 2	14,3	21,7	3660
Ст. № 3	14,3	22,0	2800
Ст. № 4	14,3	22,3	2900
Ст. № 5	15,0	22,1	3420
Кизилташский лиман			
Ст. № 1	12,9	23,5	2650
Ст. № 2	11,4	23,8	2400
Ст. № 3	9,1	24,2	620
Ст. № 4	6,4	24,9	0
Ст. № 5	2,3	25,2	0
Ст. № 6	1,9	25,2	0
Витязевский лиман			
Ст. № 1	15,7	28,3	0
Ст. № 2			0
Ст. № 3			0
Ст. № 4			0
Ст. № 5			0
Ст. № 6			0

Общая продуктивность лимана по сеголеткам пиленгаса в 2001 г. составила 22,67 млн шт. Средняя индивидуальная масса сеголеток к октябрю достигла 8,4 г, а общая биомасса сеголеток в лимане — 190 т. Продуктивность лиманных ак-

ваторий оценена в 1610 шт./га, что в пересчете на биомассу 13,5 кг/га. В целом, оценивая продуктивность группы лиманов по эффективности воспроизводства пиленгаса, необходимо признать, что она находилась на невысоком уровне. Факторами снижения потенциальной эффективности являлись:

- 1) нестабильность работы Бугазского гирла;
- 2) недостаточная пропускная способность и узость Бугазского гирла для обеспечения заходов нерестовых мигрантов из Черного моря в обширные акватории лиманов (Бугазский — 36,6 км²; Цокур — 38,2 км²; Кизилташ — 141 км²);
- 3) раннее развитие паразитических, конкурентных популяций желетелых, лишаящих кормовой базы личинок и ранней молоди пиленгаса, а также потребляющих икринки, эмбрионы и личинок кефалей.

Характеристика воспроизводства пиленгаса в Витязевском лимане. Витязевский лиман, в отличие от группы Кизилташских, не имеет гирлового соединения с Черным морем и его гидрологический режим связан с поступлением пресных вод р. Гостагайка и мелиоративных сбросов, а также поверхностным испарением воды. Зимой 2000/2001 гг. отмечалась массовая гибель ихтиофауны вследствие зимних заморов. В результате состав ихтиофауны упростился и был представлен бычками и пиленгасом. Часть производителей пиленгаса благополучно перенесла жесткие условия зимовки и дала несколько продуктивных генераций. Относительно теплые условия зимовки привели к созреванию части производителей уже в третьей декаде апреля при наступлении нерестовых температур, основная часть местных производителей созрела и отнерестилась в середине мая. В течение всего периода наблюдений в Витязевском лимане не отмечалось развития хищных желетелых, а кормовая база по зоопланктону оставалась на высоком уровне, что обусловило высокие выживаемость и темп роста пиленгаса на ранних этапах онтогенеза даже при наблюдаемом остром недостатке производителей.

Соленость воды в лимане при ранних этапах онтогенеза пиленгаса составляла от 15,1 до 15,7 ‰, в устье р. Гостагайка от 0,2 до 6,4 ‰. К концу октября учетом была определена эффективность генерации 2001 г. в 12,1 млн шт. сеголеток пиленгаса. Средняя масса сеголеток составила 8,7 г, а их общая биомасса в лимане — 105 т. Продуктивность лимана по сеголеткам пиленгаса составила 1920 шт./га или 17,4 кг/га по биомассе (табл. 28). Таким образом, Витязевский лиман представлял собой преимущественно пиленгасный водоем с высоким воспроизводственным потенциалом, сравнимым с оз. Ханское, а его рыбопродуктивные возможности были ограничены только недостатком местных производителей. Однако этот водоем представлял исключительный интерес как перспективный источник получения рыбопосадочного материала пиленгаса, для чего был рекомендован щадящий режим промысла с сохранением резерва производителей, а также подготовка удобных мест заготовки молоди (расчищение русла р. Гостагайка, создание мест облова в русле, мест отгрузки отловленной молоди, зимовальных углублений в русле речки).

Таблица 28. Продуктивность лиманов по сеголеткам пиленгаса по результатам летних и осенних съемок

Место отбора, №№ станций	Продуктивность по сеголеткам пиленгаса, шт./га	Кол-во сеголеток, млн шт.	Средняя масса сеголеток пиленгаса, г	Общая биомасса сеголеток, т
Бугазский лиман	430	5,6	6,7	1,5
Лиман Цокур	71	0,27	5,8	1,57
Кизилташский лиман	1610	22,67	8,4	190
Витязевский лиман	1920	12,1	8,7	105
Озеро Ханское	5370	58,0	9,2	533,6

В результате проведенных исследований было сделано следующее заключение:

Естественное размножение пиленгаса отмечалось не только на акваториях Черного и Азовского морей, но и с высокой эффективностью на акваториях лиманов и в придаточных водоемах с пониженной соленостью. Продуктивность изученных водоемов позволяла обеспечить не только пополнение естественной промысловой популяции, но и потребности в зарыблении водоемов аквакультуры, а также интродукционные мероприятия в других регионах. Наиболее перспективными водоемами такого комплексного назначения были оз. Ханское и Витязевский лиман. Для максимального раскрытия рыбохозяйственного потенциала этих водоемов было рекомендовано закрепление их за едиными пользователями, заинтересованными в долговременном стабильном характере их рациональной эксплуатации. Для оз. Ханского представлялось обоснованным создание искусственно регулируемого гирла для обеспечения захода морских производителей и своевременного ската молоди, а также предотвращения проникновения хищных желетелых форм в водоем. Витязевский лиман являлся естественным потенциально высокопродуктивным пиленгасным водоемом для обеспечения прудовой и интродукционной аквакультуры пиленгаса в Южном Федеральном округе. Для использования его воспроизводственного потенциала необходим минимальный набор инвестиционных и иных мероприятий.

ГЛАВА 8

Эколого-генетическая изменчивость популяции пиленгаса Азово-Черноморского бассейна по морфометрическим признакам и белковому полиморфизму

6.1 Анализ морфометрической изменчивости популяции пиленгаса в зависимости от солености

Генетически обусловленная изменчивость полигенных признаков пиленгаса в ее наиболее существенных чертах может быть описана путем проведения комплексного морфометрического анализа популяции. Это предполагает общую характеристику морфометрических индексов, выделение наиболее информативного их комплекса и проведение сравнительного анализа его изменчивости в изучаемых группах пиленгаса.

Существенной методической трудностью изучения морфогенетической структуры популяций является минимизация влияния изменчивости, определяемой непосредственными условиями обитания каждой данной особи. Такого рода изменчивость препятствует выявлению и анализу генотипической структуры, маскируя ее особенности эпигенетическими корреляциями. В действительности фенотипические различия между организмами определяются, с одной стороны, их наследственными особенностями, с другой — экологическими факторами. Т.е. особенности среды могут влиять на морфометрические показатели двояко — или непосредственно, или опосредованно через генотип, как уже закрепленные в нем на протяжении предыдущих поколений. В связи с этим задача морфометрического анализа состоит в том, чтобы элиминировать непосредственное влияние факторов среды на фенотип и выявить то влияние, которое отражено в генотипе.

Первоначально в схему морфометрического анализа было включено 22 морфометрических признака, преобразованных в 21 индекс. Каждый из индексов выражает величину признака в долях единицы по отношению к длине рыбы (ab)

или к длине головы (для признаков головы *an*, *np*, *po*, *lm*). Их средние значения и показатели варьирования приведены в табл. 29. Наиболее вариабельными индексами у пиленгаса являются длина основания и высота спинного плавника, длина рыла, длина анального плавника. В целом вариабельность индексов была невелика, в пределах 5–6 % и лишь в редких случаях превышала 10 %.

Таблица 29. Средние значения метрических индексов пиленгаса и их показатели вариации

№ п/п	Индекс		Среднее индекса, %	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
	название	обозначение			
1.	Длина по Смиту	<i>ac</i>	99,13	0,60	0,6
2.	Длина без С	<i>ad</i>	91,40	0,81	0,9
3.	Длина туловища	<i>od</i>	73,06	1,19	1,6
4.	Длина рыла	<i>an</i>	18,87	2,14	11,3
5.	Диаметр глаза	<i>np</i>	12,58	1,11	8,8
6.	Заглазничный отдел	<i>po</i>	67,80	2,48	3,7
7.	Длина головы	<i>ao</i>	19,72	0,61	3,1
8.	Высота головы у затылка	<i>lm</i>	64,56	2,64	4,1
9.	Наибольшая высота тела	<i>gh</i>	17,78	0,88	4,9
10.	Наименьшая высота тела	<i>ik</i>	9,22	0,38	4,1
11.	Антедорсальное расстояние	<i>aq</i>	40,99	1,10	2,7
12.	Постдорсальное расстояние	<i>rd</i>	45,62	1,80	3,9
13.	Длина хвостового стебля	<i>fd</i>	20,84	1,01	4,8
14.	Длина основания D	<i>qs</i>	7,18	1,24	17,3
15.	Наибольшая высота D	<i>tu</i>	11,26	0,92	8,2
16.	Длина основания A	<i>yy1</i>	8,91	0,58	6,5
17.	Наибольшая высота A	<i>yj</i>	10,38	0,59	5,7
18.	Длина P	<i>vx</i>	14,48	0,79	5,5
19.	Длина V	<i>zz1</i>	11,98	0,48	4,0
20.	Расстояние между P и V	<i>vz</i>	14,91	0,76	5,1
21.	Расстояние между V и A	<i>zy</i>	31,77	1,34	4,2

Примечание: Основные обозначения плавников: С — хвостовой, P — грудной, V — брюшной, A — анальный, D и D₂ — первый и второй спинные плавники

При использовании комплексного морфометрического анализа для изучения структуры пиленгаса мы неизбежно сталкиваемся с проблемой определения информативного комплекса признаков по значениям их индексов.

Применительно к нашим задачам можно определить два основных требования к информативности — минимум средней компоненты в структуре изменчивости признаков и максимум вклада признаков в характеристику объекта (особи). Первое требование было реализовано посредством преобразования признаков в индексы. Выполнение второго требования было решено с помощью пошагового дискриминантного анализа выборок рыб путем последовательного отбора индексов с наибольшими значениями статистики F-удаления и дискриминантных коэффициентов. Применение статистических критериев для отбора признаков в каждой отдельной выборке может повлечь за собой выделение различного их набора в силу качественных различий между изучаемыми выборками. Во избежание этого был выделен информативный комплекс признаков во всей совокупности выборок.

В *табл. 30* показаны статистические характеристики шести наиболее информативных индексов, полученных в результате анализа суммарной выборки пиленгаса.

Таблица 30. Статистические характеристики наиболее значимых индексов, отобранных пошаговым дискриминантным анализом

Индексы	Статистика F-удаления	Значимость	Толерантность	Лямбда-Уилкса
<i>po</i>	31,66	<0,001	0,837	0,178
<i>gh</i>	20,81	<0,001	0,433	0,162
<i>ao</i>	10,6	<0,001	0,618	0,147
<i>tu</i>	8,4	<0,001	0,721	0,144
<i>lk</i>	6,46	0,002	0,636	0,141
<i>fd</i>	6,45	0,002	0,691	0,141

По Ким Дж.О. с соавторами (1989) статистика F-удаления оценивает значимость ухудшения различия групп после удаления индекса из списка. Толерантность равна единице минус квадрат множественной корреляции между индексом и всеми другими отобранными индексами и учитывает взаимную коррелированность индексов. Индексы с толерантностью, близкой к нулю, не дают новой информации. Критерий Лямбда-Уилкса учитывает как различия между группами, так и когезивность (плотность, компактность) каждой группы. Чем меньше значение критерия Лямбда-Уилкса, тем более однородны и компактны группы и тем лучше они различимы.

Структура средних и корреляций индексов в выборках. Использование нормированных к длине рыбы признаков (индексов) позволяет нивелировать существенную часть влияния среды и различий в темпе роста (Черепанов, 1986). В сущности, индексы отображают аллометрические характеристики в пределах нормы реакции вида. Поэтому представлялось важным сравнить как средние их величины, так и корреляционную структуру в выборках пиленгаса. На *рис. 68* показана степень варьирования и различий индексов по выборкам. Из него видно, что индексы в большинстве случаев хорошо различаются. Анализ различий по *t*-критерию показывает следующую картину. Выборка из Азовского моря достоверно отличается от выборки из Керченского пролива только по индексу *po*, а от выборки из оз. Ханское — по всем индексам. Различия между Керченским проливом и оз. Ханское также высокодостоверные по всем индексам, за исключением *fd*.

Более информативным показателем различий в характере индивидуального развития организмов в группах является корреляционная структура индексов, которая отражает тенденции аллометрического роста в пределах нормы реакции.

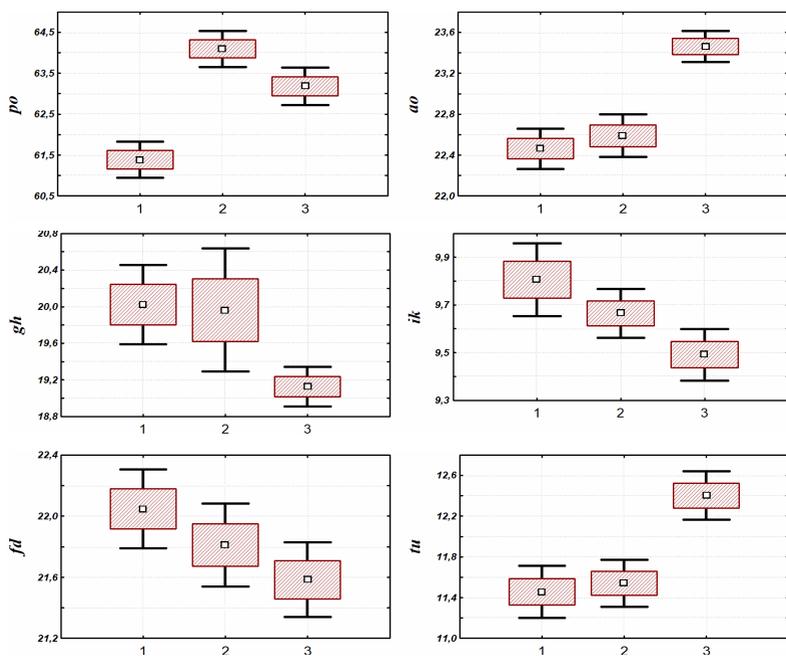


Рис. 68. Различия и степень варьирования морфометрических индексов в выборках пиленгаса:

1 — Азовское море, 2 — Керченский пролив, 3 — оз. Ханское

□ — среднее, — ошибка среднего, — 1,96 ошибки среднего

В табл. 31 приведены коэффициенты корреляции между индексами. По выборкам число значимых корреляций варьировало от 3 до 5. Графическое представление значимых связей между признаками дает более наглядную картину различий между выборками пиленгаса (рис. 69). Наблюдаемые различия в системе корреляций индексов отражают групповые особенности пиленгаса, обитающего в акваториях разной солености. Этот факт является важным для дальнейшего исследования структуры популяции. Система связей индексов является категорией группы особей и доступна для изучения только на группе. Однако ее реализация опосредована через индивидуальные соотношения индексов у каждой осо-

би в группе. Путь к определению положения каждой особи относительно других в группе и самих групп относительно друг друга открывается посредством построения линейных комбинаций в дискриминантном анализе.

Таблица 31. Матрицы парных коэффициентов корреляции индексов в выборках пиленгаса

Азовское море						
Индексы	<i>po</i>	<i>ao</i>	<i>gh</i>	<i>ik</i>	<i>fd</i>	<i>tu</i>
<i>po</i>	1,00	0,23	0,16	-0,04	0,30*	0,06
<i>ao</i>		1,00	0,26	0,16	0,20	0,36*
<i>gh</i>			1,00	0,59*	0,06	0,22
<i>ik</i>				1,00	-0,22	0,15
<i>fd</i>					1,00	0,12
<i>tu</i>						1,00
Керченский пролив						
Индексы	<i>po</i>	<i>ao</i>	<i>gh</i>	<i>ik</i>	<i>fd</i>	<i>tu</i>
<i>po</i>	1,00	0,06	0,09	0,06	-0,14	-0,05
<i>ao</i>		1,00	0,31*	0,41*	-0,12	0,30*
<i>gh</i>			1,00	0,36*	-0,19	0,12
<i>ik</i>				1,00	0,19	0,38*
<i>fd</i>					1,00	-0,04
<i>tu</i>						1,00
Оз. Ханское						
Индексы	<i>po</i>	<i>ao</i>	<i>gh</i>	<i>ik</i>	<i>fd</i>	<i>tu</i>
<i>po</i>	1,00	-0,33*	0,06	-0,15	-0,00	0,03
<i>ao</i>		1,00	0,26	0,31*	-0,16	0,23
<i>gh</i>			1,00	0,47*	-0,15	0,12
<i>ik</i>				1,00	-0,05	0,02
<i>fd</i>					1,00	-0,26
<i>tu</i>						1,00

Примечание: *Статистически значимые ($p < 0,05$) коэффициенты

между группами пиленгаса из акваторий с различной соленостью относительно внутригрупповых, дает возможность оценить различия между выборками в целом. Анализ проводили по тем же шести индексам, которые были выделены как наиболее информативные. В результате были получены две канонические дискриминантные функции (КДФ) следующего вида:

Анализ различий между выборками по многомерному комплексу индексов. Различия в системе средних значений индексов и их корреляций между группами пиленгаса позволяет перейти к анализу групп по многомерному комплексу индексов. В данном случае дискриминантный анализ представляется оптимальным методом для решения этой задачи. Построение линейной комбинации морфометрических индексов (дискриминантной функции), которая максимизирует различия

$$\text{КД}\Phi_1 = -0,265po - 1,046ao + 0,212gh + 0,842ik + 0,266fd - 0,395tu + 27,089$$

$$\text{КД}\Phi_2 = 0,556po - 0,519ao + 0,073gh + 0,261ik + 0,077fd - 0,267tu - 22,261.$$

Первая из них описывает 71,9 % общей дисперсии, вторая — 28,1 %. Распределение выборок пиленгаса в пространстве этих функций показано на рис. 70. Масштаб осей рисунка отражает вклад дискриминантных функций в описываемую дисперсию.

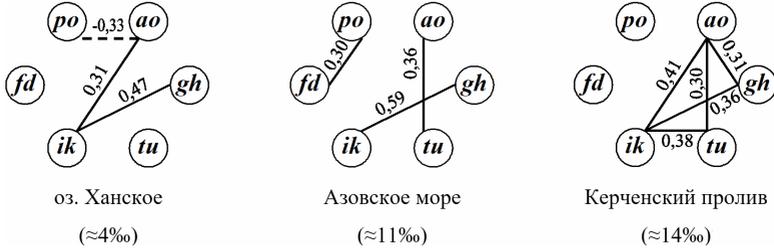


Рис. 69. Корреляционная структура морфометрических индексов в выборках пиленгаса из акваторий разной солености. Сплошная линия — положительная связь, пунктирная — отрицательная

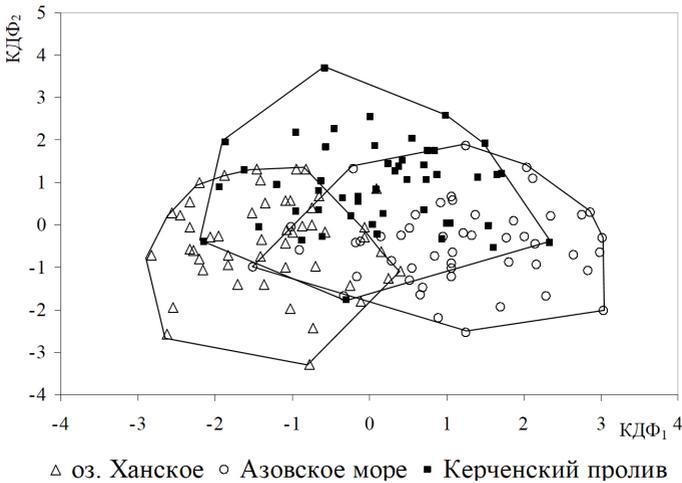


Рис. 70. Распределение выборок пиленгаса в пространстве двух дискриминантных функций

В *табл. 32* представлены результаты классификации особей пиленгаса по выборкам. Очевидно, что выборки довольно хорошо различимы. Лучшие результаты классификации отмечаются для выборки из оз. Ханское (78 %). В среднем 74 % особей корректно классифицируются по принадлежности к своим местам обитания. Это обстоятельство позволяет полагать, что анализируемая изменчивость по комплексу морфометрических индексов в значительной мере определяется структурой генотипического состава изучаемых групп пиленгаса. При этом нечеткость границ при классификации морфотипов вполне объяснима отсутствием изолирующих барьеров в пределах ареала, высоким миграционным потенциалом пиленгаса и очень малым эволюционным возрастом его популяции (около 20 лет).

Таблица 32. Классификационная матрица

Выборки пиленгаса	Количество классифицируемых особей, экз.			Процент корректно классифицируемых особей
	Азовское море	Керченский пролив	оз. Ханское	
Азовское море	36	7	7	72
Керченский пролив	6	36	8	72
Оз. Ханское	4	7	39	78
Суммарно	46	50	54	74

Для оценки общих морфометрических различий между выборками целесообразно использовать метрику расстояния Махаланобиса, которая является обобщенной мерой между выборками по комплексу индексов с учетом групповой дисперсии (Ким и др., 1989). В *табл. 33* приведены результаты расчета этого расстояния по шести индексам, из которой видно, что все определенные расстояния высокодостоверные. Минимальное расстояние отмечено между выборками из

Керченского пролива и Азовского моря, а максимальное — между выборками из оз. Ханское и Азовского моря.

Приведенные результаты комплексного морфометрического анализа свидетельствуют о наличии статистически достоверных различий между изучаемыми выборками пиленгаса как в структуре средних индексов и их корреляций, так и по многомерному их комплексу. Это может служить указанием на структурированность популяции пиленгаса, выражающуюся, в частности, в упорядоченной изменчивости морфометрических признаков. Таким образом, представляется возможным выделение (анализ) в популяции групп особей со сходно организованной упорядоченной изменчивостью. Реализация этой возможности и явилась следующей задачей исследования.

Таблица 33. Морфометрические расстояния (квадрат расстояния Махаланобиса) между центрами изучаемых выборок пиленгаса

Выборки пиленгаса	Азовское море	Керченский пролив	оз. Ханское
Азовское море		3,170	6,242
Керченский пролив	<0,001		3,657
оз. Ханское	<0,001	<0,001	

Примечание: Выше главной диагонали приведены расстояния, ниже — вероятность нуль-гипотезы об отсутствии межвыборочных различий

6.2 Анализ фенотипической изменчивости структурных компонентов популяции пиленгаса

Несомненный интерес в изучении природных популяций представляет генетически обусловленная изменчивость полигенных признаков, составляющих адаптивный комплекс организмов. Их изучение требует не только выявления отдельных генов, но и адекватного описания структуры фенотипа (генотипа). Биологические основы такого подхода к ана-

лизу внутривнутрипопуляционной изменчивости определены еще в работе И.И. Шмальгаузена «Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии» (1982). В соответствии с изложенным им подходом фенотип может рассматриваться как совокупность взаимосвязанных структур и функций.

Принцип функционально-системной организации состоит также и в том, что все признаки организма сгруппированы в конечное число функциональных систем. Как в генотипе функционирующей единицей является ген, так в фенотипе функционально-приспособительной единицей выступает функциональная система; число таких систем не бесконечно и изменяется в процессе эволюции (Черепанов, 1986).

Фенотипические признаки организованы в системно-функциональные комплексы, развитие которых строго канализируется генотипом. Этим определяется возможность выделения групп организмов со сходно организованными фенотипическими структурами (приблизительно отражающими сходные генотипы) в популяции, т.е. анализ ее генетической структуры. Широкие возможности для такого подхода предоставляет системный морфометрический анализ, методология которого хорошо разработана (Волчков, 1994). Исходная гипотеза нашего исследования структуры популяции состоит в следующем. Поскольку адаптивная радиация пиленгаса в Азовском море обеспечивается способностью к нересту в широких пределах солености, то вероятный механизм такой адаптации можно объяснить структурными элементами популяции, которые предпочитают различную соленость. При этом разнонаправленные компоненты, мигрирующие к большей или меньшей солености, будут иметь существенные различия. Исходные преднерестовые скопления в Азовском море должны состоять из гетерогенной смеси этих компонентов и занимать промежуточное положение. Поэтому, преднерестовые скопления могут служить основой для сравнения с другими группами рыб.

Выявление фенотипических структурных компонентов популяции и их анализ

Выявление и анализ фенотипических структурных компонентов популяции включали выделение фенотипических групп (морфотипов) как структурных элементов популяции пиленгаса; характеристику внутрипопуляционных различий и сходства фенотипических групп (морфотипов), составляющих популяцию, по корреляционной структуре и средним значениям признаков; описание элементов динамики структурных компонентов популяции пиленгаса; оценку обоснованности используемых статистических решений. Первая задача решалась с помощью иерархической классификации с последующей оценкой оптимального числа кластеров методом, использующим логику графика «каменистой осыпи» в факторном анализе (Ким и др., 1989). Для кластеризации был применен метод Уорда, который отличается от других методов тем, что использует дисперсионный анализ при оценке расстояний между кластерами. Метод минимизирует сумму квадратов внутригрупповых расстояний для любых двух (гипотетических) кластеров, которые могут быть сформированы на каждом шаге.

На *рис. 71* представлен график зависимости коэффициента слияния от шага кластеризации. Стрелка показывает место перегиба, определяющего величину коэффициента слияния, на котором процесс выделения кластеров целесообразно прекратить, так как дальнейшее слияние кластеров не дает новой информации.

На *рис. 72* показано дерево классификации для выборки пиленгаса из Темрюкского залива, на котором значение коэффициента слияния показывает линия разреза, проходящая через три ветви, характеризующая этим оптимальное число кластеров, подлежащих выделению. Аналогичный анализ выборок из Керенского пролива, Черного моря и оз. Ханского определил оптимальное число кластеров, равное трем.

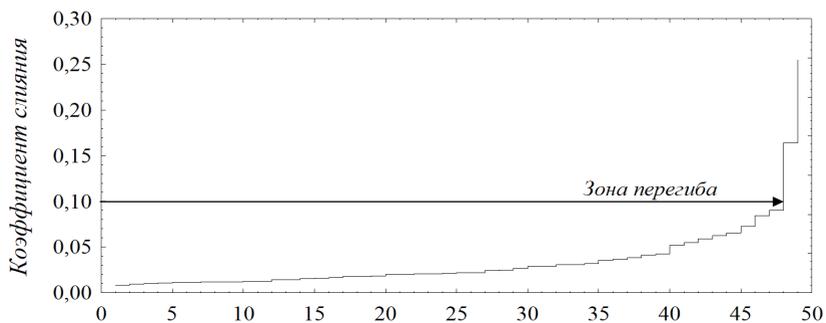


Рис. 71. График зависимости коэффициента слияния от шага кластеризации по данным анализа выборки пиленгаса из Темрюкского залива («каменистая осель»)

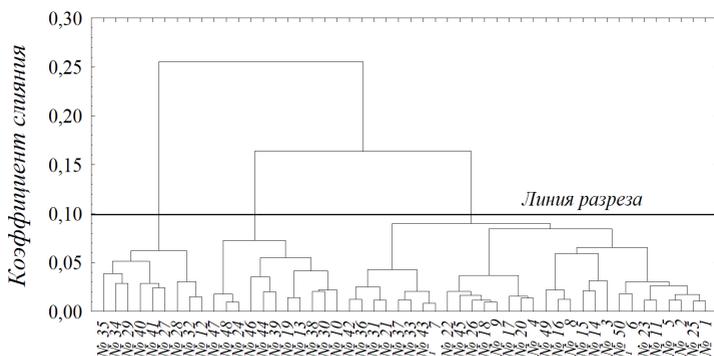


Рис. 72. Результат кластеризации выборки пиленгаса из Темрюкского залива методом Уорда

На основе определения числа выделяемых кластеров (морфотипов), для изучения структуры выборок пиленгаса был использован более мощный итеративный метод *k*-средних. В нашем случае он предпочтительнее, т.к. не создает иерархии, которая не присуща анализируемым данным. С вычислительной точки зрения этот метод можно рассматривать как дисперсионный анализ «наоборот» (Ким и др., 1989). Суть метода состоит в том, что он формирует кластеры так, чтобы внутрикластерная изменчивость была

минимальной, а межкластерная принимала наибольшие возможные значения. Данный способ аналогичен методу «дисперсионный анализ наоборот» в том смысле, что критерий значимости в дисперсионном анализе сравнивает межгрупповую изменчивость с внутригрупповой при проверке гипотезы о том, что средние в группах отличаются друг от друга. Кластеризация методом k -средних достигается перемещением объектов из одних групп (кластеров) в другие с тем, чтобы получить наиболее значимый результат при проведении дисперсионного анализа.

Результаты кластерного анализа выборок пиленгаса методом k -средних, включающие средние индексы каждого кластера и статистические характеристики индексов, на основании которых проведено выделение морфотипов пиленгаса, представлены в табл. 34–37.

Значения F -критерия проанализированных индексов, которые являются индикаторами того, насколько хорошо соответствующий индекс дискриминирует кластеры, сопоставлены по выборкам из разных мест обитания на рис. 73. На рисунке видно, что основной вклад в разделение изученных выборок внесли индексы po и gh .

Таблица 34. Результаты кластерного анализа по выборке пиленгаса из Черного моря ($n=119$)

Индекс	Кластер № 1 ($n=36$)	Кластер № 2 ($n=40$)	Кластер № 3 ($n=43$)	Дисперсия		F -критерий	Уровень значимости
				межгрупповая	внутригрупповая		
po	0,6052	0,6461	0,6331	0,0328	0,0226	84,0753	0,0000
ao	0,2200	0,2228	0,2246	0,0004	0,0055	4,4740	0,0134
gh	0,2092	0,2001	0,2327	0,0236	0,0199	8,8974	0,0000
ik	0,0968	0,0960	0,0988	0,0002	0,0023	4,3624	0,0149
fd	0,2170	0,2152	0,2150	0,0001	0,0084	0,6457	0,5262
tu	0,1100	0,1082	0,1121	0,0003	0,0090	2,0712	0,1307

Таблица 35. Результаты кластерного анализа по выборке пиленгаса из Азовского моря (Темрюкский залив, $n=50$)

Индекс	Кластер № 1 ($n=9$)	Кластер № 2 ($n=28$)	Кластер № 3 ($n=13$)	Дисперсия		F-критерий	Уровень значимости
				меж-групповая	внутри-групповая		
<i>po</i>	0,6327	0,6156	0,5971	0,0069	0,0055	9,4408	0,0000
<i>ao</i>	0,2331	0,2232	0,2219	0,0008	0,0017	1,2373	0,0001
<i>gh</i>	0,2204	0,1903	0,2076	0,0071	0,0049	4,2974	0,0000
<i>ik</i>	0,1023	0,0956	0,1004	0,0004	0,0011	8,9648	0,0005
<i>fd</i>	0,2242	0,2217	0,2153	0,0005	0,0037	3,2981	0,0457
<i>tu</i>	0,1214	0,1124	0,1145	0,0006	0,0035	3,6993	0,0322

Таблица 36. Результаты кластерного анализа по выборке пиленгаса из Керченского пролива ($n=50$)

Индекс	Кластер № 1 ($n=25$)	Кластер № 2 ($n=14$)	Кластер № 3 ($n=11$)	Дисперсия		F-критерий	Уровень значимости
				меж-групповая	внутри-групповая		
<i>po</i>	0,6474	0,6275	0,6434	0,0036	0,0088	9,7002	0,0003
<i>ao</i>	0,2280	0,2238	0,2238	0,0002	0,0025	2,0283	0,1429
<i>gh</i>	0,2176	0,1906	0,1704	0,0186	0,0102	42,9815	0,0000
<i>ik</i>	0,0981	0,0954	0,0950	0,0001	0,0006	4,2564	0,0200
<i>fd</i>	0,2151	0,2242	0,2172	0,0008	0,0039	4,6323	0,0146
<i>tu</i>	0,1165	0,1171	0,1108	0,0003	0,0030	2,3496	0,1065

Таблица 37. Результаты кластерного анализа по выборке пиленгаса из оз. Ханское ($n=50$)

Индекс	Кластер № 1 ($n=23$)	Кластер № 2 ($n=18$)	Кластер № 3 ($n=9$)	Дисперсия		F-критерий	Уровень значимости
				меж-групповая	внутри-групповая		
<i>po</i>	0,6294	0,6477	0,6062	0,0106	0,0026	94,3572	0,0000
<i>ao</i>	0,2353	0,2328	0,2366	0,0001	0,0014	1,7181	0,1905
<i>gh</i>	0,1924	0,1900	0,1909	0,0001	0,0029	0,4930	0,6139
<i>ik</i>	0,0954	0,0938	0,0960	0,0000	0,0007	1,2789	0,2879
<i>fd</i>	0,2162	0,2149	0,2168	0,0000	0,0038	0,1586	0,8538
<i>tu</i>	0,1216	0,1257	0,1270	0,0003	0,0034	1,8499	0,1685

Полученные нами кластеры отражают морфогенетическую структуру отдельных выборок пиленгаса. Учитывая, что выборка из Темрюкского залива представляет собой преднерестовое скопление пиленгаса, состоящее из гетерогенной смеси рыб, еще не вовлеченных в нерестовую миграцию, есть все основания использовать эту группу в качестве обучающей выборки для классификации всей совокупности кластеров (морфотипов).

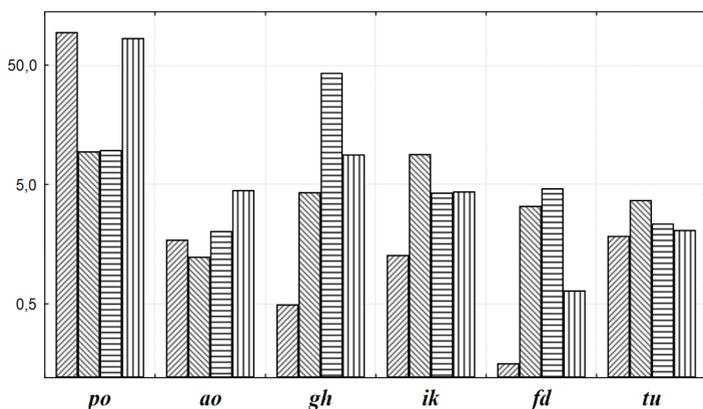


Рис. 73. Значения *F*-критерия проанализированных индексов в изученных выборках пиленгаса:

 — оз. Ханское,
  — Азовское море,
  — Керченский пролив,
  — Черное море

Наиболее приемлемым методом оценки идентичности морфотипов и определения расстояний между ними является дискриминантный анализ. На *рис. 74* показано распределение полученных кластеров (морфотипов) в пространстве двух дискриминантных функций обучающей выборки из Темрюкского залива Азовского моря (АМ). Учитывая близость двух исходных морфотипов (АМ-2 и АМ-3), они были объединены в единый кластер (морфотип), условно обозначенный как «азовский». Кластеры, аналогичные морфотипу АМ-1, были объединены под названием «черноморский» морфотип.

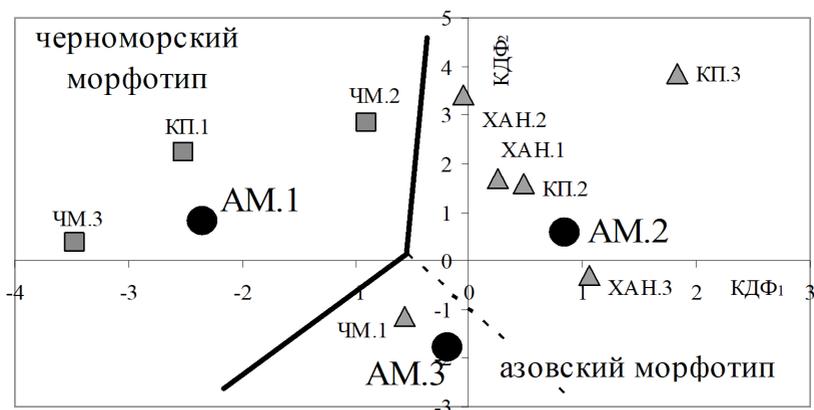


Рис. 74. Ординация кластеров в пространстве двух дискриминантных функций (ДФ) обучающей выборки из Азовского моря (Темрюкский залив). АМ.1, АМ.2, АМ.3 — центроиды кластеров Азовского моря

По результатам классификации выборок в «азовский» морфотип вошли кластеры АМ-2, АМ-3, ЧМ-1, КП-2, КП-3, ХАН-1, ХАН-2, ХАН-3; в «черноморский» — ЧМ-2, ЧМ-3, КП-1. Одной из важнейших морфологических характеристик, определяемых генотипом, является система корреляций признаков. С учетом того, что исследуются нормированные к длине признаки, корреляции между ними отражают аллометрический рост в пределах нормы реакции. Объединение перечисленных выше кластеров в морфотипы, анализ корреляции между индексами в каждом из них позволяет выявить различную специфику, в значительной мере определяемую структурой адаптивного генотипа (табл. 32).

Как видно из табл. 38, для 12 из 15 возможных сочетаний признаков для черноморского морфотипа отмечаются значимые коррелятивные связи. В то же время для азовского морфотипа отмечаются только три значимых корреляции. При этом только одна зависимость повторяется для обоих морфотипов, хотя в большей степени она выражена для азовского морфотипа. Наблюдаемые различия в корреляционной

структуре морфотипов отражают экологическую направленность в отношении адаптации пиленгаса к отличающимся диапазонам солености.

Таблица 38. Коэффициенты корреляции морфометрических индексов (выше диагонали «черноморский» морфотип, $n=101$, ниже — «азовский», $n=199$)

Индекс	<i>po</i>	<i>ao</i>	<i>gh</i>	<i>ik</i>	<i>fd</i>	<i>tu</i>
<i>po</i>		-0,23*	-0,35*	0,22*	0,26*	0,41*
<i>ao</i>	-0,00		0,40*	0,09	-0,26*	0,10
<i>gh</i>	0,01	-0,10		0,21*	-0,22*	-0,09
<i>ik</i>	-0,11	-0,02	0,44*		0,20*	0,38*
<i>fd</i>	-0,10	-0,03	-0,07	-0,05		0,27*
<i>tu</i>	-0,10	0,50*	-0,16*	-0,11	0,01	

Примечание: *Значимые коэффициенты ($p < 0,05$)

Это подтверждается определением пропорций двух морфотипов пиленгаса в исследуемых районах, которое позволило выявить их соотношения, представленные на *рис. 75*. Доля морфотипов изменяется от полного преобладания одного морфотипа до преобладания другого в контрастных по солености акваториях.

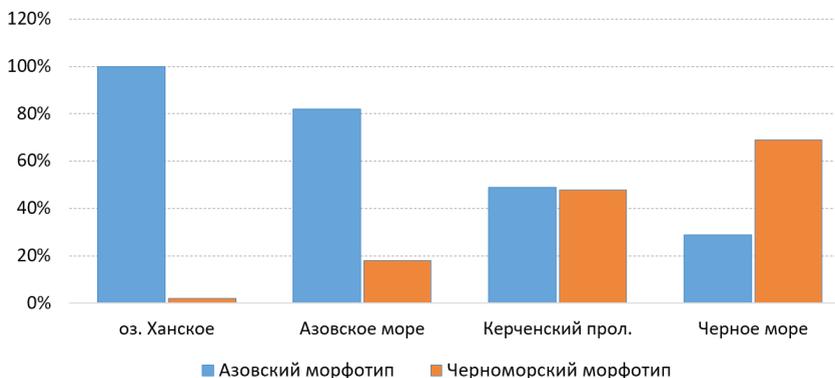


Рис. 75. Зависимость долей морфотипов пиленгаса в различных выборках от солености

Наблюдаемые пропорции морфотипов пиленгаса в преднерестовой части Азовского моря и в нерестовых скоплениях, выходящих в Черное море, позволяют оценить долю мигрантов из Азовского моря. Следует отметить, что исходные данные позволяют вычислить лишь их максимальную долю. Исходя из соотношения азовского и черноморского морфотипов в преднерестовой части в Темрюкском заливе Азовского моря (82:18) и в районе м. Железный рог (Черное море) в период нерестового хода (30:70) была рассчитана доля мигрантов. Если исходить из того, что все 18 % рыб «черноморского» морфотипа уходят из Азовского моря в Черное и там составляют 70 %, то остальные 30 % особей дополняются «азовским» морфотипом, количество которых составляет 8 % рыб группы Азовского моря (рис. 76). Следовательно, доля мигрантов составит с учетом выборочной ошибки доли 26 ± 4 % от преднерестового скопления в Азовском море. По всей видимости, данное соотношение носит временный характер и может изменяться под влиянием различных пространственно-временных и эколого-климатических факторов.

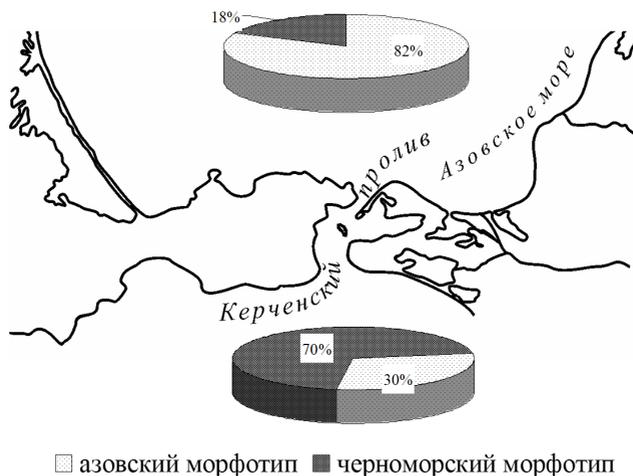


Рис. 76. Пропорции «азовского» и «черноморского» морфотипов в преднерестовых скоплениях в Азовском море (начало апреля) и во время нерестового хода в Черном море (конец мая – начало июня)

Классификация морфотипов основывается на обучающей выборке с известными центроидами распределения морфотипов и их границами в дискриминантном пространстве. Как было показано выше, такой подход позволил выделить фенотипические компоненты популяции. Методически это осуществлялось на основе анализа средних значений признаков в кластерах. Однако в дальнейшем дискриминантные уравнения обучающей выборки позволяют анализировать другие выборки пиленгаса, взятые в разное время, минуя этап их разделения на кластеры. Для этого каждая рыба из интересующей нас совокупности помещается в дискриминантное пространство обучающей выборки, где уже известны границы между выделенными морфотипами. На *рис. 77 и 78* показаны распределения особей пиленгаса из Керченского пролива и оз. Ханское, взятых в разные годы. Важным, на наш взгляд, выводом, вытекающим из этих результатов, является необходимость более частого наблюдения за процессом нерестового хода пиленгаса, для того чтобы оценить реальную долю мигрирующих рыб из Азовского в Черное море. Сравнение выборок пиленгаса из оз. Ханское (*рис. 77*), с выборками из Керченского пролива (*рис. 78*), где соленость значительно выше ($\approx 14 \text{ ‰}$), обнаруживает существенное превышение доли «черноморского» морфотипа в последних. При этом мы отмечаем, что в 2002 г. его доля значительно больше, чем в 2000 г. (*табл. 39*). Распределение рыб, взятых из оз. Ханское, показывает их принадлежность к «азовскому» морфотипу.

Возможными причинами увеличения доли «черноморского» морфотипа в районе Керченского пролива предположительно могут быть: а) промысловое изъятие в преднерестовый период «азовского» морфотипа; б) заход рыб в нерестовый период из Черного моря, обусловленный некоторым повышением солености в проливной и предпроливной части Азовского моря. Первый случай предполагает более высокую избирательность промысла по отношению к «азовскому» морфотипу. Принци-

пиально такая ситуация возможна, однако мы не имеем данных о морфогенетической структуре зимних и ранневесенних промысловых скоплений пиленгаса в Азовском море, что в свою очередь ставит задачу исследования этого вопроса.

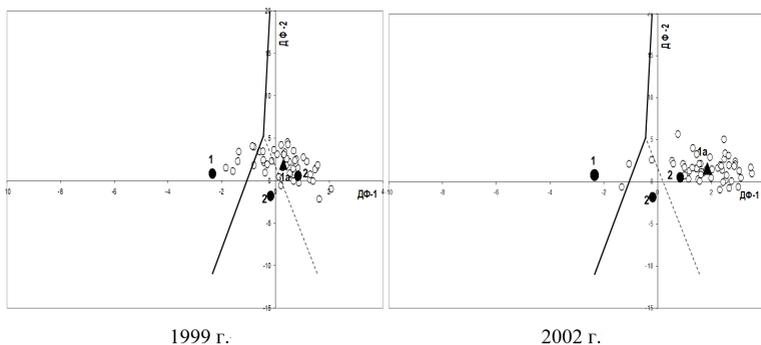


Рис. 77. Графики распределения пиленгаса из оз. Ханское в пространстве двух дискриминантных функций обучающей выборки. 1 — центрост «черноморского морфотипа», 2 — центросты «азовского» морфотипа, 1а — центросты анализируемых выборок пиленгаса. Сплошные линии разделяют «азовский» и «черноморский» морфотипы

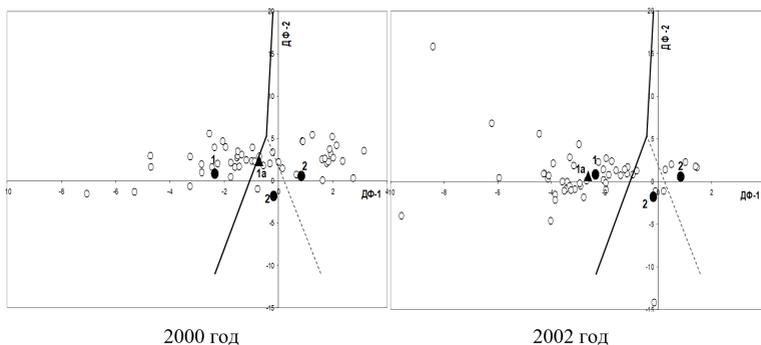


Рис. 78. Графики распределения пиленгаса из Керченского пролива в пространстве двух дискриминантных функций обучающей выборки. 1 — центрост «черноморского морфотипа», 2 — центросты «азовского» морфотипа, 1а — центросты анализируемых выборок пиленгаса. Сплошные линии разделяют «азовский» и «черноморский» морфотипы

Таблица 39. Процентные доли морфотипов пиленгаса

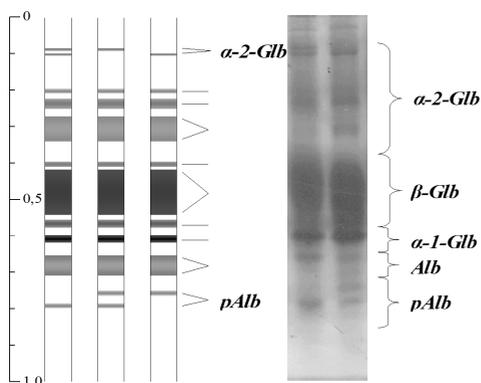
Выборки	Морфотипы		95 % доверительный интервал
	«азовский»	«черноморский»	
Керченский пролив, 2000 г.	50	50	±13,9
Керченский пролив, 2002 г.	18	82	±10,6
Оз. Ханское, 1999 г.	88	12	±9,0
Оз. Ханское, 2002 г.	96	4	±3,2

Следует отметить также, что нерестовый ход и уловы пиленгаса во время проведения исследований обычно характеризуются нестабильностью, определяемой погодными условиями, в частности, темпами прогрева воды и сгонно-нагонными явлениями, вызванными ветрами. С учетом этих факторов, для более определенного суждения о пропорциях морфотипов в нерестовый период в районе Керченского пролива необходимы более длительные систематические наблюдения в этом районе.

8.3 Биохимическая генетика пиленгаса

Сывороточные белки крови пиленгаса на основании их электрофоретической подвижности (ЭФП) условно разделяли на те же фракции, что и белки сыворотки крови человека (Цветненко, 1987): преальбумины с ЭФП 0,9–0,7, альбумины с ЭФП 0,7–0,6, альфа-1-глобулины с ЭФП 0,56–0,54, бетаглобулины с ЭФП 0,57–0,45, альфа-2-глобулины с ЭФП 0,36–0,09 и гаммаглобулины с ЭФП 0,09–0,01. Общее число компонентов сывороточных белков колебалось в пределах 14–18. Ввиду сложности спектра трудно установить общее число независимых генетических локусов, определяющих электрофоретическую множественность белков сыворотки крови. Поэтому мы произвели оценку минимального количества локусов по зонам. Всего выявлено десять таких зон с относительной электрофоретической подвижностью в пределах: 0,09–0,11; 0,20–0,21; 0,23–0,25; 0,28–0,35; 0,40–0,42; 0,43–0,54; 0,56–0,58; 0,60–0,62; 0,66–0,71; 0,76–0,80 (рис. 79).

Рис. 79. Схема фореграмм белков сыворотки крови



Наиболее удовлетворительно полиморфизм интерпретируется в зонах, обозначенных нами как продукты локусов *pAlb* и *α-2-Glb-4* с относительной подвижностью 0,09–0,11 и 0,76–0,80, соответственно. Условно полиморфные локусы обнаружены в зонах альбумина, бета-глобулина и альфа-2глобулина

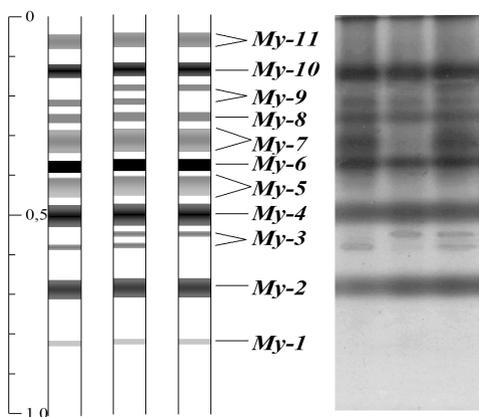
0,28–0,35; 0,56–0,58 и 0,66–0,71, соответственно.

Локус *pAlb* представлен двумя аллельными вариантами: быстрым «*a*» и медленным «*b*». Средние частоты аллелей соответственно равны 0,484 и 0,516. Гетерозиготный фенотип *ab* встречался с частотой 0,454.

Локус *α-2-Glb-4* также интерпретируется как диаллельная кодоминантная система. Нами были выявлены следующие средние частоты аллелей: для быстрого аллеля 0,791 и для медленного 0,209. Доля гетерозигот в совокупной выборке составила 0,406, что значительно превышает расчетную гетерозиготность.

Миогены. Всего в спектре миогенов белой мышцы обнаружены одиннадцать зон, которые характеризовались следующими значениями относительной электрофоретической подвижности: 0,05–0,08; 0,12–0,15; 0,17–0,21; 0,24–0,27; 0,28–0,34; 0,37–0,39; 0,40–0,45; 0,47–0,53; 0,55–0,58; 0,66–0,71; 0,81–0,82 (рис. 80). В пяти зонах наблюдалась индивидуальная изменчивость. Две полиморфные зоны были генетически интерпретированы как продукты кодоминантных диаллельных генов. В локусе *My-3* аллельные варианты име-

Рис. 80. Схема электрофоретических спектров миогенов пиленгаса



ют относительную подвижность 0,58 и 0,55, а средние частоты аллелей — 0,657 и 0,343, соответственно.

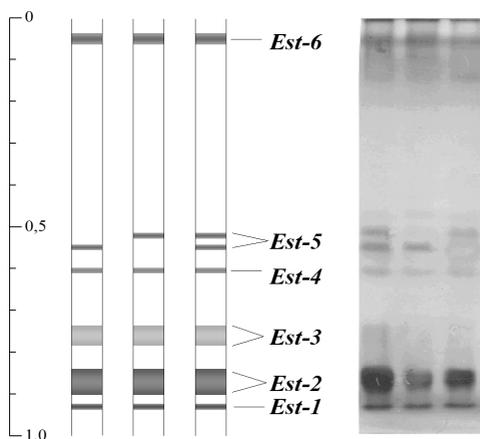
В зоне, обозначенной нами *My-9*, отмечаются 1–2 фракции с электрофоретической подвижностью 0,21 и 0,17. Эта зона была интерпретирована как продукт диаллельного гена со средней частотой аллеля «а» 0,822 и

аллеля «b» 0,178. В изучаемых выборках нами не было обнаружено гомозигот аллеля «b».

Остальные 6 фракций миогенов соответствуют продуктам восьми инвариантных локусов.

Эстеразы мышц. Эстеразы мышц были исследованы нами в выборках из оз. Ханское и Керченского пролива. Спектр неспецифических эстераз белых мышц пиленгаса представляет собой сложный полиферментный комплекс. Число фракций, выявляемых на зимограммах, около двенадцати. Ввиду сложности спектра трудно установить общее число независимых генетических локусов, определяющих электрофоретическую множественность этих ферментов. Поэтому мы произвели оценку минимального количества локусов по полиморфным зонам. Всего выявлено шесть таких зон с относительной электрофоретической подвижностью: 0,04–0,06; 0,51–0,55; 0,60–0,61; 0,74–0,79; 0,83–0,90; 0,93–0,94 (рис. 81). Наиболее удовлетворительно полиморфизм интерпретируется в зоне, обозначенной нами как продукт диаллельного кодоминантного локуса *Est-5*. Относительная подвижность компонентов «а»

Рис. 81. Схема электрофоретических спектров эстераз мышц пиленгаса



и «b» составляет 0,55 и 0,51, соответственно, а их частоты в совокупной выборке равны 0,567 и 0,433.

Зоны с электрофоретической подвижностью 0,83–0,90 и 0,74–0,79 были интерпретированы как условно полиморфные локусы. Остальные три зоны интерпретируются нами как продукты мономорфных локусов.

Супероксиддисмутаза (SOD). Этот фермент находится под контролем двух локусов, которые контролируют синтез митохондриальной и цитоплазматических форм, не имеющих ясной тканевой специфичности у большинства видов рыб (Кирпичников, 1987). У кефалей была исследована изменчивость локуса, кодирующего цитоплазматическую форму *sSOD*. Было установлено, что она проявляет низкий уровень изменчивости (Rossi et al., 1998). У пиленгаса зимограммы *sSOD* мышц по результатам наших исследований в лабораториях АзНИИРХ и ИОГен представлены одной фракцией. В АзНИИРХ относительная электрофоретическая подвижность фермента определена как 0,75. По всей видимости, генетический контроль цитоплазматической формы супероксиддисмутазы осуществляется одним локусом.

Малатдегидрогеназа (MDH). Фермент MDH встречается в тканях рыб в двух формах: цитоплазматической (s) и митохондриальной (m). Каждая из этих форм кодируется самостоятельными генами, а у ряда рыб двумя и даже тремя

генами. Полиморфные локусы MDH обнаружены у многих видов рыб (Кирпичников, 1987; Алтухов и др., 1997). Цитоплазматическая MDH мышц пиленгаса представлена на зимограммах тремя фракциями. По литературным данным фермент имеет димерную структуру. Видимо, быстрая и медленная фракции соответствуют двум локусам, а средняя — гетеродимеру. У некоторых особей отмечено увеличение активности быстрой и средней зон, которые, вероятно, вызываются изменчивостью локуса *MDH-2*. Однако, в силу невыясненной природы этой изменчивости, он условно отнесен нами к мономорфным.

Аспаратаминотрансфераза (ААТ). Изозимная система ААТ включает цитоплазматическую и митохондриальную форму, каждая из которых представлена продуктами нескольких локусов, специфичных для различных тканей (Алтухов и др., 1997). У лобана отмечены два полиморфных локуса. Продукты первого из них выявляются в печени, а второго — в мышцах (Rossi et al., 1998). В наших исследованиях локус *sAAT-1* был мономорфным. В локусе *sAAT-2* отмечены два аллеля. Гетерозиготы представлены тремя полосами, что свидетельствует о димерной структуре фермента.

Кислая фосфатаза (АСР). Кислая фосфатаза у пиленгаса представлена в ткани печени двумя зонами, первая из которых мигрирует к катоду и обозначена нами как локус *АСР-1*. Изменчивости по этому локусу не обнаружено. Вторая зона мигрирует к аноду, представлена несколькими полосами, генетическая интерпретация которых затруднена.

Алкогольдегидрогеназа (АДН). Выявлена в ткани печени пиленгаса. На зимограмме фермент представлен одной катодмигрирующей зоной активности с одной или тремя полосами. Для фермента, кодируемого этим локусом, как и для кодируемого локусом *AAT-2*, наиболее вероятно димерная

структура. В локусе выявлено два аллеля. Гомозигот по более быстрому аллелю обнаружено не было.

Эстераза-D (ESTD). Эстераза-D, расщепляющая эфирную связь искусственного флюорогенного субстрата, активна в тканях мышц, печени и в сыворотке крови. Кодировается одним полиморфным локусом. Полиморфизм по этому локусу широко распространен у разных видов рыб (Алтухов и др., 1997). Этот фермент у пиленгаса выявлен в печени. Представлен одной зоной активности. Фенотипы, идентифицируемые нами как гетерозиготы, имели три полосы, средняя из которых проявляла промежуточную подвижность и имела наибольшую активность. Два других фенотипа по подвижности были идентичны быстрой и медленной полосам гетерозигот. Этот локус идентифицируется нами как двухаллельный, кодирующий димерный фермент.

Формальдегиддегидрогеназа (FDHG). У лососевых отмечается в мышцах и в печени. Число аллелей варьирует от одного до трех (Алтухов и др., 1997). У пиленгаса выявлен в тканях мышц. На зимограммах проявляется одна зона активности с тремя фенотипами. По всей видимости, FDHG — это димерный фермент, кодируемый одним локусом с двумя аллелями.

Глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (G3PDH). Изменчивость по этому ферменту установлена при генетическом исследовании многих видов рыб. Число локусов, как правило, составляет 1–2 у диплоидных видов и достигает до 3–4 у тетраплоидных (Кирпичников, 1987). Нами обнаружена одна зона активности при анализе тканей мышц. Было выявлено 4 фенотипа. Характер распределения полос позволил предположить димерную структуру фермента, который кодируется тремя аллелями. Два из них встречаются с низкой частотой.

Глюкозо-6-фосфатизомераза (GPI). У всех рыб содержится не менее двух локусов, *A* и *B*. По литературным

данным, GPI изменчива у многих видов рыб (Кирпичников, 1987). У пиленгаса на всех зимограммах отмечается три полосы, которые, вероятно, являются проявлением трех мономорфных локусов этого димерного фермента.

Изоцитратдегидрогеназа (IDHP). Подобно ААТ имеет митохондриальную и цитоплазматическую формы. Каждая из форм кодируется двумя локусами (Кирпичников, 1987). У пиленгаса выявлены два локуса, оба мономорфны.

Лактатдегидрогеназа (LDH). Как и у млекопитающих, у рыб этот фермент имеет четвертичную структуру и является тетрамером. Число генов LDH в геноме рыбообразных и рыб варьирует от 1 до 5 (Кирпичников, 1987). У пиленгаса при анализе тканей мышц выявлена одна зона, не проявляющая изменчивости. Таким образом, локус *LDH*, экспрессирующийся в мышечной ткани, мономорфен.

Малик-энзим, или НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа (MEP). У лососевых и других рыб фермент присутствует в двух формах — митохондриальной и цитоплазматической. Этот фермент имеет тетрамерную четвертичную структуру (Кирпичников, 1987; Алтухов и др., 1997). У пиленгаса зона активности MEP очень изменчива, и, как и другие тетрамерные ферменты, малик-энзим демонстрирует широкий спектр изозимов у гетерозигот. Наблюдаемая картина объясняется присутствием пяти аллелей. В изученных выборках были выявлены 12 вариантов распределения изозимов из 15 возможных.

Манозофосфатизомераза (MPI). Этот фермент, близкий к GPI, был исследован у ряда видов лососевых рыб и у многих из них оказался полиморфным (Алтухов и др., 1997). У пиленгаса на зимограммах мышечной ткани он представлен одной мономорфной зоной. Таким образом, MPI кодируется одним инвариантным локусом с одним аллелем.

6-Фосфоглюконатдегидрогеназа (PGDH). У лососевых рыб кодируется одним недуплицированным локусом. Ак-

тивна во многих тканях. Полиморфна у многих видов лососей (Алтухов и др., 1997). У пиленгаса изменчивости по единственной зоне активности этого фермента выявлено не было. Как и в случае *MPI*, локус *PGDH* мономорфен.

Фосфоглюкомутаза (PGM). Один из первых ферментов, наряду с LDH, по которому была выявлена изменчивость у рыб. Этот фермент относится к числу наиболее полиморфных (Кирпичников, 1987). Зона активности PGM при анализе тканей печени и мышц пиленгаса представлена одной либо двумя полосами. Характер распределения полос свидетельствует о том, что фермент имеет мономерную структуру и кодируется локусом, содержащим два аллеля.

8.4 Эколого-генетические различия пиленгаса в акватории Азовского моря и прилегающих водоемов

Частоты генотипов особей из исследованных выборок пиленгаса, в последующем использованные нами для выявления генетических различий между этими группами, по разным локусам и выборкам варьировало от двух до одиннадцати. Соответствие наблюдаемых частот ожидаемым в предположении равновесия Харди-Вайнберга рассчитывалось нами с помощью теста χ^2 . Вероятность такого соответствия приведена в *табл. 40*. Представленные в ней данные свидетельствуют о том, что в подавляющем большинстве выборок наблюдаемые частоты фенотипов соответствуют теоретическим. Исключение составляют частоты аллелей локуса *Mu-9* выборки из оз. Ханское и частоты аллелей локуса *MEP* выборки из Азовского моря. В первом случае наблюдается избыток гетерозиготных вариантов, во втором — их недостаток. При анализе данных таблицы просматривается тенденция к меньшему соответствию частот аллелей особей из Азовского моря по сравнению с Керченским проливом и оз. Ханское.

Таблица 40. Вероятность соответствия распределения фенотипов при равновесии Харди-Вайнберга (p) в выборках пиленгаса

Локус	Оз. Ханское		Азовское море		Керченский пролив	
	число особей	p	число особей	p	число особей	p
<i>pAlb</i>	40	0,940	34	0,551	47	0,567
<i>a-2-Glb-1</i>	76	0,079	41	0,106	48	0,075
<i>My-3</i>	45	0,076	26	0,828	50	0,372
<i>My-9</i>	99	0,001	36	0,621	50	0,512
<i>EST-5</i>	82	0,130	–	–	38	0,949
<i>sAAT-2</i>	50	0,800	50	0,624	50	0,646
<i>ADH</i>	45	0,726	47	0,496	41	0,168
<i>ESTD</i>	50	0,995	49	0,801	50	0,564
<i>PGM</i>	50	0,995	50	0,944	50	0,782
<i>MEP</i>	50	0,720	50	0,031	50	0,961
<i>FDHG</i>	50	0,537	49	0,159	44	0,597
<i>G3PDH</i>	50	0,996	50	0,147	50	0,971

Анализ частот аллелей полиморфных локусов показывает большую степень изменчивости этого параметра (табл. 41). Так, частота аллеля *a* преальбумина составляет в выборке из оз. Ханское 0,613, примерно столько же (0,662) среди пойманных в Азовском море рыб, и почти в три раза меньше при анализе выборки рыб из Керченского пролива — 0,245. Примером постепенного изменения частот аллелей может служить локус *MEP*. Частота его наиболее распространенного аллеля составляет в упомянутом выше направлении: от 0,560 в оз. Ханское до 0,720 в Керченском проливе с промежуточным значением 0,670 в Азовском море. Но не всегда частоты аллелей в выборке пиленгаса из Азовского моря занимают промежуточные значения, например, по локусу эстеразы Д частота наиболее распространенного аллеля составляет 0,837, заметно превосходя обе другие группы пиленгаса.

Таблица 41. Частоты аллелей полиморфных локусов в выборках пиленгаса

Локус	Аллель	Частоты аллелей в выборках		
		Оз. Ханское	Азовское море	Керченский пролив
<i>pAlb</i>	a	0,613	0,662	0,245
	b	0,388	0,338	0,755
<i>α-2-Glb-1</i>	a	0,829	0,793	0,729
	b	0,171	0,207	0,271
<i>My-3</i>	a	0,722	0,731	0,560
	b	0,278	0,269	0,440
<i>My-9</i>	a	0,742	0,917	0,910
	b	0,258	0,083	0,090
<i>EST-5</i>	a	0,524	–	0,711
	b	0,476	–	0,290
<i>sAAT-2</i>	60	0,040	0,070	0,120
	100	0,960	0,930	0,880
<i>ADH</i>	-100	0,944	0,904	0,817
	-500	0,056	0,096	0,183
<i>ESTD</i>	100	0,680	0,837	0,720
	115	0,320	0,163	0,280
<i>PGM</i>	83	0,350	0,290	0,220
	100	0,650	0,710	0,780
<i>MEP</i>	100	0,560	0,670	0,720
	116	0,260	0,250	0,250
	126	0,050	0,060	0,020
	158	0,080	0,020	0,010
	176	0,050	0,000	0,000
<i>FDHG</i>	83	0,350	0,398	0,398
	100	0,650	0,602	0,602
<i>G3PDH</i>	20	0,020	0,000	0,040
	100	0,960	0,920	0,930
	300	0,020	0,080	0,030

В табл. 42, где представлены значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности из разных выборок пиленгаса, мы наблюдаем различные соотношения между этими показателями. В этом ряду выборок из разных мест обитания гетерозиготность может

как возрастать (*sAAT-2*), так и снижаться (*MEP*) или подчиняться другим закономерностям (*pAlb*, *FDHG*, *ADH*). Но в среднем гетерозиготность выборки из Азовского моря несколько ниже, чем выборки оз. Ханское и Керченского пролива. Возрастание гетерозиготности в рассматриваемом ряду во многом отражает снижение частоты наиболее распространенного аллеля указанного локуса, а снижение указывает на его увеличение. Наглядно различия в гетерозиготности по исследованным полиморфным локусам представлены на *рис. 82*, из которого видно, что в подавляющем большинстве случаев гетерозиготность по исследованным полиморфным локусам принимает максимальные значения в выборках из мест обитания с наибольшей и наименьшей соленостью.

Таблица 42. Значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности в выборках тиленгаса

Локус	Оз. Ханское		Азовское море		Керченский пролив	
	H_n	H_o	H_n	H_o	H_n	H_o
<i>pAlb</i>	0,475	0,475	0,500	0,448	0,404	0,370
<i>α-2-Glb-1</i>	0,342	0,284	0,415	0,329	0,500	0,395
<i>My-3</i>	0,511	0,401	0,385	0,394	0,560	0,493
<i>My-9</i>	0,515	0,383	0,167	0,153	0,180	0,164
<i>EST-5</i>	0,585	0,499	–	–	0,421	0,411
<i>sAAT-2</i>	0,080	0,077	0,140	0,130	0,200	0,211
<i>ADH</i>	0,111	0,105	0,192	0,173	0,366	0,299
<i>ESTD</i>	0,440	0,435	0,286	0,273	0,440	0,403
<i>PGM</i>	0,460	0,455	0,420	0,412	0,360	0,343
<i>MEP</i>	0,580	0,607	0,440	0,485	0,400	0,419
<i>FDHG</i>	0,420	0,455	0,388	0,479	0,523	0,479
<i>G3PDH</i>	0,080	0,078	0,120	0,147	0,140	0,133
Среднее	0,365±	0,341±	0,314±	0,311±	0,370±	0,337±
	0,056	0,054	0,041	0,043	0,043	0,037

Примечание: H_n — наблюдаемая гетерозиготность; H_o — гетерозиготность, ожидаемая при равновесии Харди-Вайнберга

При рассмотрении других показателей генетической изменчивости, связанных с гетерозиготностью (эффективное число

аллелей и информационный индекс Шеннона) подтверждает-ся наличие тенденции, отмеченной при рассмотрении гетеро-зиготности (табл. 43). При этом характер ее проявления со-падает с упомянутым выше. В среднем показатели n_e и I в выборке из Азовского моря ниже, чем в других выборках.

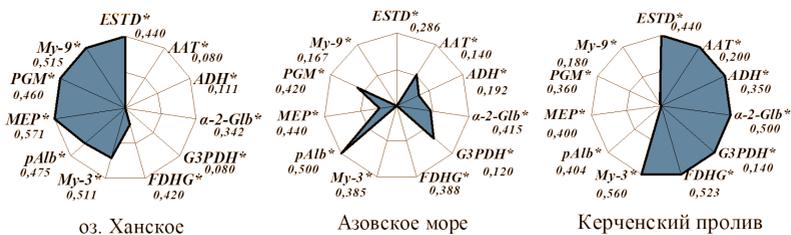


Рис. 82. Полигоны гетерозиготности полиморфных локусов пиленгаса (точки на радиусах образованы относительными значениями)

Таблица 43. Эффективное число аллелей и информационный индекс Шеннона исследованных полиморфных локусов в выборках пиленгаса

Локус	Оз. Ханское			Азовское море			Керченский пролив		
	n_a	n_e	I	n_a	n_e	I	n_a	n_e	I
<i>pAlb</i>	2	1,904	0,668	2	1,811	0,640	2	1,586	0,556
<i>α-2-Glb-1</i>	2	1,396	0,458	2	1,490	0,510	2	1,653	0,584
<i>My-3</i>	2	1,670	0,591	2	1,649	0,583	2	1,972	0,686
<i>My-9</i>	2	1,619	0,571	2	1,180	0,287	2	1,196	0,303
<i>EST-5</i>	2	1,995	0,692	—	—	—	2	1,699	0,602
<i>sAAT-2</i>	2	1,083	0,168	2	1,150	0,254	2	1,268	0,367
<i>ADH</i>	2	1,117	0,215	2	1,209	0,316	2	1,426	0,476
<i>ESTD</i>	2	1,771	0,627	2	1,376	0,445	2	1,676	0,593
<i>PGM</i>	2	1,835	0,647	2	1,700	0,602	2	1,523	0,527
<i>MEP</i>	5	2,547	1,177	4	1,940	0,862	4	1,720	0,707
<i>FDHG</i>	2	1,835	0,647	2	1,920	0,672	2	1,920	0,672
<i>G3PDH</i>	3	1,084	0,196	2	1,173	0,279	3	1,153	0,301
В среднем	2,364± 0,279	1,624± 0,133	0,542± 0,087	2,182± 0,182	1,509± 0,093	0,495± 0,059	2,273± 0,195	1,554± 0,083	0,525± 0,044

Примечание: n_a — наблюдаемое число аллелей; n_e — эффективное число аллелей, I — информационный индекс Шеннона

Для оценки степени генетической подразделенности популяции пиленгаса, обитающего на акватории Азовского моря и прилегающих водоемов, использовали показатели F -статистики Райта. Наибольший интерес из них представляют значения FST , которые, будучи мерой генетической подразделенности популяции, являются одновременно мерой инбридинга особей в субпопуляциях. В стационарных условиях эта статистика отражает баланс процессов дифференциации и интеграции популяционных генофондов (Wright, 1978).

Значения FST изучаемой популяции пиленгаса составляют в среднем $0,030 \pm 0,012$ (табл. 44), варьируя от 0,02 для локуса $FDHG$ до 0,139 для локуса $pAlb$. При допущении равновесия между дрейфом и миграцией генов по значению FST можно оценить значение параметра Nem , которое представляет собой произведение эффективной численности популяции и скорости миграции. Этот параметр служит мерой абсолютной интенсивности генных миграций. Оценки этого параметра варьируют от 1,555 у локуса $pAlb$ до 115,764 у локуса $FDHG$, составляя в среднем по популяции $22,906 \pm 9,567$, что представляет собой довольно значительную величину.

Таблица 44. Значения F -статистик в популяции пиленгаса акватории Азовского моря и прилегающих водоемов

Локус	FIS	FIT	FST	Nem
$pAlb$	-0,068	0,080	0,139	1,555
α -2- Glb -1	-0,248	-0,235	0,010	24,678
My -3	-0,131	-0,099	0,028	8,692
My -9	-0,233	-0,168	0,053	4,482
$sAAT$ -2	-0,004	0,011	0,015	16,003
ADH	-0,159	-0,125	0,029	8,506
$ESTD$	-0,049	-0,024	0,023	10,476
PGM	-0,025	-0,011	0,014	17,864
MEP	0,060	0,072	0,012	20,017
$FDHG$	0,059	0,061	0,002	115,764
$G3PDH$	0,049	0,059	0,010	23,933
В среднем	$-0,068 \pm 0,034$	$-0,034 \pm 0,032$	$0,030 \pm 0,012$	$22,906 \pm 9,567$

При рассмотрении индексов фиксации Райта (*FIS*) (табл. 45) выявляется преобладание отрицательных значений этого показателя, следовательно, очень часто встречается избыток гетерозигот (Wright, 1978). Индекс фиксации распределен неравномерно, однако в почти половине случаев максимальные значения отмечаются в выборке из Азовского моря. Самым ярким примером подобного рода может служить локус *G3PDH*, для которого разница между *FIS* Азовского моря и усредненного *FIS* других выборок составляет 0,229. В ряде локусов проявляется обратная тенденция (*pAlb* и *sAAT-2*), однако выражена она в гораздо меньшей степени. В остальных локусах отмечаются промежуточные значения *FIS* в выборке из Азовского моря по сравнению с другими выборками.

Таблица 45. Индексы фиксации Райта исследованных полиморфных локусов в выборках тилленгаса

Локус	Оз. Ханское	Азовское море	М. Тузла
<i>pAlb</i>	-0,001	-0,117	-0,094
<i>α-2-Glb-1</i>	-0,206	-0,262	-0,266
<i>My-3</i>	-0,274	0,023	-0,136
<i>My-9</i>	-0,347	-0,091	-0,099
<i>EST-5</i>	(-0,174)	–	(-0,024)
<i>sAAT-2</i>	-0,042	-0,075	0,053
<i>ADH</i>	-0,059	-0,106	-0,224
<i>ESTD</i>	-0,011	-0,046	-0,091
<i>PGM</i>	-0,011	-0,02	-0,049
<i>MEP</i>	0,045	0,092	0,044
<i>FDHG</i>	0,077	0,191	-0,091
<i>G3PDH</i>	-0,031	0,185	-0,056
В среднем	-0,086±0,038	-0,021±0,041	-0,086±0,027

При сравнении частот наиболее распространенных аллелей с таким важным для водных организмов фактором,

как соленость, можно разделить изучаемые нами локусы на три группы. Частоты наиболее распространенных аллелей локусов первой группы, *PGM* и *MEP*, положительно коррелируют с уровнем солености и при этом их частоты не превышают 0,8 (рис. 83). Во вторую группу вошли четыре локуса — *sAAT-2*, *α -2-Glb-1*, *ADH*, *FDHG*. Частоты их наиболее распространенных аллелей отрицательно связаны с соленостью воды. В третью группу вошли остальные пять локусов, для которых не выявлено определенной зависимости частот их аллелей от солености воды. Для того чтобы определить масштабы различий между выборками пиленгаса из мест обитания с разной соленостью, мы использовали два метода измерения генетических расстояний. Первый из них — индекс генетического сходства Нея, основанный на различии в частотах аллелей, изменения которых как элементарное эволюционное событие отражает генетическую дифференциацию популяции. Значения индексов приведены в табл. 46. В наибольшей степени различаются выборки из Керченского пролива и из оз. Ханское ($D=0,037$), в то время как выборка из Азовского моря занимает промежуточное положение между ними, в большей степени приближаясь к выборке из оз. Ханское ($I = 0,990$).

В качестве другого показателя внутривнутрипопуляционных различий был использован индекс генетического подобия Джеффриса-Мацуситы, который учитывает и различия частот фенотипов. Это существенно с точки зрения действия естественного отбора, поскольку объектами отбора являются именно фенотипы. При рассмотрении этих индексов (табл. 47) выявляется общая картина расстояний, аналогичная той, которая была обнаружена при помощи индексов сходства по Нею. Выборки из Керченского пролива и из оз. Ханского имеют наибольшие генетические различия.

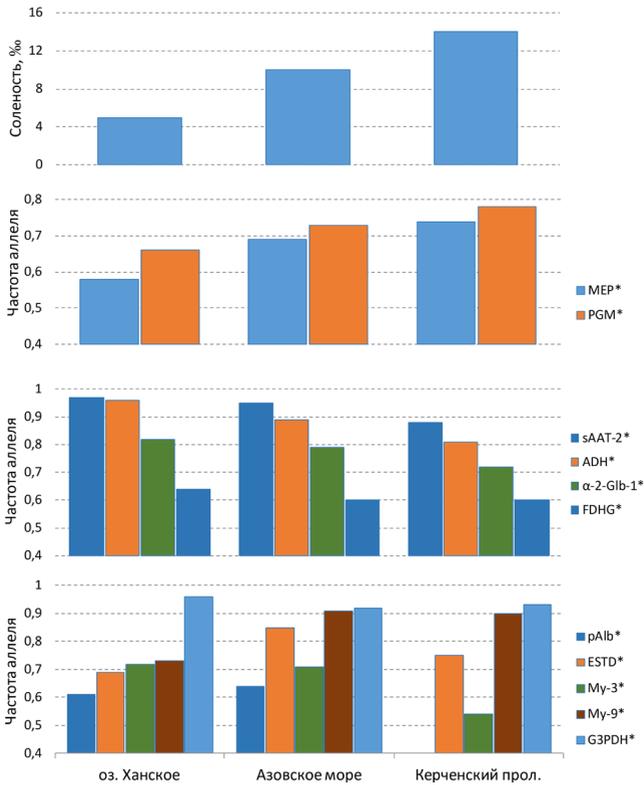


Рис. 83. Связь частот наиболее распространенных аллелей изучаемых локусов в разных выборках пиленгаса с соленостью воды. А — соленость воды; Б — локусы, частоты наиболее распространенных аллелей которых положительно связаны с соленостью воды; В — локусы, частоты наиболее распространенных аллелей которых отрицательно связаны с соленостью воды; Г — локусы, частоты аллелей которых не связаны определенным образом с соленостью воды

Таблица 46. Матрица индексов генетического сходства (выше диагонали) и расстояния (ниже диагонали) по М. Нею (Nei, 1972)

Выборки пиленгаса	оз. Ханское	Азовское море	Керченский пролив
Оз. Ханское	—	0,991	0,987
Азовское море	0,009	—	0,993
Керченский пролив	0,013	0,007	—

**Таблица 47. Матрица индексов генетического подобия
Джеффриса-Мауситы**

Выборки пиленгаса	оз. Ханское	Азовское море	Керченский пролив
Оз. Ханское	–	0,858	0,848
Азовское море		–	0,862
Керченский пролив			–

Примечательным фактом является связь показателей генетического сходства и расстояний с фактором солёности. Парные сравнения выборок по различию солёности акваторий, из которых они были взяты, и генетическим индексам показаны на *рис. 84*.

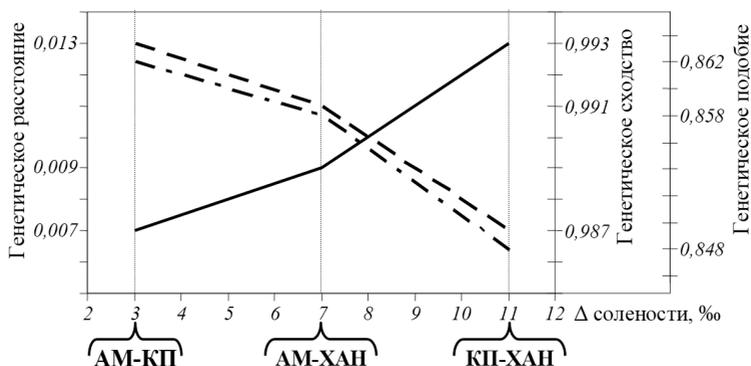


Рис. 84. Зависимость генетического сходства выборок от диапазона изменений солёности между местообитаниями (Δ солёности):
 ——— — индекс генетического расстояния Нея, — — — — индекс генетического сходства Нея, — — — — индекс генетического подобия Джеффриса-Мауситы; ХАН — оз. Ханское, АМ — Азовское море, КП — Керченский пролив

Чем выше различия в солёности между районами исследования пиленгаса, тем больше индекс генетического расстояния (или меньше индекс генетического сходства). Учитывая, что в значениях этих индексов отражена информация о частотах аллелей всех полиморфных локусов, а в индексе

генетического подобия Джеффриса-Мацуситы — о частотах фенотипов, можно сделать вывод о том, что фактор солености способен существенно влиять на генотипический состав субпопуляций пиленгаса в Азовском море.

Обращает на себя внимание и постепенный характер изменения уровня генетического сходства с соленостью. Обычно постепенные изменения признаков в пределах ареала рассматриваются как свидетельство приспособления к местным условиям и называются клинальной изменчивостью или клиной. Есть две основные причины, обуславливающие клинальный характер изменчивости. Первая состоит в том, что изменение самих факторов среды носит клинальный характер (Майр, 1974). В нашем случае соленость действительно изменяется клинально, увеличиваясь от Таганрогского залива к Керченскому проливу и Черному морю. Вторая причина состоит в том, что обмен генами между соседними популяциями (субпопуляциями) сглаживает все резкие различия. Таким образом, клины являются результатом действия двух сил: отбора, который стремится сделать каждую субпопуляцию адаптированной к локальной среде, и потока генов, сглаживающего различия между субпопуляциями.

Совершенно очевидно, что для обмена генами посредством миграции у пиленгаса в Азовском море нет значительных преград и популяция в целом должна быть гомогенной. При этом пиленгас, обладая высокой подвижностью, способен легко избегать неблагоприятных для него условий обитания. Однако мы наблюдаем, во-первых, его радиацию в широком диапазоне солености и, во-вторых, достоверные генетические различия в том же диапазоне. Приемлемое объяснение этого факта с точки зрения синтетической теории эволюции будет связано с рассмотрением вклада четырех основных факторов эволюции в наблюдаемую изменчивость. Из этих факторов мутационное давление не может оказать заметного влияния ввиду малого времени жизни популяции пиленгаса. Дрейф генов также имеет малое значение по причине относительно высокой числен-

ности субпопуляционных групп пиленгаса, а также высокой миграционной активности этого вида. Исходя из изложенного можно сделать вывод, что миграция и естественный отбор в нашем случае являются определяющими факторами адаптивной радиации пиленгаса в Азовском море.

8.5 Особенности генетической структуры дальневосточной и азовской популяций пиленгаса

Уровень генетической изменчивости популяции пиленгаса Азовского моря сравнивался нами с аналогичными материалами по дальневосточной популяции пиленгаса, полученными в ходе выполнения работы с сотрудниками Института биологии моря Дальневосточного отделения РАН и Института общей генетики РАН и представленными в совместной публикации (Омельченко и др., 2004). Рыб для анализа отбирали из зимовальных скоплений в устьях впадающих в Японское море рек Раздольная, Тесная и Артемовка. Материал обрабатывали одновременно с анализом пиленгаса из Азовского моря (выборки №№ 3, 4 и 8 в *табл. 48*) по тем же ферментным системам по описанным выше методикам. Оценку межпопуляционного (межвыборочного) генетического разнообразия проводили с помощью коэффициента *GST* (Nei, 1979).

Из проанализированных локусов 13 оказались полиморфными хотя бы в одной из проанализированных выборок пиленгаса. Частоты их аллелей приведены в *табл. 48*.

Теоретически ожидаемым распределением генотипов соответствует наблюдаемое распределение генотипов по подавляющему большинству изменчивых локусов. При сравнении показателей генетической изменчивости дальневосточной и азовской популяции был выявлен ряд особенностей. Так в девяти локусах азовской популяции отмечена утрата одиннадцати редких аллелей ($0,050 > p > 0,003$): *sAAT-156*, *sAAT-2116* и *84*, *MPI106*, *PGDH88* и *112*, *SOD64*, *GPI-A105*, *G3PDH350*, *IDHP-2125*, *FDHG108*. Таким образом, общее аллельное разнообразие:

Таблица 48. Частоты аллелей полиморфных локусов в популяциях тилленгаса

Локусы, аллели	Популяции				Локусы, аллели	Популяции			
	приморская		азовская			приморская		азовская	
	частота аллеля	N	частота аллеля	N		частота аллеля	N	частота аллеля	N
<i>sAAT-1100</i> <i>sAAT-156</i>	0,953 0,047	137	1,000 0,000	139	<i>GPI-A100</i> <i>GPI-A105</i>	0,997 0,003	144	1,000 0,000	150
<i>sAAT-210</i> <i>sAAT-26</i> <i>sAAT-2116</i> <i>sAAT-284</i>	0,934 0,042 0,010 0,014	144	0,923 0,077 0,000 0,000	150	<i>G3PDH100</i> <i>G3PDH20</i> <i>G3PDH300</i> <i>G3PDH350</i>	0,851 0,115 0,031 0,003	144	0,937 0,020 0,043 0,000	150
<i>MP1100</i> <i>MP1106</i>	0,979 0,021	142	1,000 0,000	144	<i>IDHP-2100</i> <i>IDHP-2125</i>	0,993 0,007	138	1,000 0,000	140
<i>ADH-100</i> <i>ADH-500</i>	0,938 0,062	130	0,891 0,109	133	<i>ESTD100</i> <i>ESTD115</i>	0,872 0,128	144	0,745 0,255	149
<i>PGDH100</i> <i>PGDH88</i> <i>PGDH112</i>	0,991 0,005 0,005	108	1,000 0,000 0,000	145	<i>FDHG 100</i> <i>FDHG 83</i> <i>FDHG 108</i>	0,619 0,371 0,010	143	0,619 0,381 0,000	143
<i>PGM100</i> <i>PGM83</i>	0,760 0,240	144	0,713 0,287	150	<i>MEP100</i> <i>MEP116</i> <i>MEP126</i>	0,691 0,205 0,059	144	0,650 0,253 0,043	150
<i>SOD100</i> <i>SOD64</i>	0,997 0,003	144	1,000 0,000	150	<i>MEP158</i> <i>MEP176</i>	0,045 0,000		0,037 0,017	

$$A = \frac{n' - 1}{n - 1},$$

где n — число аллелей в исходной популяции,

n' — в новом ареале, сократилось в азовской популяции на 26 % по сравнению с исходной дальневосточной популяцией.

При этом уровень полиморфизма в азовской популяции сократился на 46 %. При сравнении уровня средней гетерозиготности между изучаемыми популяциями не было отмечено

достоверных отличий. В исходном и новом ареалах величины средней гетерозиготности у пиленгаса были практически одинаковыми, соответственно, $0,165 \pm 0,048$ и $0,168 \pm 0,054$. При сравнении частот аллелей отдельных локусов достоверные отличия были отмечены в локусах *sAAT-2*, *ADH*, *ESTD* и *G3PDH*, причем по первым трем локусам величина гетерозиготности в азовских выборках была выше.

Установлено также, что популяция дальневосточного пиленгаса генетически гомогенна ($GST=0,0041$; тест хи-квадрат на межвыборочную гетерогенность равен $37,2$, $df = 42$, $p = 0,68$). В отличие от этого, азовские выборки достоверно различались между собой как по отдельным локусам, в особенности, по *ADH* и *MEP*, так и по всей совокупности локусов ($GST=0,0138$; тест хи-квадрат = $54,48$, $df = 22$, $p = 0,00014$). Характерно, что аналогичный характер дифференциации азовской популяции пиленгаса выявлен также и при изучении локусов, контролирующих сывороточные и мышечные белки (Махоткин, Дехта, 2002), а также при комплексном морфометрическом анализе (Дехта, Махоткин, 2002), результаты которого описаны выше.

8.6 Снижение генетического разнообразия пиленгаса в результате интродукции в Азовское море: эффект бутылочного горлышка

С момента, когда какое-то ограниченное число рыб стало родоначальником азовской популяции пиленгаса, и до времени данного исследования прошло около 20 лет. Генетические изменения, происходившие в этот период, нам не известны. Сохранение генетической изменчивости при снижении уровня полиморфизма, что мы наблюдаем в данном исследовании, вероятно, обусловлено селективным преимуществом гетерозиготных генотипов в процессе адаптации пиленгаса к условиям Азовского моря. Более высокие значения гетерозиготности по ряду локусов (*ADH*, *ESTD*, *PGM* и *MEP*) в азовской

популяции обеспечивают им соизмеримый с приморской популяцией уровень генетической изменчивости. Об адаптации к новым условиям может свидетельствовать и тот факт, что в новом ареале азовская популяция пиленгаса оказывается генетически дифференцированной. Как было показано выше, соленость может иметь существенное значение как фактор адаптивной дифференциации пиленгаса в Азовском море. Однако, маловероятно, что селективные факторы могли привести к потере одиннадцати аллелей, затронув почти половину изучаемых локусов.

Учитывая, что при акклиматизации перевозится лишь часть генофонда популяции-донора, снижение аллельного разнообразия в данном случае может быть обусловлено ограниченным числом основателей (эффект «бутылочного горлышка»), давшим начало азовской популяции пиленгаса. В результате ошибки выборки небольшое число основателей приводит не только к различиям в частотах аллелей между исходной популяцией и вновь образовавшимся стадом, но и к потере некоторого их числа, особенно относительно редко встречающихся. Таким образом, число основателей фактически определяет верхний предел генного разнообразия в последующих поколениях. Попытка определить вероятность потери аллелей для такого рода случаев была сделана Деннистоном (Denniston, 1978). Он использовал полиномиальную выборочную модель, чтобы исследовать число аллелей, остающихся в популяции в результате сокращения ее размера. Если рассматривать locus с n аллелями, распространенными в большой популяции с частотой $p(1), p(2), p(3), \dots, p(n)$, то в искусственно образованной от такой популяции ожидается, что число сохранившихся аллелей (n') составит:

$$E(n') = n - \sum (1 - p_j)^{2N},$$

где N — число основателей.

На *рис. 85* приведены графики ожидаемой утраты аллеля в зависимости от числа основателей для шести ферментных локусов приморской популяции пиленгаса, полученные по приведенной выше формуле. Очевидно, что чем реже встречается аллель в популяции, тем вероятнее его утрата (*см. табл. 48*). Из графиков следует, что для надежного достижения наблюдаемого уровня потери аллелей в азовской популяции, число основателей должно составить несколько десятков особей. Этот результат согласуется с оценками исходного числа особей, участвовавших в основании популяции, в несколько сотен (Семененко, 1991), и с отношением эффективного к общему числу особей в популяции как 1:10 (Frankham, 1995). Стрелками на графике показаны точки, соответствующие этому условию для локусов с тремя и четырьмя аллелями. Однако утрата аллелей носит вероятностный характер. К примеру, для 50 % вероятности число основателей колеблется для различных локусов от 7 до 100 особей, а для сохранения всех утраченных аллелей число основателей азовской популяции пиленгаса должно было бы составлять более 600 особей.

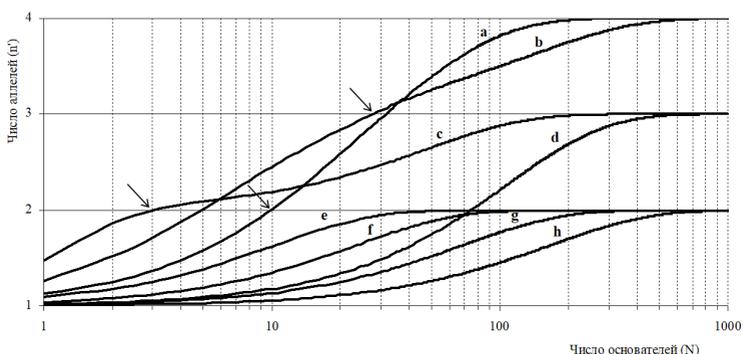


Рис. 85. Зависимость ожидаемой утраты аллелей от числа основателей (N):

a — *sAAT-2* 116 и 84, b — *G3PDH* 350, c — *FDHG* 108, d — *PGDH* 88 и 112, e — *sAAT-1* 56, f — *MPI* 106, g — *IDHP-2* 125, h — *SOD* 64, *GPI-A* 105

Нам неизвестно, какие вероятности были реализованы более двадцати лет назад, но, судя по графику, число основателей вряд ли превышало несколько десятков. Мы также не знаем, в какой степени снижался уровень генетической изменчивости при прохождении «бутылочного горлышка». Возможно, ее величина менялась незначительно, если число основателей составляло несколько десятков. Известно, что снижение генетической изменчивости, вызванное генетическим дрейфом при прохождении популяцией «бутылочного горлышка» численностью N , составляет для одного поколения $1/2N$ (Ли, 1978). Поэтому потомство от одной самки и одного самца сохраняет 75 % гетерозиготности всей популяции, а 50 основателей уже обеспечивают сохранение 99 % гетерозиготности (рис. 86).

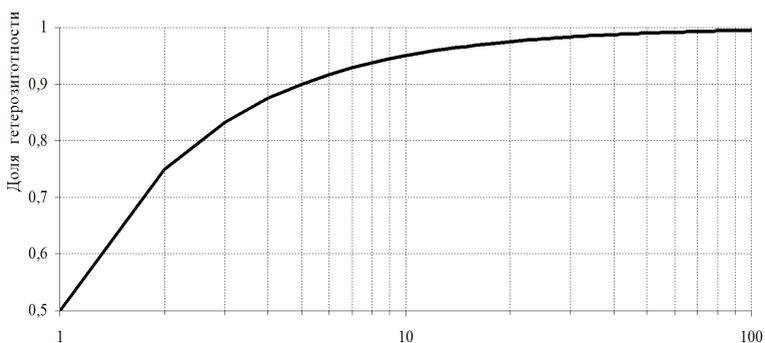


Рис. 86. Зависимость гетерозиготности от числа основателей

Более быстрая и значительная потеря аллелей при сокращении эффективного размера популяции продемонстрирована на теоретической модели бесконечного числа аллелей в селективно нейтральных локусах (Maruyama, Fuerst, 1985). Как было установлено, важным следствием сокращения размера популяции является возникновение временного дефицита аллелей. Дефицит аллелей — сложная функция четырех параметров: времени, прошедшего с возникновения «бутылочного

горлышка» (t), отношения эффективного размера популяции перед/после того, как возникло «бутылочное горлышко» (α), скорость мутации гена (μ) и размера выборки генов (n). Маруяма и Фуерст показали, что величина дефицита аллелей сначала увеличивается, достигает максимума и затем уменьшается асимптотически к нулю, соответствуя новому равновесию дрейфа и мутации. Значение максимума дефицита аллелей, так же, как и времени, за которое он достигается, зависит от трех параметров (α , μ и n). При этом число аллелей в выборке меньше, чем их необходимое число для объяснения наблюдаемой гетерозиготности (H_o) согласно предположению, что популяция находится в равновесии дрейфа и мутаций.

На несоответствии наблюдаемого числа аллелей и гетерозиготности основан метод обнаружения «бутылочного горлышка» популяции (Cornuet, Luikart, 1996), что позволяет в отсутствие данных об исторических размерах и уровнях генетической вариации популяции создать представление относительно ее недавнего прошлого. Принцип метода состоит в том, что популяции, обнаруживающие существенный избыток гетерозиготности ($H_o > H_{ex}$), рассматриваются как испытавшие в недавнем прошлом сокращение эффективного размера. Для этого рассчитывается ожидаемая из модели гетерозиготность (H_{ex}). Значения гетерозиготности определяются по формуле Нея (Nei, 1979):

$$[n/(n-1)][1 - \sum (p_i)^2],$$

где n — число гаплоидных геномов, p_i — частота аллеля.

Здесь гетерозиготность отражает разнообразие гена в отличие от количества гетерозигот в равновесии Харди-Вайнберга. Согласно Корнэ и Луикарту, испытание статистической мощности метода показало, что тесты способны обнаружить «бутылочное горлышко» размером $N_e = 50$ в течение 25–250 гене-

раций после его возникновения. Таким образом, период времени, который тестирует метод, довольно короток и поэтому мутационный вклад в изменение числа аллелей является несущественным. В значительной мере изменение числа аллелей в этих случаях будет определяться ошибкой выборки.

Привлекательность данного метода состоит также и в том, что он позволяет проверить не только данные, где сравниваются дальневосточная и азовская популяции пиленгаса, но и другие результаты исследования биохимического полиморфизма пиленгаса, полученные в разное время.

Представление о времени исследования биохимического полиморфизма пиленгаса в Азовском море дает *рис. 87*. Выборка 1 состояла из годовиков пиленгаса, содержащихся в садках в Молочном лимане. Эти рыбы представляли собой привезенных дальневосточных рыб, а не являлись их потомством. По данным Ю.Б. Цветненко (1987) полиморфизм был выявлен в пяти локусах, контролирующих три белка сыворотки крови, мышечную эстеразу и лактатдегидрогеназу. Выборка 2 представлена рыбами 3–5-летнего возраста. Обнаружен полиморфизм в пяти локусах, контролирующих сывороточные белки, миогены и мышечную эстеразу (Махоткин, Дехта, 2002). Поскольку первую генерацию способны дать трех–четырёхлетние рыбы, максимально возможное время между выборками 1 и 2 составляет 5–6 поколения. С точки зрения тестирования на «бутылочное горлышко» в рамках метода Корнэ и Луикарта эти условия являются благоприятными и по времени, прошедшему после сокращения эффективного размера, и по количеству аллелей в полиморфных локусах.

В *табл. 49* представлены результаты всех тестов, которые предлагаются авторами метода. Их статистические оценки неравноценны. В частности, авторы отмечают, что знаковый тест обладает малой статистической мощностью, тест стандартизованных различий требует исследования не менее 20 полиморфных локусов.

Тест Уилкоксона обеспечивает относительно высокую мощность и может использоваться при исследовании четырех полиморфных локусов и небольшого выборочного объема особей. В нижней строке приведен качественный показатель распределения частот аллелей, отличающий популяцию, прошедшую «бутылочное горлышко», от устойчивой популяции. Таким образом, наиболее приемлемым для нас является тест Уилкоксона, что подтверждается и табличными данными. Характерно, что все тесты дают отрицательный результат для выборки из дальневосточной популяции пиленгаса.

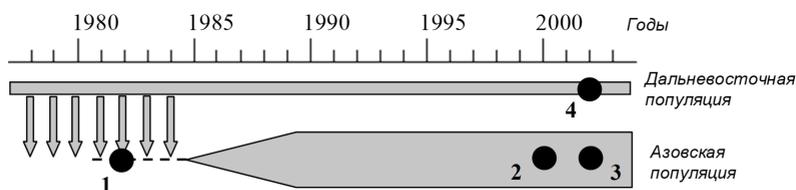


Рис. 87. Схема образования азовской популяции пиленгаса и времени исследования биохимического полиморфизма.

Стрелками показано время ввоза пиленгаса из Дальнего Востока. Точки 1–4 — время исследования биохимического полиморфизма

Из приведенных результатов можно сделать вывод о том, что утрата аллельного разнообразия исключительно за счет редких аллелей произошла в результате прохождения азовской популяции пиленгаса через «бутылочное горлышко» небольшого числа основателей. По-видимому, их количество и короткое время (число поколений) преодоления горлышка мало повлияли на снижение генетической изменчивости, что способствовало сохранению достаточного адаптивного потенциала этого вида рыб для успешной натурализации в новом ареале. Отсюда очевидна важность генетического контроля за перевозимыми рыбами в процессе интродукции и формирования маточных стад.

Таблица 49. Результаты оценок избытка гетерозиготности белковых локусов в выборках

Характеристики выборок	Номер выборки			
	1	2	3	4
Год отбора проб	1982	2000	2002	2002
Район исследования	АМ (ДВ)	АМ	АМ	ДВ
Величина выборки, n	50	150	150	145
Число полиморфных локусов, L	5	5	7	13
Число локусов l , где $(H_o > H_{ex})$	5 (100 %)	5 (100 %)	5 (71,4 %)	4 (30,8 %)
Ожидаемое число локусов, l_{exp}	2,11	1,97	2,84	5,56
Результаты тестов				
Знаковый тест, P	0,0126*	0,0093*	0,0987	0,2771
Тест стандартизованных различий, P	0,0002*	0,0006*	0,0434*	0,1302
Тест Уилкоксона, $P_{(H_o > H_{ex})}$	0,0156*	0,0156*	0,0391*	0,8918
Состояние распределения	сдвиг*	сдвиг*	нормальное	нормальное

Примечание: *Положительный тест на «бутылочное горлышко» при $P < 0,05$.
 P — вероятность; АМ — Азовское море, ДВ — Дальний Восток,
 l — число локусов с избытком гетерозиготности; l_{exp} — ожидаемое число локусов с избытком гетерозиготности ($H_o > H_{ex}$) в предположении равновесия генетического дрейфа и мутаций

ГЛАВА 9

Биологическое обоснование промышленного лова пиленгаса (*Planiliza Haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845)) в Черном море

Материалы по исследованию эколого-генетической изменчивости популяции пиленгаса Азово-Черноморского бассейна положены в основу биологического обоснования промышленного лова пиленгаса в Российских водах Черного моря в 2005 г.

Акклиматизационные работы, проводившиеся сотрудниками АзНИИРХ, завершились образованием самовоспроизводящейся популяции пиленгаса в Азовском море к концу 1980-х гг. Первоначально естественное размножение пиленгаса происходило в осолоненных лиманах западной части Азовского моря. К началу 2000-х гг. успешный нерест пиленгаса происходил на акватории всего Азовского моря и в более опресненных азовских лиманах и заливах. Численность и запас азовского пиленгаса неуклонно рос: с 5 млн экз. в 1996 г. до 30 млн экз. в 2005 г. По сути, популяция пиленгаса находилась в стадии становления. Быстрый рост популяции пиленгаса в Азовском море позволил включить его в реестр промысловых видов уже с 1993 г. Окончательно порядок промысла пиленгаса в Азовском море сформировался в 1997 г. с введением лова кольцевыми неводами в период зимовки. В 1997–2004 гг. вылов пиленгаса в Азовском море колебался в пределах 3,5–7,8 тыс. т. Доля России в общем улове пиленгаса в Азовском море составляет примерно одну треть.

С увеличением численности популяции часть взрослых рыб начала мигрировать через Керченский пролив в Черное море, которое вскоре было полностью освоено пиленгасом. Все прибрежные черноморские государства начали промышленный лов пиленгаса, а в Турции он получил название «русская кефаль». Ареал пиленгаса к началу XXI столетия распространился до северо-западного побережья Африки.

Таким образом, мы наблюдаем интенсивную экспансию пиленгаса в новых условиях обитания.

Широкая колонизация пиленгасом акваторий различной солености должна обеспечиваться популяционными механизмами адаптации. Механизмы адаптации с 1999 г. являлись предметом исследования сотрудников отдела генетико-биохимического мониторинга (ОГБМ) ФГУП «АзНИИРХ». Генетическая структура популяции пиленгаса изучалась по биохимическому полиморфизму 48 белковых локусов. Морфометрический анализ с целью изучения гетерогенности популяции проводился по 22 меристическим признакам.

Исследования показали, что популяция пиленгаса в Азовском море генетически дифференцирована, генетические расстояния между районами оз. Ханское, собственно Азовским морем и Керченским проливом соответствуют субпопуляционному уровню подразделенности. Этот факт был установлен специалистами ОГБМ ФГУП «АзНИИРХ» старшим научным сотрудником, к.б.н. В.А. Дехтой и научным сотрудником М.А. Махоткиным (2002) и подтвержден результатами совместных исследований с институтом общей генетики РАН и институтом биологии моря ДВО РАН, о чем подробно было рассказано в Главе 8. Различия выявляются по частотам аллелей белковых локусов, гетерозиготности и другим популяционно-генетическим параметрам. При этом установлена явная связь этих параметров с соленостью изучаемых районов. В отличие от азовской популяции аборигенная дальневосточная популяция оказалась не дифференцированной. Таким образом, было установлено, что широкая адаптивная радиация азовской популяции пиленгаса сопровождается формированием локально адаптированных субпопуляций.

Системный подход к анализу морфометрической изменчивости позволил на основе изучения корреляционной структуры признаков выделить два морфотипа пиленгаса, названных «азовским» и «черноморским». Анализ их пропорций в раз-

личных местах обитания показал явную связь с соленостью. В более распресненных акваториях моря преобладает «азовский» морфотип, в более соленых водах — «черноморский». Пропорции «азовского» и «черноморского» морфотипов в разных районах распределились следующим образом, соответственно, оз. Ханское — 100:0, Азовское море — 82:18, Керченский пролив — 50:50, Черное море — 30:70 (Дехта, Махоткин, 2002). Т.е. в Черное море мигрирует в большей степени «черноморский» морфотип пиленгаса, чем собственно и было обусловлено его наименование. Таким образом, полигенные системы морфометрических признаков выявляют адаптивную дифференциацию популяции пиленгаса.

Сравнение пропорций морфотипов в преднерестовых скоплениях пиленгаса в Азовском море (апрель) с рыбами, мигрирующими в Черное море (май – июнь) показало, что максимальная доля мигрантов от запаса нерестовой части популяции в Азовском море составляет 30 %. Характер данных позволяет оценить только максимально возможную долю мигрантов. Т.е. миграция не превышает этой величины, но может быть и ниже ее. Эти данные свидетельствуют о том, что пиленгас, находящийся в мае–июне в Керченском проливе и предпроливной зоне Черного моря (м. Железный рог – п. Витязево), является частью популяции Азовского моря. Наибольшая интенсивность миграции пиленгаса из Азовского моря отмечается в мае–июле. В этот период практически все мигранты представлены зрелыми особями (табл. 50).

Таблица 50. Стадии зрелости мигрирующего пиленгаса в южной части Керченского пролива в 2004–2005 гг., %

Годы	Самки				Самцы					Количество самок, %	
	стадии зрелости гонад										
	3	3–4	4	4–5	3	3–4	4	4–5	5		
2004	4,08	4,08	29,61	2,04	1,02	3,06	27,03	13,27	15,81	39,81	
2005	2,15	15,7	32,8	–	–	–	17,35	16,10	15,9	50,65	

Размерно-массовый и возрастной составы мигрантов в 2004–2005 гг. были идентичны таковым промыслового запаса в Азовском море. Длина и масса рыб находились в пределах 36–58 см и 0,6–3,4 кг, возраст — 3–6-годовики.

Таким образом, популяция пиленгаса в Черном море формировалась преимущественно за счет безвозвратной миграции рыб из Азовского моря. Но в российских водах Черного моря пиленгас не образовывал устойчиво высокого запаса из-за его большой миграционной активности, отмеченной нами выше. Миграция зрелых производителей пиленгаса в Черное море обеспечила его успешное естественное воспроизводство здесь, в частности в Кизилташском и Витязевском лиманах. Образование недостаточно устойчивой, но постоянно пополняющейся популяции пиленгаса в Черном море обусловило появление его в качестве прилова в промышленных орудиях лова — ставных неводах и сетях, используемых для промысла других видов рыб. Максимальный прилов пиленгаса в российской зоне Черного моря составил 480 т

Таблица 51. Прилов пиленгаса в российской зоне Черного моря в 1993–2004, 2012, 2013 гг., т

Годы	Улов
1993	53
1994	70
1995	43
1996	382
1997	480
1998	401
1999	31
2000	100
2001	210
2002	225
2003	227
2004	278
2012	3,140
2013	0,600

в 1997 г. (табл. 51). Необходимо указать, что в связи с особенностями поведения пиленгаса в Черном море, прежде всего интенсивными миграциями, определение величины его запаса путем проведения учетных съемок или биостатистическим методом практически невозможно. Соответственно, невозможно и определение общего допустимого улова (ОДУ) методами,

применяемыми для популяции пиленгаса Азовского моря. Следует особо указать, что безвозвратная миграция в Черное море обязательно учитывается как часть общей естественной убыли пиленгаса в Азовском море при определении для этого водоема промыслового запаса и ОДУ на перспективу.

Вместе с тем, в 2013 г. установление квоты прилова пиленгаса Россией в Черном море являлось необходимым, особенно принимая во внимание российский приоритет в акклиматизации и учитывая то, что изъятие пиленгаса в этом водоеме осуществляли все остальные причерноморские государства.

Согласно данным статистических уловов 2012 г. вылов пиленгаса в Черном море уменьшился до 3,140 т, а в 2013 г. — до 0,6 т (Реков и др., 2014). Единственным ориентиром для определения величины квоты прилова пиленгаса Россией в Черном море являются данные, приведенные в табл. 51. Учитывая нестабильность поведения пиленгаса в российской зоне Черного моря и постоянную миграцию части нерестового стада (до 30 %) из Азовского в Черное море, в 2005 г. были установлены квоты вылова пиленгаса Россией в Черном море в объеме 500 т — несколько выше максимального уровня, отмеченного за период наблюдений 1993–2004 гг.

Кроме того, рассмотренный выше анализ морфотипов пиленгаса в предпроливье Черного моря до п. Витязево указывало на принадлежность его к азовской популяции. Следовательно, вылов на этом участке должен был осуществляться в счет квоты России, устанавливаемой для пиленгаса Азовского моря.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование физиологических аспектов биологии пиленгаса в различных ареалах обитания в Азово-Черноморском бассейне позволило отметить, что пиленгас обладает высокими адаптивными способностями, его метаболические особенности обеспечивают стабильную репродукцию в трофических и экотоксикологических условиях ареала, в результате чего вид должен сохранить промысловую перспективу на ближайшее будущее.

Серьезных нарушений в функциональном состоянии пиленгаса, более чем 40 лет назад интродуцированного в Азово-Черноморский бассейн, не наблюдалось. Однако ежегодно в разных районах Азовского моря встречалось от 10 до 20 % самок пиленгаса с частичной или тотальной текущей резорбцией созревающих ооцитов (Ложичевская и др., 2011).

При анализе адаптационных особенностей репродуктивной системы пиленгаса в ареале вселения подробно описаны особенности созревания самок и самцов в разные периоды жизненного цикла, отмечены определенные адаптационные изменения в репродуктивном цикле, вызванные новыми условиями для пиленгаса по сравнению с рыбами из залива Петра Великого (Тихий океан). В частности, отмечено, что самки и самцы пиленгаса из Азово-Черноморского бассейна созревают одновременно, признаки асинхронности встречаются эпизодически. Такое адаптивное одновременное созревание обусловлено высокими темпами повышения температуры воды в начале лета. Вместе с тем, отмечается, что при выраженном изменении условий обитания в виде похолодания в весенний преднерестовый период также отмечаются случаи асинхронного созревания гонад пиленгаса, характерного для рыб дальневосточного ареала обитания.

Оценивая функциональное состояние пиленгаса в ареале вселения на разных этапах репродуктивного цикла с ис-

пользованием физиолого-биохимических показателей у рыб из азовской популяции был выявлен более высокий темп соматического роста и высокий уровень накопления резервных веществ в тканях по сравнению с дальневосточным пиленгасом, что подтверждается данными биохимического и гистологического анализов показателей крови, печени, селезенки, гонад и мышц.

Многолетний мониторинг физиологического состояния пиленгаса позволил выявить показатели, диагностирующие как нормальное развитие производителей, так и патологические изменения, происходящие в организме рыб. По содержанию сывороточного белка, липидов и холестерина в сыворотке крови можно судить о подготовленности самок и самцов к нересту, по содержанию трофических веществ в печени и мышцах — о качестве нагула рыб, по активности факторов клеточного и гуморального иммунитета — о реакции организма на воздействие внешней среды. Уровень жирорастворимых антиоксидантов, в частности каротиноидов, характеризует репродуктивную устойчивость рыб. Способность пиленгаса адаптироваться к широкому диапазону солености Азовского и Черного морей дало возможность учитывать состояние рыб, оцениваемое по комплексу биохимических показателей, при отборе производителей и молоди для эффективного искусственного воспроизводства.

При оценке репродуктивного потенциала пиленгаса в Азовском море проанализирована возрастная и половая структура популяции, оценены промысловые нагрузки на различные возрастные группы. Рассматривая убыль поколений и изменение репродуктивного потенциала под влиянием промысловых усилий, подчеркивается необходимость регулирования промысловых нагрузок с целью сохранения в популяции старшевозрастных высокопродуктивных самок.

По результатам проведенных исследований отмечено, что естественное размножение пиленгаса проходит не только на

акваториях Черного и Азовского морей, но и с высокой интенсивностью на акваториях лиманов и в придаточных водоемах с пониженной соленостью. Вместе с тем, для максимального раскрытия рыбохозяйственного потенциала таких водоемов необходимо их закрепление за едиными пользователями, заинтересованными в долговременном стабильном характере их рациональной эксплуатации.

В связи с нарастающим дефицитом производителей и невозможностью осуществления контроля за его выловом восстановление естественного воспроизводства пиленгаса в больших масштабах не представляется возможным. В пределах Азово-Черноморского бассейна имеется много водоемов, в которых отсутствует потомство пиленгаса, и требуется вселение в такие водоемы выращенного в условиях аквакультуры посадочного материала. Основная цель рыбоводного освоения пиленгаса в условиях аквакультуры — получение в искусственных условиях посадочного материала для товарного выращивания в морских лиманах и водохранилищах, а также, возможно, и в поликультуре в пресноводных хозяйствах (Поляруш и др., 2001; Туркулова и др., 2015).

Определяя общие тенденции развития биологических и кормовых ресурсов Азовского моря, следует ожидать повышения количества органического вещества в водной толще в виде фитогенного детрита, в составе которого отмечается высокий уровень ассоциированных бактерий. Это трофический ресурс, на котором может формироваться запас рыб детритофагов (Студеникина и др., 2010). Выполненные расчеты показали, что запас детрита в водной толще в последние годы составляет 3–4 млн т сухого веса. Потребителями детрита являются микроби мезозоопланктон и пиленгас.

Приспособленность пиленгаса к питанию детритом, потенциально содержащим ксенобиотики микробияльного или иного происхождения, сопровождается присущей виду высокой детоксикационной активностью и позволяет ему

преодолевать воздействие антропогенной токсикации среды обитания. Данный вывод подтверждается результатами анализа влияния на физиологические показатели пиленгаса различных химических соединений и предполагает значительный ущерб, наносимый биологическим ресурсам моря от загрязнения его хлорорганическими соединениями и полихлорбифенилами. Вместе с тем, у пиленгаса отмечена более высокая, по сравнению с другими видами рыб, активность компонентов детоксикации, что позволяет ему преодолевать воздействие антропогенной токсикации среды обитания и обеспечивать стабильную репродукцию.

Обосновывая возможные объемы промысловой нагрузки на популяцию пиленгаса в ареале вселения, отмечается нестабильность поведения пиленгаса в российской зоне Черного моря и постоянная миграция части нерестового стада (до 30 %) из Азовского в Черное море, что может являться основанием для увеличения квоты вылова России в Черном море (Реков и др., 2014). На основании изучения эколого-генетической изменчивости популяции пиленгаса из нативного дальневосточного водоема и из различных по солености водоемов Азовского и Черного морей можно отметить, что сокращение среднего числа аллелей на локус у вселенного пиленгаса можно связать с перевозкой лишь части исходного генофонда, о чем уже говорилось во введении. Кроме того, анализ имеющейся информации о начальных стадиях «азовского» этапа акклиматизации позволяет достаточно уверенно считать, что реальное число основателей самовоспроизводящейся азовской популяции составляло от нескольких десятков до 100–150 особей. Очевидно, популяция прошла через резкое снижение эффективной численности, так называемое «бутылочное горлышко», что в первую очередь влияет на число аллелей (Nei et al., 1975). Об эффектах сокращения уровня изменчивости в популяциях переселенных видов известно из работ по акклиматизированным видам ло-

сосей: горбуше Великих озер (Gharrett, Thomason, 1987) и Европейского Севера (Гордеева и др., 2003) и чавыче Новой Зеландии (Quinn et al., 1996).

Учитывая, что при акклиматизации перевозится лишь часть генофонда популяции-донора, то снижение изменчивости вида можно объяснить, скорее всего, селективным преимуществом (повышенной выживаемостью) ряда гетерозиготных генотипов в новых условиях обитания.

Об адаптации к новым условиям может свидетельствовать и то, что в новом ареале азовская популяция пиленгаса, в отличие от дальневосточной, оказалась генетически дифференцированной. Помимо проводившихся выше значимых тестов на гетерогенность выборок, представляющих отдельные субпопуляции общей азовской популяции, их дивергенция подтверждается и различиями в структуре изменчивости по отдельным локусам (Мирзоян и др., 2008).

Поскольку особи наиболее дивергировавшей от других озерной субпопуляции (озеро Ханское) нерестятся в условиях распреснения, можно предположить, что для азовского пиленгаса уровень солености является вполне вероятным, прямым или косвенным, фактором отбора. Действительно, генетические расстояния в парах выборок связаны с различием в солености нерестовых районов (в оз. Ханское 4–6 ‰, в акватории Азовского моря 10–11 ‰, в Керченском проливе 15–17 ‰ и еще выше в Черном море). Генетическую дифференциацию в связи с соленостью наблюдали у азовского пиленгаса при обследовании локусов, контролирующих некоторые сывороточные и мышечные белки, в группе, включавшей две выборки из тех же экологических групп — оз. Ханское и Керченского пролива, третью выборку из Темрюкского залива (Махоткин, Дехта, 2002).

С учетом вышесказанного, генетическое единообразие дальневосточных приморских субпопуляций может быть связано не только с отсутствием жесткой изоляции между

ними (что в целом, по-видимому, характерно и для азовской популяции), но и близким уровнем солености нерестовых районов в Японском море, приближающимся к океаническому и составляющим более 30 ‰. Возможно, в этих условиях пространственное единообразие аллельных частот поддерживается и стабилизирующим отбором.

Чтобы представить, как формируется состав популяции в зависимости от солености, обратимся к данным по миграциям пиленгаса в акватории Азовского моря (Рылов и др., 1998). Молодь пиленгаса (сеголетки, двухлетки и часть трехлеток) в летний период нагуливается в основном в прибрежной мелководной части моря и прилегающих лиманах. На зимовку молодь устремляется в опресненные участки к устьям рек. По мере взросления рыбы переходят на зимовку в море. Старшевозрастные группы пиленгаса нагуливаются на всей акватории моря и прибрежных лиманов, а на зимовку мигрируют преимущественно в центральную часть моря. Весной часть рыб мигрирует на нерест в более соленое Черное море, а часть остается в Азовском, распределяясь на нерест между открытым морем и теплыми распресненными мелководьями, такими, как оз. Ханское и Таганрогский залив (Дудкин и др., 2000; Дехта, Махоткин, 2002; Надолинский, 2008; Балыкин, Старцев, 2017).

Описанные экологические особенности обуславливают формирование в Азовском море популяции, широко адаптированной к условиям нового ареала, и являются основой ее генетической дифференциации. Наблюдаемые генетические различия локальных экологических групп, очевидно, формируются под влиянием локального дифференцирующего отбора, действующим фактором которого является уровень солености в нерестовом ареале.

Таким образом, проведенный впервые сравнительный популяционногенетический анализ пиленгаса, акклиматизированного в Азовском море, и пиленгаса исходной естественной

популяции Приморья свидетельствовал о том, что его успешное расселение в новом ареале сопровождалось не только изменениями генотипических и аллельных частот ряда локусов, но и генетической дивергенцией образовавшихся экологических групп (субпопуляций). Есть основание считать, что уровень солености среды в период нереста и развития икры (что особенно важно) может быть наиболее реальным, прямым или косвенным, фактором отбора, обеспечивающего такую дивергенцию. Выявляемый уровень генетической дифференциации сформировался всего за 5–6 сменившихся поколений пиленгаса, из которых 4–5 самовоспроизводящихся, т.е. за очень короткий период времени. Фактически это первое наблюдение, фиксирующее генетические изменения, которые сопровождают быструю адаптацию к новым и весьма благоприятным условиям акклиматизации, о чем свидетельствуют показатели роста и развития и широкое расселение пиленгаса, вплоть до Эгейского побережья Турции и Средиземноморья — северной (греческой) части Эгейского моря (Кауа et al., 1998). Одновременно необходимо сказать, что генетические и экологические последствия этой успешной акклиматизации для нативной биоты Азово-Черноморского бассейна почти не изучены и заслуживают более пристального внимания, о чем свидетельствуют результаты подобных исследований в области акклиматизации гидробионтов (Виды-вселенцы..., 2000; Алтухов и др., 1997).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Акимова Н.В., Рубан Г.И. Систематизация нарушений воспроизводства осетровых (Acipenseridae) при антропогенном воздействии // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36, № 1. С. 65–80.
2. Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. Популяционная генетика лососевых рыб. М.: Наука, 1997. 288 с.
3. Баденко Л.В., Корниенко Г.Г., Бойко Н.Е., Денисова Е.М. Характеристика физиологического состояния пиленгаса при формировании маточного стада в условиях Северного Приазовья / Культивирование морских организмов. М.: Изд-во ВНИРО, 1985 а. С. 75–88.
4. Баденко Л.В., Корниенко Г.Г., Семенов Л.И., Бойко Н.Е., Денисова Е.М. Экологофизиологические исследования обмена веществ дальневосточного пиленгаса // 6 Всесоюз. конф. по экологической физиологии и биохимии рыб: тезисы докл. Вильнюс, 1985 б. С. 12–13.
5. Балыкин П.А., Старцев А.В. Некоторые особенности биологии пиленгаса в Таганрогском заливе // Труды ВНИРО. 2017. Т. 166. С. 72–80.
6. Борисенко В.С., Чихачев А.С. Кефаль-пиленгас — перспективный объект акклиматизации в Азовском бассейне // Обл. научн. конф. по итогам работы АзНИИРХа в X пятилетке: тезисы докл. Ростов-н/Д., 1981. С. 33–35.
7. Брагинский Л.П., Комаровский Ф.Я., Мережко А.И. Персистентные пестициды в экологии пресных вод. К.: Наукова думка, 1979. 140 с.
8. Брянец В.А., Панов Б.Н. Предпосылки снижения рыбопродуктивности Азовского моря // Закономерности океанографических и биологических процессов в Азовском море. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2000. С. 259–275.
9. Бугаев Л.А., Рудницкая О.А., Засядько А.С. Изменения функциональных показателей репродуктивной и кроветворной систем азово-черноморского пиленгаса в современных условиях обитания // Эволюция морских экосистем под влиянием вселенцев и искусственной смертности фауны: тезисы докл. междунар. конф. (г. Азов, 15–17 июня 2003 г.). Ростов-н/Д.: Изд-во ММБИ КНЦ РАН, 2003. С. 57–59.
10. Бугаев Л.А., Рудницкая О.А., Засядько А.С. Адаптация генеративной системы дальневосточного пиленгаса *Mugil so-iyu* (Basilewsky) к новым условиям обитания // Совр. пробл. физиологии и биохимии водных организмов: матер. междунар. конф. Петрозаводск, 2004. С. 20–21.
11. Бугаев Л.А., Войкина А.В., Ружинская Л.П., Ложичевская Т.В. Референсные показатели функционального состояния пиленгаса *Liza haematocheilus* (Temminck & Shlegel, 1845) Азово-Черноморского бассейна // Водные биоресурсы и среда обитания. 2019. Т. 2, № 1. С. 27–46.

12. Булли Л.И. Влияние солености на жизнеспособность пиленгаса *Mugil so-iyu* Basilewsky в раннем онтогенезе // V Всесоюз. конф. по раннему онтогенезу рыб: тезисы докл. М., 1991. С. 180–182.

13. Булли Л.И. Некоторые особенности раннего онтогенеза пиленгаса из маточных стад и естественных популяций // Труды ЮгНИРО. 1994. Т. 40. С. 111–114.

14. Булли Л.И. Эколого-биохимические особенности икры пиленгаса из разных мест обитания // Труды ЮгНИРО. 1995. Т. 41. С. 149–153.

15. Василенко И.Н., Цуникова Е.П., Попова Т.М. Перспективы рыбохозяйственного использования пиленгаса в Азово-Кубанских лиманах // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна: сб. науч. трудов АзНИИРХ (1993–1995 гг.). Ростов н/Д.: Молот, 1996. С. 191–194.

16. Ващенко М.А., Сяпина И.Г., Жадан П.М. ДДТ и гексахлорциклогексан в донных осадках и печени камбалы из Амурского залива (залив Петра Великого, Японское море) // Экология, 2005. № 1. С. 64–68.

17. Виды-вселенцы в европейские моря России / Ред. Магишов Г.Г. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2000. 312 с.

18. Воловик С.П., Пряхин Ю.В. Состояние азовской популяции пиленгаса и проблемы ее освоения // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна: сб. науч. трудов АзНИИРХ (1993–1995 гг.). Ростов н/Д.: Молот, 1996. С. 210–217.

19. Воловик С.П., Пряхин Ю.В. Особенности естественного воспроизводства Азово-Черноморской популяции пиленгаса // Известия ВУЗов Северо-Кавказского региона. Естественные науки. 1999. № 1. С. 76–79.

20. Волчков Ю.А. Системный анализ изменчивости в селекции рыб: автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб, 1994. 50 с.

21. Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПин 2.3.2.1078-01 от 06.11.2001. Прил. 1, табл. 1.3. М.; «РГ» Федеральный выпуск № 5430.

22. Глаголева Т.П. Инструкция по гематологическому контролю за искусственно выращиваемой молодью лососевых рыб. Рига, 1981. 38 с.

23. Гордеева Н.В., Салменкова Е.А., Алтухов Ю.П. и др. Генетические изменения у горбуши в ходе акклиматизации в бассейне Белого моря // Генетика. 2003. Т. 39, № 3. С. 402–413.

24. Дехта В.А., Махоткин М.А. Адаптивная радиация азовского пиленгаса (*Mugil soiny* Bas.): системный морфометрический анализ // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азовского бассейна: сб. науч. трудов АзНИИРХ (2000–2001 гг.). Ростов н/Д., 2002. С. 330–340.

25. Джингл Дж. Лизосомы. Методы исследований. М.: Мир, 1980. С. 137–140.

26. Дудкин С.И. Биохимические методы биоиндикации токсического воздействия на гидробионты. Методы рыбохозяйственных и природоохранных исследований в Азово-Черноморском бассейне. Краснодар, 2005. С. 292–315.

27. Дудкин С.И., Колесникова Л.В., Ковальчук Л.И. Физиолого-биохимические особенности формирования репродуктивного потенциала азовского пиленгаса в современный период // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна: сб. науч. трудов АЗНИИРХ (1998–1999 гг.). Ростов-н/Д., 2000. С. 136–145.

28. Житенева Л.Д. Экологические закономерности ихтиогематологии. Ростов-н/Д., 1999. 54 с.

29. Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов-н/Д.: Ростиздат, 1989. 112 с.

30. Житенева Л.Д., Рудницкая О.А., Калюжная Т.И. Эколого-гематологические характеристики некоторых видов рыб / Справочник. Ростов-н/Д., 1997. 149 с.

31. Житенева Л.Д., Рудницкая О.А., Бугаев Л.А., Засядько А.С. Первые результаты интродукции дальневосточного пиленгаса в Азовском море (по физиологическим показателям) // Современные проблемы физиологии и экологии морских животных. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2003. С. 231–246.

32. Зайцев Ю.П., Старушенко Л.И. Пиленгас (*Mugil soiuu* Basilewsky, 1855) — новая промысловая рыба в Черном и Азовском морях // Гидробиологический журнал, 1977. Т. 33, № 3. С. 29–37.

33. Земков Г.В. Морфофункциональные критерии толерантности рыб при куммулятивном токсикозе: реферат на соиск. уч. ст.д. б. н. Астрахань, 2003. 58 с.

34. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. 110 с.

35. Инструкция к набору реактивов для определения общего холестерина в сыворотке крови по методу Илька. Разработка центрального института усовершенствования врачей. М., 1968. 4 с.

36. Казанский Б.Н. Биологическое обоснование акклиматизации пиленгаса *Mugil soiuu* Bas. из залива Петра Великого (Южное Приморье) в Каспийское и Аральское моря // Тезисы XI науч. конф. ДВГУ. Владивосток, 1966. Ч. 2. С. 308–313.

37. Казанский Б.Н. Пиленгас как перспективный объект для акклиматизации и лиманного рыбоводства в южных морях СССР // Перспективы развития рыбного хозяйства в Черном море. Одесса, 1971. С. 62–63.

38. Казанский Б.Н. Пиленгас — новый объект аквакультуры // Рыбное хозяйство. 1989. № 7. С. 67–70.

39. Казанский Б.Н., Королева В.П., Жиленко Т.П. Некоторые черты биологии угая (дальневосточной красноперки) — *Leuciscus brandti* (Dubovski) и пиленгаса — *Liza (Mugil) soiuy* (Basilevsky) // Ученые записки Дальневосточного государственного университета. 1968. Т. 15, № 2. С. 3–46.

40. Казанский Б.Н., Старушенко Л.И. Акклиматизация пиленгаса в бассейне Черного моря // Биология моря. 1980. № 6. С. 46–50.

41. Казанский Б.Н., Старушенко Л.И. Результаты процесса акклиматизации кефалипиленгаса в бассейне Черного моря // Биология проходных рыб дальнего Востока. Владивосток, 1984. С. 86–94.

42. Ким Дж.О., Мюллер Ч.У., Клекка У.Р., Олдендерфер Р.К., Блэшфилд Р.К. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М.: Финансы и статистика, 1989. 215 с.

43. Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука, 1987. 520 с.

44. Кленкин А.А., Корпакова И.Г., Павленко Л.Ф., Темердашев З.А. Экосистема Азовского моря: антропогенное загрязнение. Краснодар, 2007. 324 с.

45. Козинец Г.И., Макаров В.А. Исследования системы крови в клинической практике. М.: Триада-Х, 1997. 480 с.

46. Корниенко Г.Г., Кожин А.А., Воловик С.П., Макаров Э.В. Экологические аспекты биологии репродукции. Ростов-н/Д.: Эверест, 1998. 238 с.

47. Корниенко Г.Г., Дудкин С.И., Ложичевская Т.В., Бугаев Л.А. Эколого-функциональные принципы сохранения биоразнообразия ихтиофауны Азово-Черноморского бассейна: научн. труды международ. биотехнол. центра. М.: Спорт и культура, 2004. С. 42.

48. Корниенко Г.Г., Дудкин С.И., Сергеева С.Г., Ружинская Л.П., Цема Н.И., Бугаев Л.А., Войкина А.В. Физиолого-биохимическая характеристика рыб Азово-Черноморского бассейна в условиях современной антропогенной нагрузки // Вестник Камчатского государственного технического университета. 2017. Вып. 40. С. 58–67.

49. Короткова Л.И. Пестицидное загрязнение северо-восточной части Черного моря // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна. Ростов-н/Д.: Изд-во АЗНИИРХ, 2004. С. 333–337.

50. Корпакова Л.И., Воловик С.П. Антидотная терапия водных экосистем. Ростов-н/Д.: Логос, 2001. 330 с.

51. Корпакова И.Г., Короткова Л.И., Ларин А.А., Корниенко Г.Г. Влияние хлорорганических соединений на физиологические показатели пиленгаса в Черном море // Вопросы рыболовства. 2013. Т. 14, № 4 (56). С. 744–756.

52. Куликова Н.И. Опыт получения зрелых половых клеток кефалей // Рыбное хозяйство. 1982. № 9. С. 22–24.

53. Куликова Н.И., Туркулова В.Н., Шекк П.В. Повышение эффективности искусственного воспроизводства кефали пиленгаса путем управления сроками его размножения // Труды ЮгНИРО. 1993. Т. 39. С. 89–92.

54. Куликова Н.И., Булли А.Ф., Гнатченко Л.Г., Писаревская И.И., Федулina В.Н., Булли Л.И. Физиологическое состояние производителей пиленгаса в период миграций через Керченский пролив // Труды ЮгНИРО. 1996. Т. 42. С. 210–216.

55. Куликова Н.И., Моисеева Е.Б. Адаптивные особенности репродуктивной системы дальневосточного пиленгаса *Mugil soiuu* (Basilewsky), интродуцированного в Азово-Черноморский бассейн // Тезисы докл. XI Всерос. конф. по промысловой океанологии (г. Калининград, 14–18 сентября 1999 г.). М.: Изд-во ВНИРО, 1999. С. 122–123.

56. Ли Ч. Введение в популяционную генетику. М.: Мир, 1978. 555 с.

57. Ложичевская Т.В., Дорошева Н.Г., Ружинская Л.П. Некоторые изменения физиологического состояния пиленгаса в процессе акклиматизации в Азовском бассейне // Тезисы докл. междунар. конф.: Пробл. сохр. экосистем и рац. использ. биоресурсов Аз.-Черн. басс. (г. Ростов-на-Дону, 8–12 октября 2001 г.). Ростов-н/Д., 2001. С. 126–127.

58. Ложичевская Т.Г., Корниенко Г.Г., Дудкин С.И., Самарская Е.А., Сергеева С.Г., Цема Н.И., Ружинская Л.П. Нарушения в репродуктивной системе пиленгаса (*Liza haematoheila* Temminck & Shlegel) в Азово-Черноморском бассейне // Ветеринарная патология. 2011. № 4 (38). С. 74–78.

59. Любомудров А.К. Распределение и миграции пиленгаса (*Mugil so-iuyu* Basilewsky) в Керченском проливе // Труды ЮгНИРО. 1994. Т. 40. С. 56–57.

60. Майр Э. Популяции, виды и эволюция. М.: Мир, 1974. 460 с.

61. Макаров Э.В., Семенов А.Д., Чебанов М.С. и др. Влияние пестицидов на воспроизводительную систему азовских осетровых рыб // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна. Ростовн/Д.: Молот, 1997. С. 344–353.

62. Махоткин М.А., Дехта В.А. Адаптивная радиация азовского пиленгаса (*Mugil soiuu* Bas.): анализ биохимического полиморфизма // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных

водоемов Азовского бассейна: сб. науч. трудов АзНИИРХ (2000–2001 гг.). Ростов н/Д., 2002. С. 341–348.

63. Металлов Г.Ф., Ковалева А.В. Прижизненная диагностика степени подготовленности производителей осетровых рыб к нересту // Аквакультура осетровых рыб: проблемы и перспективы: сб. статей междунар. науч.-практ. конф. (г. Астрахань, 10–12 октября 2017). С. 144.

64. Металлов Г.Ф. Гераскин П.П., Аксенов В.П., Левина О.А. Многолетний мониторинг физиологического состояния основных видов каспийских осетровых рыб // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2016. № 1. С. 88–98.

65. Методы рыбохозяйственных и природоохранных исследований в Азово-Черноморском бассейне. Краснодар: ООО «Просвещение-Юг», 2005. 352 с.

66. Мизюркина А.В., Марковцев В.Г. Рост пиленгаса в Амурском заливе // Вопросы ихтиологии. 1981. Т. 21, № 4. С. 745–748.

67. Мизюркина А.В. Колебание численности пиленгаса и красноперок в р. Раздольной // Рыбное хозяйство. 1982. № 3. С. 32.

68. Мизюркина А.В., Мизюркин М.А. Пиленгас Амурского залива // Рыбное хозяйство. 1983. № 6. С. 32–33.

69. Мизюркина А.В. Нерест пиленгаса в Амурском заливе // Рыбное хозяйство. 1984. № 5. С. 31.

70. Мирзоян А.В., Иванова Е.А., Тимошкина Н.Н. Популяционно-генетические характеристики пиленгаса, обитающего в Азовском море // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна: сб. науч. трудов (2006–2007). Ростов-н/Д.: ООО «Диапазон», 2008. С. 168–172.

71. Моисеева Е.Б. О плодовитости и формировании расходного фонда половых клеток у кефали-пиленгаса *Mugil soiuu* Basilewsky // Труды ЮгНИРО. 1994. Т. 40. С. 91–94.

72. Моисеева Е.Б., Любомудров А.К. Морфофункциональная характеристика семенников пиленгаса *Liza (Mugil) soiuu*, акклиматизированного в Азово-Черноморском бассейне // Вопросы ихтиологии. 1997. Т. 37, № 2. С. 231–241.

73. Надолинский В.П. Размножение, возрастная и размерно-массовая структура популяции пиленгаса в российской зоне Черного моря // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна: сб. науч. трудов (2006–2007). Ростов-н/Д.: ООО «Диапазон», 2008. С. 172–174.

74. Надолинский В.П., Луц С.Ф., Рогов С.Ф. Ихтиопланктон морских рыб Азовского моря в современный период // XI Всерос. конф. по пром. океанологии. М.: Изд-во ВНИРО, 1999. С. 125–126.

75. Новоселова Н.В., Туркулова В.Н. Рост и питание ранней молоди пиленгаса *Liza haematocheilus* (Temmincket & Schlegel, 1845) *Mugil soiuu* (Basilewsky, 1855) при различных абиотических факторах // Всероссийская научная конференция: Аквакультура: мировой опыт и российские разработки. Ростов-н/Д.: ЮНЦ РАН, 2017. С. 416–418.

76. Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативы предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. М.: Изд-во ВНИРО, 2011. 257 с.

77. Омельченко В.Т., Салменкова Е.А., Махоткин М.А., Романов Н.С., Алтухов Ю.П., Дудкин С.И., Дехта В.А., Рубцова Г.А., Ковалев М.Ю. Дальневосточный пиленгас *Mugil soiuu* Basilewsky (Mugilidae, Mugiliformes): генетическая структура популяций и ее изменения при акклиматизации // Генетика. 2004. Т. 40, № 8. С. 1113–1122.

78. Орлов Ю.И., Овчинников Т.И. Хроника рыбохозяйственного освоения пиленгаса // Нетрадиционные объекты выращивания и проблемы акклиматизации (Информ. пакет ВНИЭРХ). 1991. Вып. 2. С. 6–8.

79. Орлов Ю.И. Акклиматизация пиленгаса: теория и практика // Инф. пакет. Сер. Аквакультура. Пробл. и достиж. / Всерос. науч.-исслед. и проект.-конструкт. ин-т экон., инф. и АСУ рыб. хоз-ва. 1997. № 1. С. 21–32.

80. Поляруш В.П., Овечко В.Ю., Шевцова Г.Н., Иванова В.П. Роль пиленгаса в прудовой аквакультуре // Проблемы и перспективы аквакультуры в России: матер. межд. науч.практ. конф. Краснодар, 2001. С. 226.

81. Попова Г.В., Шамрова Л.Д. Накопление пестицидов в воспроизводительной системе рыб и их гонадотоксические воздействия // Эксперим. вод. Токсикология. 1987. № 12. С. 191–201.

82. Порошина Е.А., Попова Т.М. К вопросу о рациональном рыбохозяйственном использовании биологических ресурсов водоемов Восточного Приазовья // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна: сб. науч. трудов (2012–2013). Ростов-н/Д.: Изд-во АзНИИРХ, 2014. С. 183–190.

83. Правдин Н.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищевая промышленность, 1966. 376 с.

84. Пряхин Ю.В. Промысловое освоение дальневосточной кефали-пиленгас, акклиматизированной в бассейне Азовского моря // 6 Всероссийская конференция по проблемам промыслового прогнозирования: тезисы докл. Мурманск: Изд-во ПИНРО, 1995. С. 122–133.

85. Пряхин Ю.В. Пиленгас в Азово-Черноморском бассейне: биология, уловы // Состояние и перспективы научно-практических разработок в области марикультуры России: матер. совещания. М., 1996. С. 262–264.

86. Пряхин Ю.В. Особенности учета пиленгаса в Азовском море // Всерос. конф. по проблемам промыслового прогнозирования (г. Мурманск, 4–9 октября 1998 г.): тезисы докл. Мурманск: Изд-во ПИНРО, 1998. С. 155–156.

87. Пряхин Ю.В. Азовская популяция пиленгаса: вопросы биологии, поведение и организация рационального промысла: автореф. дис. канд. биол. наук. Ростов н/Д., 2001. 24 с.

88. Пряхин Ю.В. Обзор развития и состояния промысла азовской популяции пиленгаса // Известия ВУЗов Сев.-Кав. региона. Естественные науки. 2002. № 4. С. 56–60.

89. Пряхин Ю.В., Воловик С.П. Результаты акклиматизации пиленгаса в Азовском море // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна: сб. науч. трудов АзНИИРХ. 1997. С. 204–210.

90. Пряхин Ю.В., Корниенко Г.Г., Баландина Л.Г., Рак С.Н., Галкина О.А. Особенности биологии и поведения кефали-пиленгаса, акклиматизированной в Азово-Черноморском бассейне, в условиях изменения климатических факторов // Тезисы докл. VIII съезда Гидробиологического общества РАН (г. Калининград, 16–23 сентября 2001 г.). Калининград: Изд-во АтлантНИРО, 2001. Т. 2. С. 55–56.

91. Пьянова С.В. Особенности репродуктивной системы пиленгаса *Mugil soiuu* Basilewsky 1855, акклиматизированного в водоемах Европейской части России: автореф. дис. канд. биол. наук. М.: Изд-во ВНИРО, 2002. 24 с.

92. Пьянова С.В. Характер нереста и особенности оогенеза пиленгаса *Liza haematocheila* (Temminck et Schlegel, 1845) в Азово-Черноморском бассейне // Комплексные исследования биологических ресурсов южных морей и рек: матер. I междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых (г. Астрахань, 7–9 июля 2004 г.). Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2004. С. 160–163.

93. Реков Ю.И., Попова Л.В., Лебедева Е.А. Статистические показатели функционирования рыбохозяйственного комплекса России Азово-Черноморского бассейна в 2012–2013 гг. // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна: сб. науч. трудов (2012–2013). Ростов-н/Д.: Изд-во АзНИИРХ, 2014. С. 191–201.

94. Романычева О.Д. Мероприятия по воспроизводству рыб, акклиматизируемых в Азовском бассейне // Труды ВНИРО. 1970. Т. 76. С. 70–76.

95. Рылов В.Г., Шерман И.М., Пилипенко Ю.В. Пиленгас в континентальных рыбохозяйственных водоемах. Симферополь: Таврия, 1998. 102 с.

96. Сабодаш В.М., Семененко Л.И. Экология и интродукция дальневосточной кефалипиленгаса *Mugil soiyu* Basilewski в водоемах Украины // Гидробиологический журнал. 1995. Т. 31, № 5. С. 38–45.
97. Сакун О.Ф., Буцкая Н.А. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. М.: Рыбное хозяйство, 1963. 84 с.
98. Сборник инструкций и нормативно-методических указаний по промышленному разведению осетровых рыб в Каспийском и Азовском бассейнах. М., 1986. 272 с.
99. Селиверстов В.В. Методические указания по проведению гематологического обследования рыб № 13-4-2/1487 (утв. Минсельхозпродом РФ 02.02.1999). М.: Изд-во Министерства сельского хозяйства и продовольствия, 1999. 20 с.
100. Семененко Л.И. Перспективы и проблемы развития марикультуры в Северном Приазовье // Первое Всесоюзное совещание пресноводной аквакультуры: тезисы докл. М., 1986. Ч. 3. С. 72–74.
101. Семененко Л.И. Дальневосточная кефаль-пиленгас — перспективный объект промышленного товарного рыбоводства в Азовском море // Современное состояние и перспективы рационального использования и охраны рыбного хозяйства в бассейне Азовского моря: тезисы докл. Всесоюз. конф. Ч. 2. Аквакультура. М.: Изд-во ВНИРО, 1987. С. 102–103.
102. Семененко Л.И. Экологические аспекты развития марикультуры пиленгаса // 6 Съезд Всесоюзного гидробиологического общества: тезисы докл. Мурманск, 1991. Ч. 1. С. 81–82.
103. Семененко Л.И., Кудлина Е.А. Вселение пиленгаса в Молочный лиман // Рыбное хозяйство. 1982. № 8. С. 33–34.
104. Семененко Л.И., Кудлина Е.А. Опыт выращивания сингиля в Молочном лимане // Рыбное хозяйство. 1982. № 7. С. 33–34.
105. Семененко Л.И., Фитингов Е.М. Искусственное разведение пиленгаса // Рыбное хозяйство. 1991. № 1. С. 54–55.
106. Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб. М.: Наука, 1983. 240 с.
107. Старушенко Л.И., Подол П.П. Результаты работ по акклиматизации дальневосточной кефали-пиленгаса в Черном море // Матер. III науч.-технич. конф. по кефалеводству. Белгород-Днестровский, 1976. С. 42–44.
108. Старушенко Л.И. Результаты акклиматизации дальневосточной кефали пиленгаса в Черном море // Рыбное хозяйство. 1977. № 1. С. 26–28.
109. Старушенко Л.И., Бабенко Л.А. Некоторые данные о сезонной динамике содержания жира в тканях разновозрастных групп пиленгаса, акклиматизируемого в бассейне Черного моря // Тезисы докл. V Всесоюзн. конф. по экологической физиологии и биохимии рыб. 1982. С. 129–131.
110. Студеникина Е.И., Сафронова Л.М., Мирзоян З.А., Фроленко Л.Н., Толоконникова Л.И., Мартынок М.Л., Шляхова Н.А. Биологи-

ческие основы формирования рыбопродуктивности Азовского моря в современный период. Ростов-н/Д.: Изд-во АЗНИИРХ, 2010. 170 с.

111. Трусов В.З. Некоторые особенности созревания и шкала зрелости половых желез осетра // Труды ВНИРО. 1964. Т. 56, вып. 3. С. 69–78.

112. Турдаков А.Ф. Воспроизводительная система самцов рыб. Фрунзе: Илим, 1972. 279 с.

113. Туркулова В.Н., Новоселова Н.В., Булли Л.И., Бобова А.С., Булли Ф.А., Заиченко Е.А. Анализ роста и выживаемости пиленгаса в течение трехлетнего цикла выращивания в условиях бассейнового хозяйства ФГБНУ «ЮгНИРО» // Труды ЮгНИРО. 2015. Т. 53. С. 80–91.

114. Физиолого-биохимические и генетические исследования ихтиофауны Азово-Черноморского бассейна / Методическое руководство. Ростов-н/Д.: Эверест, 2005. 100 с.

115. Финько В.А., Сверба В.А. Первый опыт выращивания пиленгаса в солоноватоводных прудах юга Украины // Рыбное хозяйство. 1973. № 2. С. 15–16.

116. Цветненко Ю.Б. Биохимический полиморфизм и генетическая изменчивость кефалей // Рыбохозяйственные исследования в Азово-Черноморском бассейне: сб. науч. трудов. М.: Изд-во ВНИРО, 1987. С. 107–120.

117. Цема Н.И., Дудкин С.И. Каротиноиды тканей самок русского осетра — биомаркеры устойчивости репродуктивной функции в условиях антропогенного загрязнения // Современные фундаментальные проблемы гидрохимии и мониторинга качества поверхностных вод России: матер. науч.-практ. конф. Ростов н/Д., 2009. Ч. 2. С. 222–225.

118. Черепанов В.В. Эволюционная изменчивость водных и наземных животных. Новосибирск: Наука, 1986. 387с.

119. Чесалин М.В., Чесалина Т.Л. Размерно-возрастная и половая изменчивость пластических признаков пиленгаса *Mugil so-iuy* в Азовском море // Проблемы сохранения экосистем и рационального использования биоресурсов Азово-Черноморского бассейна: матер. Междунар. науч. конф. Ростов н/Д., 2001. С. 198–200.

120. Чесалина Т.Л. О нересте пиленгаса *Mugil so-iuy* в Черном море // Вопросы ихтиологии. 1997. 37, № 5. С. 717–718.

121. Шадрин Н.В. Виды-вселенцы в Азовском и Черном морях: причины и последствия // Виды-вселенцы в европейских морях России. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2000. С. 76–90.

122. Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. Избранные труды. М.: Наука, 1982. 383 с.

123. Шевцова Э.Е. Акклиматизация пиленгаса // Рыбное хозяйство. 1991. № 8. С. 28–29.

124. Шкарина Т.В., Мизюркина А.В., Кудряева В.П. Некоторые данные о размножении пиленгаса *Mugil soiuu* (Basilewsky) в заливе Петра Великого // Экология и физиология размножения гидробионтов. Л.: Изд-во ЛГУ, 1989. С. 119–126.
125. Шульман Г.Е., Аболмасова Г.И., Столбов А.Я. Использование белка в энергетическом обмене гидробионтов // Успехи современной биологии. 1993. Т. 113, вып. 5. С. 576–586.
126. Яновский Э.Г., Изергин Л.В. Акклиматизация тихоокеанской кефали-пиленгаса *Mugil so-iuu* Basilewsky в Азовском море // Тез. докл. Междунар. симп. по марикультуре (Краснодар-Небуг, 24–27 сент., 1995 г.). М., 1995. С. 77–78.
127. Aebersold P.B., Winans G.A., Teel D.J., Milner G.B., Utter F.M. Manual for starch gel electrophoresis: a method for the detection of genetic variation // NOAA Technical Report NMFS 61. 1987. 19 p.
128. Gharrett A.J., Thomason M.A. Genetic changes in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) following their introduction in the Great Lakes // Can. J. fish. Aquat. Sci. 1987. Vol. 43. Pp. 787–782.
129. Cornuet J.M., Luikart G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data // Genetics. 1996. Vol. 144. Pp. 2001–2014.
130. Denniston C. Small population size and genetic diversity: implications for endangered species // Endangered birds: management techniques for preserving threatened species (ed. Temple S.A.). Madison: University of Wisconsin Press, 1978. Pp. 281–289.
131. Frankham R. Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review // Genet. Res. 1995. Vol. 66 (2). Pp. 95–107.
132. Kaya M., Mater S., Korkut A.Y. A new grey mullet species «*Mugil so-iuy* Basilewsky» (Teleostei: Mugilidae) from the Aegian coast of Turkey // Tr. J. Zoology. 1998. Vol. 22. Pp. 303–306.
133. Koutrakis E.T., Stavros E.P. First record in the Mediterranean (North Aegean Sea, Greece) of the pacific mullet *Mugil soiuu* Basilewsky, 1855 (Mugilidae) // Cybium. 2000. Vol. 24, no. 3. Pp. 299–302.
134. Maruyama T., Fuerst P.A. Population bottlenecks and non equilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck // Genetics. 1985. Vol. 111. Pp. 675–689.
135. Nakano T., Tosa M., Takeuchi M. Improvement of biochemical features in fish health by red yeast and synthetic astaxanthin // J. Agric. Food Chem. 1995. Vol. 43. Pp. 1570–1573.
136. Nakano T., Kanmuri T., Sato M., Takeuchi M. Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout // Biochim. Biophys. Acta. 1999. Vol. 1426. Pp. 119–125.

137. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Natur. 1972. Vol. 106. Pp. 283–292.
138. Nei M., Maruyama T., Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability in populations // Evolution. 1975. Vol. 29. Pp. 1–10.
139. Nei M. The theory of genetic distance and the evolution of human races // Jap. J. Hum. Gen. 1978. Vol. 23. Pp. 341–369.
140. Omura T., Sato R. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes // Evidence for its hemoprotein nature / J. Biol. Chem. 1964. 239. Pp. 2370–2378.
141. Otto D.M.E., Moon T.W. Phase I and II enzymes and antioxidant responses in different tissues of brown bullheads from relatively polluted and non-polluted systems // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. 1996. Vol. 31, no. 1. Pp. 141–147.
142. Peacock A.C., Bunting S.L., Queen K.G. Serum protein electrophoresis in acrylamide gel: patterns from normal human subjects // Science. 1965. Vol. 147. Pp. 1451–1452.
143. Ridgway G.L., Shernburne S.W., Lewis R.D. Polymorphism in the serum esterases of Atlantic herring // Trans. Am. Fish. Soc. 1970. Vol. 99. Pp. 147–151.
144. Rossi A.R., Capula M., Crossetti D., Sola L., Campton D.E. Allozyme variation in global population of striped mullet, *Mugil cephalus* (Pisces: Mugilidae) // Mar. Biol. 1998. Vol. 131. Pp. 203–212.
145. Shaklee J.B., Allendorf F.W., Morizot D.C. & Whitt G.S. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. Transactions of the American Fisheries Society, 1990. Vol. 119. Pp. 2–15.
146. Tailor S.L., Lambden M.P., Tappel A.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // Lipids, 1976. Vol. 11, no. 7. Pp. 530–538.
147. Unsal S. A new mullet species for Turkish seas: *Mugil soiyu*, Basilevsky. DOGA, Tr. // J. Vet. Anim. Sc. 1992. Vol. 16. Pp. 427–432.
148. Wright S. Evolution and the genetics of populations // Variability Within and Among Natural Populations. Chicago: University of Chicago Press, 1978. Vol. 4. 580 p.

Научное издание

Корниенко Галина Гавриловна
Дудкин Сергей Иванович
Бугаев Леонид Анатольевич
Сергеева Светлана Григорьевна
Ружинская Людмила Петровна
Кожурин Ефим Алексеевич
Цема Нина Ивановна
Махоткин Михаил Александрович

**Физиологические и генетические аспекты
биологии пиленгаса *PLANILIZA HAEMATOCHEILA*
(TEMMINCK & SCHLEGEL, 1845)
в Азово-Черноморском бассейне**

На русском языке

Фотография, использованная на обложке, заимствована из общедоступных ресурсов сети Интернет

Подписано в печать 19.04.2021 г. Формат 60x84/16.
Печать цифровая. Бумага офсетная. Объем 13,0 печ. л.
Тираж 300. Заказ № 6226.

ФГБНУ «ВНИРО». Азово-Черноморский филиал
ФГБНУ «ВНИРО» («АЗНИИРХ»)
344002, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. Береговая, 21в.

Отпечатано в типографии ООО «Диапазон-Плюс»
344011, г. Ростов-на-Дону, пер. Островского, 124
Лиц. ПЛД № 65-116 от 29.09.1997 г.

