

УДК 597.58

РАННИЕ СТАДИИ РАЗВИТИЯ КОВРОВОЙ СОЛЕИ *LIACHIRUS MELANOSPILOS* (BLEEKER, 1854) (PLEURONECTIFORMES: SOLEIDAE) ИЗ ЮЖНО-КИТАЙСКОГО МОРЯ (ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ВЬЕТНАМ)

© 2023 г. А. М. Шадрин^{1, *}, А. В. Семенова^{1, 2}, Нгуен Тхи Хай Тхань³

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва 119899, Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва 119333, Россия

³Приморское отделение Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра, Нячанг 650000, Вьетнам

*e-mail: shadrin-mail@mail.ru

Поступила в редакцию 06.05.2022 г.

После доработки 10.08.2022 г.

Принята к публикации 06.10.2022 г.

Представлены иллюстрации и морфологическое описание стадий раннего развития ковровой солей *Liachirus melanospilos*. Изучен период от позднего эмбриогенеза до завершения метаморфоза и перехода в ювенильное состояние. Материал для исследования получен из ихтиопланктонных сборов и инкубирован в лабораторных условиях при температуре около 24°C. Таксономическая идентификация проведена на основании секвенирования частичной последовательности митохондриального гена *COI*.

Ключевые слова: *Liachirus melanospilos*, Soleidae, икра, личинки, ДНК-баркодинг, таксономическая идентификация

DOI: 10.31857/S0134347523010072, **EDN:** LSRGRO

Вид *Liachirus melanospilos* (Bleeker, 1854) (Pleuronectiformes: Soleidae), или ковровая соля, распространена в юго-восточной части Индийского океана и западной части Тихого океана: от Индонезии на восток до Филиппин, на север до юга Японии и на юг до севера Австралии (Fricke et al., 2022).

Некоторые авторы (Voronina et al., 2016) считают род *Liachirus* монотипическим, другие включают в его состав два вида: *L. melanospilos* и *L. whitleyi* (Chabanaud, 1950) (Fricke et al., 2022; Froese, Pauly, 2022). В Южно-Китайском море отмечен только вид *L. melanospilos* (см.: Randall, Lim, 2000).

Семейство Soleidae объединяет около 175 видов, распределенных по 32 родам (Nelson et al., 2016). По данным Рэндалла и Лима (Randall, Lim, 2000), в Южно-Китайском море встречаются 33 вида из 13 родов. В соответствии с современными данными (Voronina et al., 2016; Hui, Grinang, 2020; Froese, Pauly, 2022) ихтиофауна Южно-Китайского моря представлена 13 родами и 38 видами.

Данные по морфологии эмбриональных и ранних личиночных стадий рыб важны для изучения закономерностей их развития и являются важнейшим инструментом для проведения ихтио-

планктонных исследований в различных направлениях — зоогеографическом, фаунистическом, промысловом и экологическом мониторингах. На фоне широкого биоразнообразия рыб, особенно в тропических районах, наблюдается заметный недостаток такой информации и особенно по эмбриональным и ранним личиночным стадиям развития. Определение видовой принадлежности икры и ранних личинок, имеющих минимальный набор признаков, является наиболее сложной задачей (Leis, 2015).

В настоящее время данные о морфологии ранних стадий развития представителей рода *Liachirus* в литературе отсутствуют. Информация о некоторых периодах раннего онтогенеза имеется приблизительно для 20 видов, принадлежащих к 14 родам: *Aesopia* (см.: Ikeda, Mito, 1988), *Austroglossus* (см.: Brownell, 1979; Wood, 2000), *Barnardichthys* (см.: Brownell, 1979), *Buglossidium* (см.: Russell, 1976), *Dicologlossa* (см.: Herrera et al., 2010), *Heteromycteris* (см.: Fraser, Smith, 1974; Brownell, 1979), *Microchirus* (см.: Russell, 1976; Marinaro, 1991b), *Monochirus* (см.: Olivar, Fortuño, 1991), *Pardachirus* (см.: Шадрин и др., 2022), *Pegusa* (см.: Дехник, 1973; Russell, 1976; Marinaro, 1991a), *Solea* (см.: Thangaraja, Ramamoorthi, 1982; Devauchelle et al., 1987; Marinaro, 1991a; Strydom

et al., 2015; Rodriguez et al., 2017), *Synaptura* (см.: Brownell, 1979; Ramanathan, Natarajan, 1979; Thompson et al., 2007), *Synapturichthys* (см.: Brownell, 1979), *Zebrias* (см.: Ikeda, Mito, 1988). Из 33 видов семейства Soleidae, представленных в Южно-Китайском море, лишь для четырех видов (*Solea ovata*, *Zebrias zebra*, *Aesopia cornuta*, *Pardachirus pavoninus*) опубликованы данные о морфологии ранних стадий развития.

Цель настоящей работы – описание морфологии стадий раннего развития *L. melanospilos*, видовой принадлежность которого определена с помощью метода баркодинга, и выделение морфологических признаков, имеющих значение при его таксономической идентификации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа с живым эмбриологическим материалом

Исследования были проведены в 1993–2020 гг. на базе Приморского Отделения Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра. Источником материала послужили ихтиопланктонные сборы, выполненные в акватории зал. Нячанг (Южно-Китайское море) в центральной части проливов между островами Че и Мьеу, Че и Там, Че и Мот, а также между островами Мот и Мун. Методика проведения планктонных сборов описана ранее (Шадрин и др., 2022).

Хронология фрагмента эмбрионального и личиночного развития *Liachirus melanospilos* представлена на основе наблюдений более чем за 20 экземплярами рыб, пойманными в 1994–1997 и 2015–2020 гг. Рисунки выполнены в 1994–1997 гг., фотоиллюстрации – в 2015–2020 гг. Молекулярно-генетический анализ проведен на одной особи.

За период исследований было предпринято несколько попыток выкармливания личинок исследованного вида. В результате лишь одна личинка прошла метаморфоз и достигла ювенильной стадии. В остальных случаях питающиеся личинки погибли, не достигнув 8 сут после вылупления.

В качестве корма использовали планктон, собранный сетью из мельничного сита с ячей около 0.10–0.14 мм, позже около 0.15–0.18 мм, с последующим просеиванием через сито размером около 0.30 мм для задержания более крупных объектов, способных повредить личинок.

Измерения яиц выполнены в разные сезоны сбора материала и представлены как выборочное среднее со стандартной ошибкой. В качестве размеров предличинок и личинок приведена полная длина (*TL*), представленная в виде диапазона, характерного для соответствующей стадии.

Иллюстрации, измерения и морфологические описания стадий выполнены на живом материале.

Тотальную ДНК выделяли с использованием 5% раствора Chelex 100 (BIO-RAD) и протеиназы К (ДИАЭМ) согласно протоколу (см.: Frantini-Silva et al., 2015). Были получены частичные нуклеотидные последовательности первой субъединицы митохондриального гена цитохромоксидазы С (*COI*). При проведении ПЦР использовали универсальные праймеры FF2d и FR1d (Ivanova et al., 2007). Методики проведения ПЦР и секвенирования ДНК описаны ранее (Шадрин и др., 2022).

Для определения видовой принадлежности исследуемых образцов был выполнен поиск последовательностей, гомологичных полученной нами, в Международных базах данных GenBank (алгоритм BLAST) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) и BOLD (www.boldsystems.org).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частичная нуклеотидная последовательность длиной 569 п.н. *COI* мтДНК изученного нами образца была депонирована в GenBank (номер ON428314).

Сравнение с референсными последовательностями из базы GenBank показало сходство более 99.8% с тремя экземплярами *Liachirus melanospilos* из Южно-Китайского моря (KF573188.1, MW041874.1, KU945141.1) и с двумя образцами *Pardachirus pavoninus* (Lacépède, 1802) также из Южно-Китайского моря (EF607483.1, EF607484.1). Сиквенсы, представленные на сайте BOLD, полностью совпадали с последовательностями из GenBank, поэтому отдельное сравнение не проводилось. Характерно, что в базе GenBank имеются еще семь образцов *P. pavoninus* (AP006044.1, KJ433565.1, KF809410.1, KJ461620.1, MW041875.1, MK777670.1, MK777668.1), сходство которых с исследуемыми нами образцами составило около 83%.

Встречаемость в пробах

Икра *L. melanospilos* в небольшом количестве встречалась в пробах в течение всего времени проведения работ, но в феврале–апреле чаще – до 22 экз. за сезон, а в осенне-зимнее время – до 6. Общее количество икры рыб, пойманной за сезон работ, составляло приблизительно 5–7 тыс. осенью и 11–34 тыс. в зимне-весенний период. Максимальный дневной улов (на три пробы) яиц *L. melanospilos* составлял 8, 10 и 11 экз. в феврале и марте (20.02.2014, 15.03.1999 и 15.03.2000 соответственно).

*Морфологическое описание стадий раннего развития *L. melanospilos**

Икра *L. melanospilos* имела хорошо выраженную положительную плавучесть. Яйцо с живым

эмбрионом, находящееся на глубине 5–7 см, при солености воды 32–34‰ и отсутствии дополнительной турбулентности занимало положение непосредственно под поверхностью воды в течение около 8–12 с.

Яйца правильной сферической формы, их диаметр составлял от 1.20 до 1.35 мм (1.29 ± 0.0107 , $n = 14$). Оболочка прозрачная, с характерной структурированностью всей внешней поверхности. Хорион формировал полигональные ячейки с 4–8 гранями (преимущественно с шестью гексагональными гранями) (рис. 1а–1г, 1е). Длина сторон граней многоугольников составляла от 0.008–0.025 мм (чаще 0.017–0.022 мм), высота – около 0.005 мм. Гомогенный несеgmentированный на гранулы бесцветный прозрачный желток содержал большое количество (более 50) мелких (диаметром 0.08–0.018 мм) бесцветных жировых капель. На исследованных стадиях развития подавляющее большинство жировых капель было сконцентрировано в одно скопление под средней частью зародыша (рис. 1а, 1д, 1е). Иногда встречались экземпляры, у которых одна или несколько жировых капель располагались обособленно от группы. Ткани зародышей всех отловленных экземпляров были прозрачны и бесцветны.

К началу исследования морфологического состояния эмбрионов в лаборатории все особи *L. melanospilos* находились на стадиях развития, близких к дифференцировке в осевой мезодерме 10–15 пар сомитов; пигментация соответствовала стадии “возраст ~27 ч до вылупления” (рис. 1а–1в).

Возраст ~27 ч до вылупления (д.в.) (рис. 1а, 1б). В боковых закладках осевой мезодермы выделялось около 13 пар сомитов. Были дифференцированы обонятельные плакоды, в слуховых и глазных плакодах начинали формироваться полости. Под задней частью тела зародыша был сформирован крупный, почти сферической формы, Купферов пузырек. Покровы зародыша были пигментированы множеством компактно сгруппированных коричневых меланофоров, которые распределялись почти равномерно по всему покровному слою зародыша. Плотность расположения меланофоров была немного выше непосредственно на теле зародыша, а на перидерме на небольшом участке в вентральной области желточного мешка они отсутствовали.

Возраст ~23.5 ч д.в. Начиналось обособление хвостовой почки, которое сопровождалось началом редукции Купферова пузырька. С этого момента он стал быстро уменьшаться в размерах, приобретал неправильную форму и исчезал в течение нескольких часов. В боковых закладках осевой мезодермы было сформировано 18–19 пар сомитов. Передние сомиты приобретали шеврообразную форму. Основной характер пигмен-

тации зародыша практически не менялся до вылупления.

Возраст ~16 ч д.в. (рис. 1д). Непигментированная область на вентральной части желточного мешка стала почти незаметной. К этому времени в теле зародыша выделилось около 28 мускульных сегментов. Эмбрион перешел в подвижное состояние, мускулатура туловища начала совершать едва заметные продольные движения, очень слабые сокращения сердца происходили с частотой около 1 раз/с.

Возраст ~12 ч д.в. (рис. 1е). В теле эмбриона выделилось приблизительно 32 мускульных сегмента. Каждые 1.0–1.5 мин в мускулатуре тела проходила волна сокращения, охватывавшая также туловищный и хвостовой отделы. Частота сердечных сокращений не изменилась, однако увеличилась их амплитуда. Общий характер распределения меланофоров не изменился. Непигментированное пятно на вентральной части желточного мешка почти исчезло. Площадь части меланофоров, расположенных преимущественно на теле эмбриона, увеличилась, они сформировали небольшие выросты.

Возраст ~3–6 ч после вылупления (п.в.) (рис. 2а), *TL* 2.3–2.6 мм. Вылупившиеся предличинки имели хорошо выраженную положительную плавучесть. Они были малоподвижными и, как правило, находились в неподвижном состоянии под поверхностной пленкой, касаясь ее задне-вентральной частью поверхности желточного мешка и нижней частью хвостового отдела протоптеригия. Выраженная реакция на свет отсутствовала. В теле насчитывалось 38–40 мускульных сегментов: 13–14 туловищных и 25–27 хвостовых. На уровне первых трех сегментов на желточном мешке с каждой стороны были видны бугорки скоплений клеточного материала – зачатки лопастей грудных плавников. Интенсивность пигментации, характер распределения меланофоров и их состав мало отличались от таковых у эмбриональных. Меланофоры коричневого цвета были почти равномерно распределены по покровному слою предличинки. Подавляющее большинство пигментных клеток имели компактную форму, однако количество клеток с выростами, заметно увеличилось. Анальное отверстие открывается в нижней части протоптеригия на границе его преанальной и постанальной частей. Мочевой пузырь сокращался и наполнялся с частотой 1 раз в 5–10 мин. На уровне 1–8-го сегментов пищеварительный тракт имел утолщенные стенки, нижняя часть делала плавный прогиб в глубину желтка. Перистальтика отсутствовала. В передней части предличинки был хорошо развит гидросинус.

Возраст ~15–18 ч п.в. (рис. 2б), *TL* 2.7–3.0 мм. В теле предличинки насчитывалось 36–37 мускульных сегментов: 11–12 туловищных и 25–26

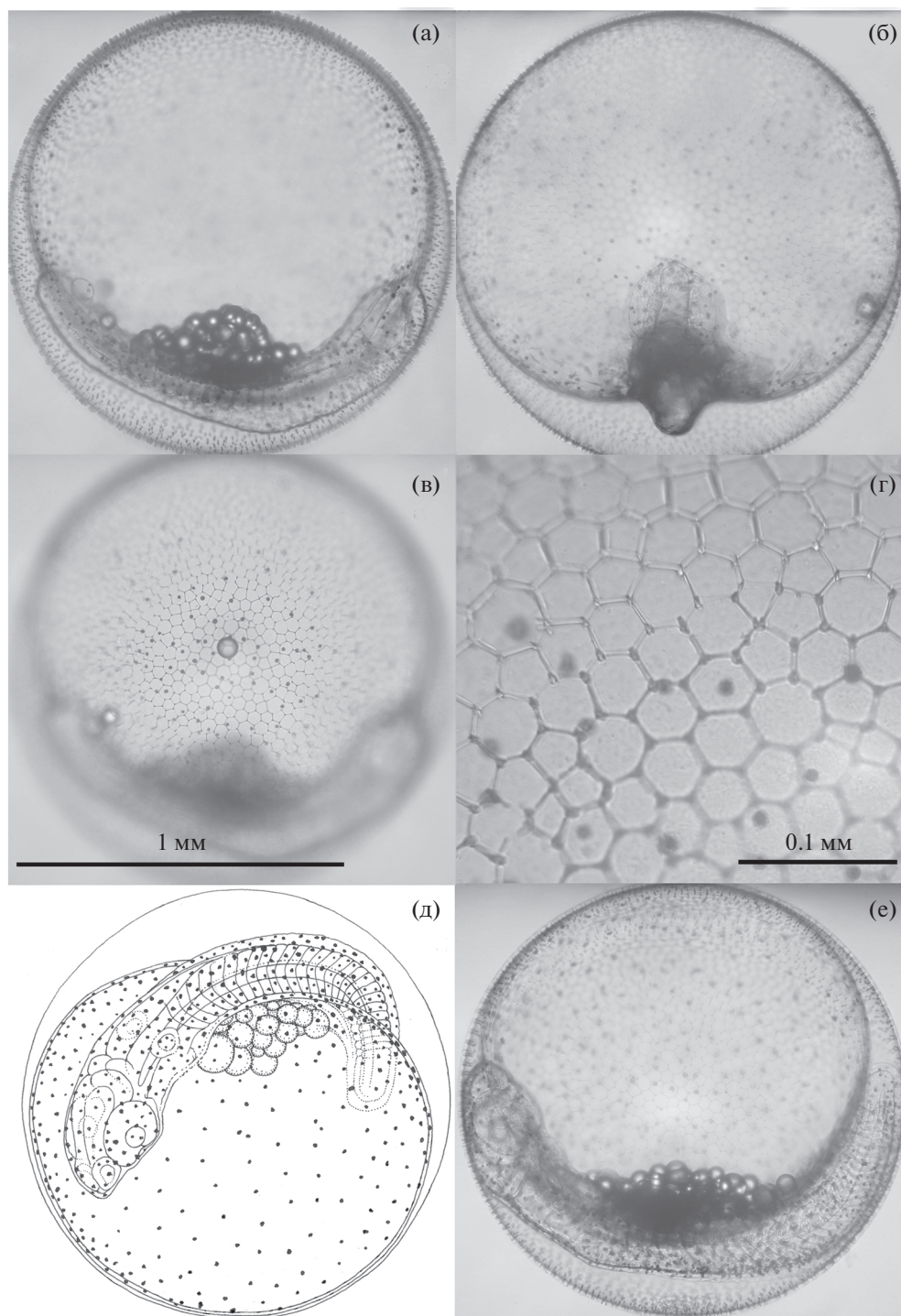


Рис. 1. Эмбриональное развитие *Liachirus melanospilos*: а – эмбрион внутри яйцевой оболочки, 27,4 ч до вылупления (фото); б – то же, вид головного отдела сверху (фото); в – поверхность яйцевой оболочки (фото); г – участок поверхности яйцевой оболочки на большем увеличении (фото); д – эмбрион внутри яйцевой оболочки, 16 ч до вылупления (рисунок); е – эмбрион внутри яйцевой оболочки, 12 ч до вылупления (фото).

хвостовых. Свободные лопасти зачатков грудных плавников располагались в области 1–3-го сегментов почти перпендикулярно латеральной стороне тела. Их основания занимали положение,

близкое к вертикальному. В состав клеток, определявших пигментацию, по-прежнему входили только коричневые меланофоры, причем большинство из них находились в компактном состо-

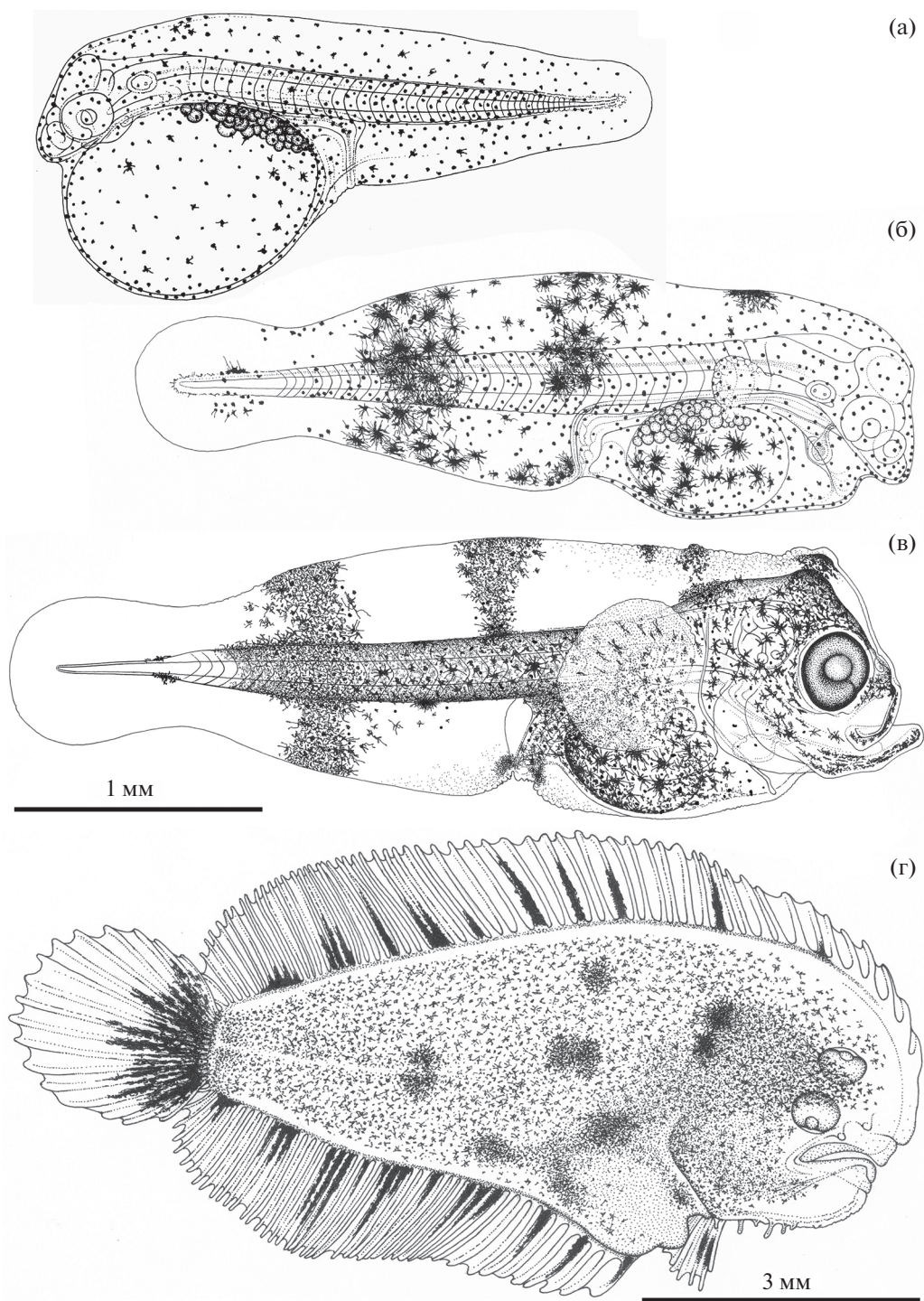


Рис. 2. Личиночное развитие *Liachirus melanospilos* (рисунок): а – предличинка, 3–6 ч после вылупления, 2,3–2,6 мм; б – предличинка, 15–18 ч после вылупления, 2,7–3,0 мм; в – личинка, 120 ч после вылупления, 3,6–3,8 мм; г – ювенильная особь ~24 сут после вылупления и 6 сут после перехода к бентосному образу жизни, *TL* ~ 11,0 мм. Области, окрашенные в красно-оранжевый цвет, выделены равномерным точечным пунктиром.

янии. Такие клетки располагались как на внутренней поверхности покровного слоя, так и на поверхности мускулатуры тела, отделов головного мозга и т.д. Уплощенные дендровидные мела-

нофоры с большим количеством тонких выростов разной длины, участвовали в пигментации латеральных областей желточного мешка, образуя скопление в виде большого пятна на верхней

части гидросинуса над 1–2-м мускульным сегментом. Они располагались на внутренней стороне перидермы и формировали два довольно широких поясковых скопления на границе туловищного и хвостового отделов (сегменты 7–15) и в середине хвостового отдела (сегменты 20–28). Предличинки имели слаболожительную или нейтральную плавучесть и большую часть времени находились в неподвижном состоянии под поверхностью воды или во взвешенном состоянии в толще, проплывая 1–3 см каждые 1–5 мин.

Возраст ~3 сут п.в., *TL* 3.2–3.5 мм. В теле предличинки насчитывалось 35–36 мускульных сегментов: 10–11 туловищных и приблизительно 25 хвостовых. Предличинки имели почти нейтральную плавучесть и сохраняли относительно низкую подвижность, проплывая 1–3 см каждые 20–40 с; остальное время они находились в состоянии покоя; появилась положительная реакция на источник света. Усилилась интенсивность пигментации. Большинство меланофоров приобрели дендровидную форму. Среди коричневых пигментных клеток появились черные. Желток был резорбирован на 80–90%. Жировые капли сохранились, их количество уменьшилось, но размер несколько увеличился. Были хорошо дифференцированы желудок и отделы кишечника. К передней части остатка желтка примыкал зачаток печени с хорошо заметным бесцветным желчным пузырем. Свободные лопасти зачатков грудных плавников и челюстной аппарат были неподвижны. Перистальтика отсутствовала.

Возраст ~5 сут п.в. (рис. 2в), *TL* 3.6–3.8 мм. В теле личинки насчитывалось 33–35 мускульных сегментов: 10 туловищных и 23–25 хвостовых. Плавучесть была слабо отрицательной, заметно увеличилась плавательная активность и сильно усложнилась траектория плавания. Челюстной аппарат и свободные лопасти грудных плавников были хорошо дифференцированы и приобрели подвижность. Личинки периодически останавливались, S-образно изгибали тело и совершали броски, направленные в сторону потенциальных объектов питания, сопровождавшиеся хватательными движениями челюстей.

Зачаток печени располагался в передне-вентральной части полости тела сразу за клейтрумом и примыкал спереди к изгибу желудка. Верхней частью печень частично охватывала крупный желчный пузырь, заполненный желто-зеленым секретом. У некоторых особей можно было заметить остаток желтка с жировыми каплями, который примыкал к печени также сзади. Жировые капли располагались примерно на том же месте, что и на ранних стадиях, — в верхней части полости тела перед началом прямой кишки. В периодические волны перистальтических сокращений были вовлечены все участки пищеварительного

тракта. В составе пигментирующих клеток преобладали коричневые меланофоры, создававшие соответствующий основной цветовой фон, но практически повсеместно среди них присутствовало довольно большое число черных меланофоров. Подавляющее большинство пигментных клеток имели дендровидную форму. Увеличилась интенсивность пигментации, однако характер распределения клеток принципиально не изменился. Сформировалось отчетливое скопление в покровах над средним мозгом. Усилилась пигментация поверхности отделов мозга, особенно среднего, а также элементов челюстного аппарата и жаберных крышек. Меланиновая пигментация глаз в проходящем свете придает им абсолютно черную окраску, а гуаниновая проявляется металлическим блеском в отраженном свете.

Возраст ~18 сут п.в. Переход от пелагического образа жизни к бентосному. Личинка почти все время проводила лежа на левом боку на дне; кормилась преимущественно в таком положении, лишь изредка поднималась над дном при плавании.

Возраст ~24 сут п.в. (рис. 2г), *TL* ~ 11.0 мм. В спинном плавнике малька насчитывали 61 луч, в анальном — 46 лучей, в брюшных плавниках — по 5 лучей (D61 A46 V5). Грудные плавники были полностью редуцированы. Пигментация правой верхней стороны тела живого малька была сложной, в окраске присутствовали разные оттенки коричневого, красного и черного цвета. По всей длине оснований спинного и анального плавников тянулось по узкой полосе красно-оранжевого цвета. Область, равномерно окрашенная в такой же цвет, охватывала участок над брюшной полостью, а также правую и центральную части поверхности головы примерно до уровня заднего края глаз (на рисунке выделена равномерным точечным пунктиром). Большая часть площади правой стороны тела была относительно равномерно покрыта мелкими темно-коричневыми и черными меланофорами. Черных меланофоров было значительно меньше, в некоторых местах они формировали несколько хорошо выраженных скоплений в виде темных пятен. Значительное количество лучей во всех непарных плавниках было частично окрашено темно-коричневым пигментом. Пигментированный луч всегда был окрашен в проксимальной части и окраска распространялась в дистальном направлении в разной степени. Задняя папилла на правой нижней стороне головы была окрашена в красно-оранжевый цвет, остальные папиллы были бесцветными. Слепая левая сторона тела малька была непигментированной — светлой с серо-бежевым оттенком.

ОБСУЖДЕНИЕ

В базе данных GenBank под видовым названием *Pardachirus pavoninus*, очевидно, размещены последовательности, принадлежащие как этому виду, так и виду *Liachirus melanospilos*, что связано с часто встречающейся в последнее время некорректной таксономической идентификацией объектов (Collins, Cruickshank, 2013). При этом взрослые особи *L. melanospilos* и *P. pavoninus* достаточно хорошо различаются по морфологическим признакам и окраске (Okiyama, 1988; Matsunuma et al., 2011; Voronina et al., 2016; Froese, Pauly, 2022) и их определение не является очень сложной задачей. Ранее была опубликована работа по раннему развитию *P. pavoninus* (Шадрин и др., 2022), таксономическая идентификация которого была подтверждена более чем 99% сходством с референсными гаплотипами из GenBank и BOLD (Satoh et al., 2016; Thu et al., 2019, и др.). Число лучей в непарных плавниках ювенильных особей и сегментная формула личинок, полученных в экспериментальных условиях, соответствовали характеристикам данного вида, что является морфологическим подтверждением правильности определения. Ювенильная особь и личинки, исследованные в настоящей работе, также соответствовали видовым признакам, известным для *L. melanospilos* (см. Okiyama, 1988; Voronina et al., 2016; Froese, Pauly, 2022), и отличаются от таковых *P. pavoninus* (Шадрин и др., 2022). Сходство нуклеотидной последовательности образца, исследованного в данной работе, и *P. pavoninus* (MW380722) из статьи Шадрина с соавторами (2022) составляет 82.6% и свидетельствует о том, что эти два представителя семейства Soleidae очень хорошо дифференцированы по митохондриальному гену *COI*. Кроме того, в GenBank имеются три референсных образца *L. melanospilos*, представленные тремя независимыми коллективами исследователей (Gong et al., 2015; Chang et al., 2017; Truong et al., 2020), и два образца, совпадающие с ними, депонированные одним автором (Zhang, 2011) под названием *P. pavoninus*. В данной публикации (Zhang, 2011) представлен фотоснимок, который, несмотря на значительную вариабельность окраски у *L. melanospilos* (Matsunuma et al., 2011; Voronina et al., 2016; Froese, Pauly, 2022), не оставляет сомнений, что авторами исследован не *P. pavoninus*, а *L. melanospilos*. Таким образом, объектом нашего исследования является *L. melanospilos*, а два гаплотипа, депонированные в базу данных GenBank под номерами EF607483.1 и EF607484.1 (Zhang, 2011) под видовым названием *P. pavoninus*, определены ошибочно и принадлежат *L. melanospilos*.

Нерест большинства пелагофилов в районе проведения работ происходит перед восходом солнца в 4–5 ч и сразу после его захода в 18–19 ч.

В пробах, собранных в течение большого количества сезонов, икра *L. melanospilos* встречалась только на стадиях 10–15 пар сомитов, близко предшествующих началу обособления хвостовой почки. Нерест исследованного вида в районе проведения работ предположительно происходит один раз в сутки и только вечером. При наличии утреннего нереста в уловах планктона, вероятно, присутствовали бы особи *L. melanospilos* как на очень ранних стадиях в возрасте нескольких часов, так и на значительно более поздних стадиях, чем наблюдалось, так как продолжительность инкубационного периода этого вида заметно больше суток.

Таким образом, инкубационный период у *L. melanospilos* ориентировочно составляет около 45 ч, что сопоставимо с результатами исследования других Soleidae. В частности, эмбриональный период у *Dagetichthys marginatus* при температуре 19° составляет 42–49 ч (Thompson et al., 2007), у *Solea senegalensis* при 17–21° – 36–42 ч (Sarasquete et al., 2019), у *S. solea* при 13°C ~3.5 сут (Lagardère, Troadec, 1997), а у *P. pavoninus* при ~24°C – 46–49 ч (Шадрин и др., 2022).

Диаметр яиц у *L. melanospilos* близок к средним значениям данного показателя у других видов этого семейства (Nichols, 1976; Russell, 1976; Brownell, 1979; Ikeda, Mito, 1988; Marinaro, 1991a, 1991b; Olivar, Fortuño, 1991; Sarasquete et al., 2019), однако значительно больше, чем у подавляющего большинства рыб (0.6–0.8 мм), встречающихся в пробах в районе проведения работ. По характерной структурированности поверхности яйцевых оболочек икра *L. melanospilos* хорошо отличается от икры у большинства рыб. Объем данных о строении яиц у разных видов рыб очень ограничен, но известно, что похожие яйцевые оболочки в настоящее время описаны, как минимум, еще у 10 представителей ихтиофауны Индо-Пацифики.

Подобная структура хориона отмечена у некоторых видов из семейств Aulopidae (см. Ikeda, Mito, 1988), Synodontidae (Ikeda, Mito, 1988; Nguyen, 2001; Shao et al., 2001), Uranoscopidae (Ikeda, Mito, 1988; Shao et al., 2001), Pleuronectidae (Hirai, 1993) и Soleidae (Ikeda, Mito, 1988). В Южно-Китайском море известны два представителя Soleidae – *Aesopia cornuta* и *Zebrias*, имеющие похожие оболочки. Эти виды близки к *L. melanospilos* по размеру яиц, но шестиугольники, формируемые их хорионом, значительно крупнее, их стороны более чем в 2 раза длиннее. Икра, известная для видов семейства Uranoscopidae, заметно крупнее, чем у *L. melanospilos* (Ikeda, Mito, 1988); у представителей Aulopidae и Synodontidae яйца без жировых капель. Для них также характерны очень слабая пигментация эмбриона и отсутствие пигментных клеток на желточном мешке на всех стадиях его существования. У очень близких по размеру и структу-

ре хориона яиц *Pleuronichthys cornutus* (Pleuronectidae) из Южно-Китайского моря (Randall, Lim, 2000) в желтке имеется только одна жировая капля (Hirai, 1993). В желтке яиц *L. melanospilos* содержится большое число довольно мелких жировых капель, что также характерно практически для всех изученных представителей Soleidae. Единственное известное исключение составляет *Heteromycteris capensis*, яйца которого по данным Броунелла (Brownell, 1979) вообще не содержат жировых капель. У *L. melanospilos*, как и у большинства видов семейства, яйца с гомогенным желтком (Шадрин и др., 2022; Brownell, 1979; Ikeda, Mito, 1988; Marinaro, 1991a, 1991b), но у некоторых видов желток сегментирован по периферии (Russel, 1976; Olivar, Fortuño, 1991).

На эмбриональных стадиях у *L. melanospilos* имеются характерные особенности в структуре яйцевых оболочек, а именно в количестве, размере и расположении жировых капель в желтке и пигментации эмбриона, которые позволяют достаточно легко идентифицировать икру данного вида.

Число мускульных сегментов у личинок рыб связано с видоспецифичной дефинитивной позвонковой формулой и является важнейшим признаком при их таксономической идентификации. Становление сегментной формулы в раннем развитии *L. melanospilos* имеет характерную для многих видов динамику. В течение эмбрионального периода число мускульных сегментов увеличивается до максимального значения и составляет 38–40 (13–14 туловищных и 25–27 хвостовых) у только что вылупившихся предличинок. Менее чем через сутки оно уменьшается до 36–37 (11–12 туловищных и 25–26 хвостовых), а с переходом на внешнее питание – до 33–35 (10 туловищных и 23–25 хвостовых), что соответствует числу позвонков 33–34 у взрослых особей этого вида (Okuyama, 1988; Froese, Pauly, 2022). Уменьшение общего числа сегментов, очевидно, происходит за счет редукции границ терминальных хвостовых, а туловищных – за счет смещения задней границы полости тела в процессе развития и дифференцировки ее органов относительно сегментов тела. Для многих изученных видов Soleidae в норме характерно 9–10 туловищных позвонков (Fraser, Smith, 1974; Nichols, 1976; Brownell, 1979; Randall, Bartsch, 2005; Randall, Gon, 2006; Vachon et al., 2008; Voronina et al., 2016). С завершением дифференцировки пищеварительной системы до функционального состояния число миомеров туловищного отдела у личинок *L. melanospilos*, по-видимому, достигло дефинитивного, что наблюдалось и у других изученных Soleidae на этих стадиях развития, в частности, у *Pegusa lascaris* (см.: Russell, 1976), *Barnardichthys fulvomarginatus*, *Heteromycteris capensis*, *Austroglossus microlepis* (см.: Brownell, 1979), *Dicologlossa cuneata* (см. Lagardère, Aboussouan, 1981),

Microchirus ocellatus (см. Olivar, Fortuño, 1991) и *Pardachirus pavoninus* (Шадрин и др., 2022). Лейс и Карсон-Эварт (Leis, Carson-Ewart, 2000) при характеристике личинок Soleidae приводят сегментную формулу для туловищного отдела с гораздо более широким диапазоном (4–20), однако обнаружить в литературе конкретные примеры видов с такими сильными отклонениями по числу туловищных позвонков от 9–10 не удалось.

Окраска взрослых *L. melanospilos* очень вариативна: это точки и пятна разного размера и формы, различающиеся оттенками черного и коричневого цветов (Matsunuma et al., 2011; Voronina et al., 2016; Froese, Pauly, 2022). Очевидно, что окраска подрощенной в экспериментальных условиях до малька особи (возраст 24 сут п.в., TL 11.0 мм) далека от любого из представленных вариантов дефинитивной окраски, за исключением одного общего для большинства взрослых *L. melanospilos* признака – темных радиальных штрихов разной длины на непарных плавниках.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

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

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы очень признательны дирекции и сотрудникам Приморского отделения Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра за помощь в организации и проведении этих исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дехник Т.В. Ихтиопланктон Черного моря. Киев: Наукова думка. 1973. 235 с.
- Шадрин А.М., Семенова А.В., Нгуен Т.Х.Т. Раннее развитие *Pardachirus pavoninus* (Soleidae) из Южно-Китайского моря (Центральный Вьетнам), идентифицированного с помощью метода ДНК-баркодинга // Вопр. ихтиологии. 2022. Т. 62. № 1. С. 100–116.
- Brownell C.L. Stages in the early development of 40 marine fish species with pelagic eggs from the Cape of Good Hope // Ichthyol. Bull. J.L.B. Smith Inst. Ichthyol. 1979. V. 40. P. 1–84.
- Chang C.H., Shao K.T., Lin H.Y. et al. DNA barcodes of the native ray-finned fishes in Taiwan // Mol. Ecol. Resour. 2017. V. 17. P. 796–805.

- Collins R.A., Cruickshank R.H.* The seven deadly sins of DNA barcoding // *Mol. Ecol. Resour.* 2013. V. 13. P. 969–975.
- Devauchelle N., Alexandre J.C., Le Corre N., Letty Y.* Spawning of sole (*Solea solea*) in captivity // *Aquaculture.* 1987. V. 66. № 2. P. 125–147.
- Frantine-Silva W., Sofia S.H., Orsi M.L., Almeida F.S.* DNA barcoding of freshwater ichthyoplankton in the Neotropics as a tool for ecological monitoring // *Mol. Ecol. Resour.* 2015. V. 15. P. 1226–1237.
- Fraser T.H., Smith M.M.* An exterilium larval fish from South Africa with comments on its classification // *Copeia.* 1974. V. 1974. № 4. P. 886–892.
- Fricke R., Eschmeyer W.N., Van der Laan R.* Eschmeyer's catalog of fishes: Genera, species references. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Electronic version accessed 01.05.2022.
- Froese R., Pauly D.* FishBase. World Wide Web electronic publication. 2022. www.fishbase.org
- Gong L., Shi W., Wang S.Y., Kong X.Y.* The complete mitochondrial genome of *Liachirus melanospilos* (Pleuronectiformes: Soleidae) // *Mitochondrial DNA.* 2015. V. 26. P. 732–733.
- Herrera M., Hachero-Cruzado I., Naranjo A., Mancera J.M.* Organogenesis and histological development of the wedge sole *Dicologlossa cuneata* M. larva with special reference to the digestive system // *Rev. Fish Biol. Fish.* 2010. V. 20. P. 489–497.
- Hirai A.* Fine structure of the egg membranes in four species of Pleuronectinae // *Jpn. J. Ichthyol.* 1993. V. 40. P. 227–235.
- Hui T.H., Grinang J.* *Typhlachirus lipophthalmus*, a rare eyeless sole from Borneo (Teleostei: Soleidae) // *Ichthyol. Explor. Freshwaters.* 2020. V. 1150. P. 1–8.
- Ikeda T., Mito S.* Pelagic fish eggs // An atlas of the early stage fishes in Japan / Ed. M. Okiyama. Tokyo: Tokai Univ. Press. 1988. P. 999–1083.
- Ivanova N.V., Zmlak T.S., Hanner R.H., Hebert P.D.* Universal primer cocktails for fish DNA barcoding // *Mol. Ecol. Notes.* 2007. V. 7. P. 544–548.
- Lagardère F., Aboussouan A.* Développement du céteau, *Dicologlossa cuneata* (Moreau, 1881) (Pisces, Pleuronectiformes, Soleidae): II. – Description des larves // *Cybiun.* 1981. V. 5. P. 53–72.
- Lagardère F., Troadec H.* Age estimation in common sole *Solea solea* larvae: validation of daily increments and evaluation of a pattern recognition technique // *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 1997. V. 155. P. 223–237.
- Leis J.M.* Taxonomy and systematics of larval Indo-Pacific fishes: a review of progress since 1981 // *Ichthyol. Res.* 2015. V. 62. P. 9–28.
- Leis J.M., Carson-Ewart B.M.* The larvae of Indo-Pacific coastal fishes: An identification guide to marine fish larvae. *Fauna Malesiana Handbooks.* № 2. Brill. Leiden: 2000. 850 p.
- Marinaro J.Y.* Eggs and larvae in some species of the genus *Solea* (Pisces, Soleidae) of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean // *Boll. Zool.* 1991a. V. 58. № 2. P. 163–169.
- Marinaro J.Y.* Eggs of the *Microchirus* species (Soleidae) from the Bay of Algiers // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 1991b. V. 71. № 1. P. 117–125.
- Matsunuma M., Motomura H., Matsuura K. et al.* Fishes of Terengganu, East coast of Malay Peninsula, Malaysia. National Museum of Nature and Science; Universiti Malaysia Terengganu and Kagoshima University Museum. 2011. 251 p.
- Nelson J.S., Grande T.C., Wilson M.V.H.* Fishes of the World: 5th ed. Hoboken, N. J., USA: John Wiley and Sons. 2016. 752 p.
- Nguyen D.V.* Composition, abundance and distribution of fish eggs and larvae in the South China Sea, Area IV: Vietnamese waters // *Proc. 4th Tech. Sem. Mar. Fish. Resour. Surv. South China Sea, Area IV: Vietnamese waters, 18–20 September 2000.* Bangkok, Thailand: Southeast Asian Fisheries Development Center. 2001. P. 94–145.
- Nichols J.H.* Soleidae of the Eastern North Atlantic // *Fiches d'identification du zooplancton.* 1976. V. 150/151. 10 p.
- Okiyama M.* Soleidae // An atlas of early stages of fishes in Japan / Ed. M. Okiyama. Tokyo: Tokai Univ. Press. 1988. P. 956–959. (яп. яз.).
- Olivar M.P., Fortuño J.M.* Guide to ichthyoplankton of the southeast Atlantic (Benguela Current Region) // *Sci. Mar.* 1991. V. 55. № 1. P. 1–383.
- Ramanathan N., Natarajan R.* Flat fish eggs, larvae and their development // *Aquaculture.* 1979. V. 18. № 4. P. 349–366.
- Randall J.E., Bartsch P.* Two new soleid fishes of the genus *Aseraggodes* from Micronesia, with a record of *A. smithi* from Palau // *Micronesica.* 2005. V. 38. № 1. P. 25–139.
- Randall J.E., Gon O.* Review of the soles of the genus *Aseraggodes* of the Western Indian Ocean, with descriptions of three new species // *Isr. J. Zool.* 2006. V. 51. P. 165–190.
- Randall J.E., Lim K.K.P.* A checklist of the fishes of the South China Sea // *Raffles Bull. Zool. Suppl.* № 8. 2000. P. 569–667.
- Rodriguez J.M., Alemany F., Garcia A.* A guide to the eggs and larvae of 100 common Western Mediterranean Sea bony fish species. Rome: FAO. 2017. 242 p.
- Russell F.S.* The eggs and planktonic stages of British marine fishes. London: Acad. Press. 1976. 524 p.
- Sarasquete C., Gisbert E., Ortiz-Delgado J.B.* Embryonic and larval ontogeny of the Senegalese sole, *Solea senegalensis*: normal patterns and pathological alterations // *The biology of sole / Eds J.A. Muñoz-Cueto, E. Mañanós, J. Sanchez-Vázquez.* Boca Raton: CRC Press. 2019. P. 216–252.
- Satoh T.P., Miya M., Mabuchi K., Nishida M.* Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes // *BMC Genomics.* 2016. V. 17. № 1. P. 1–20.
- Shao K.T., Yang R.S., Chen K.C., Lee Y.S.* An identification guide of marine fish eggs from Taiwan. Taipei: Inst. Zool. Acad. Sin. 2001. 176 p.
- Strydom N.A., Coetzer C.J., Patrick P.* The complex early life history of a marine estuarine-opportunist fish species, *Solea turbynei* (Soleidae) from temperate South Africa // *Sci. Mar.* 2015. V. 79. № 2. P. 169–178.

- Thangaraja M., Ramamoorthi K.* Laboratory rearing of eggs and larvae of the flatfish *Solea ovata* Rich // *Indian J. Mar. Sci.* 1982. V. 11. P. 273–275.
- Thompson E., Strydom N.A., Hecht T.* Larval development of *Dagetichthys marginatus* (Soleidae) obtained from hormone-induced spawning under artificial rearing conditions // *Sci. Mar.* 2007. V. 71. № 3. P. 421–428.
- Thu P.T., Huang W.C., Chou T.K. et al.* DNA barcoding of coastal ray-finned fishes in Vietnam // *PloS One.* 2019. V. 14. Art. ID e0222631.
- Truong O.T., Pham P.T., Dang B.T.* Species diversity and molecular phylogeny of flatfish (Pleuronectiformes: Pleuronectoidei) – implication to climate change // *Proc. 3rd Int. Conf. Sustainable Agric. Environ.* Nov. 18, 2020. Ho Chi Minh: Nong Lam University. P. 94–105.
- Vachon J., Chapleau F., Desoutter-Meniger M.* Révision taxinomique du genre *Solea* et réhabilitation du genre *Barnardichthys* (Soleidae; Pleuronectiformes) // *Cybi-um.* 2008. V. 32. P. 9–26.
- Voronina E.P., Prokofiev A.M., Prirodina V.P.* Review of the flatfishes of Vietnam in the collection of Zoological Institute, Saint Petersburg // *Proc. Zool. Inst. RAS.* 2016. V. 320. № 4. P. 381–430.
- Wood A.D.* The description of *Austroglossus pectoralis* (Teleostei: Soleidae) larvae from the south-east coast of South Africa // *Sci. Mar.* 2000. V. 64. № 4. P. 387–392.
- Zhang J.B.* Species identification of marine fishes in China with DNA barcoding // *Evidence-Based Complementary Altern. Med.* 2011. Art. ID 978253.

Early Developmental Stages of the Carpet Sole *Liachirus melanospilos* (Bleeker, 1854) (Pleuronectiformes: Soleidae) from the South China Sea (Central Vietnam)

A. M. Shadrin^a, A. V. Semenova^{a, b}, and Nguyen Thị Hai Thanh^c

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow 119899, Russia*

^b*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow 119333, Russia*

^c*Coastal Branch of the Joint Russian – Vietnamese Tropical Science and Technology Research Center, Nha Trang 650000, Vietnam*

Late embryonic and larval development of the carpet sole *Liachirus melanospilos* was followed until completion of metamorphosis and transition to the juvenile state. Illustrations and morphological descriptions of the early developmental stages are presented. The material of *L. melanospilos* was obtained from ichthyoplankton samples (Central Vietnam) and incubated under laboratory conditions at a temperature of about 24°C. Taxonomic identification of the species was carried out based on the analysis of a partial sequence of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (*COI*) gene.

Keywords: *Liachirus melanospilos*, Soleidae, eggs, larvae, DNA barcoding, taxonomic identification