

УДК 597.08

ВЕРИФИКАЦИЯ СУТОЧНОЙ ПЕРИОДИЧНОСТИ ЗАКЛАДКИ МИКРОПРИРОСТОВ НА ОТОЛИТАХ МОЛОДИ ГЛАЗЧАТОГО ОПИСТОЦЕНТРА *OPISTHOCENTRUS OCELLATUS* (STICHAEIDAE) ДЛЯ РЕТРОСПЕКТИВНОЙ ОЦЕНКИ ПЕРИОДА МАССОВОГО ВЫЛУПЛЕНИЯ ЕГО ЛИЧИНОК В УСЛОВИЯХ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ЯПОНСКОГО МОРЯ

© 2023 г. В. А. Шелехов*

Национальный научный центр морской биологии

им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН, Владивосток, Россия

*e-mail: shelekhov@mail.ru

Поступила в редакцию 20.10.2022 г.

После доработки 01.12.2022 г.

Принята к публикации 16.12.2022 г.

Проведены эксперименты по прижизненному мечению отоликов осевшей молоди глазчатого опистоцентра *Opisthocentrus ocellatus* (Stichaeidae) ализариновым красным. Подсчет микроприростов в зоне между двумя последовательными мечениями с интервалом в 9 суток подтвердил суточную периодичность их закладки на данном этапе развития глазчатого опистоцентра. Это позволило определить период вылупления в естественных условиях молоди, осевшей в б. Житкова зал. Петра Великого в 2017 г.: с последней декады марта до конца второй декады апреля с пиком в первой декаде апреля. Вылупление начинается еще подо льдом, но массово оно идет уже при температуре 1–3°C, после выноса льда из бухты. С учетом известных сроков нереста, мы можем утверждать, что развитие икры *O. ocellatus* в данном районе при отрицательных температурах воды в декабре–марте может идти в течение 4–5 месяцев, что почти в 3 раза превышает время развития в более мягких условиях юга о. Хоккайдо.

Ключевые слова: глазчатый опистоцентр, мечение, ализариновый красный, сроки инкубации и вылупления, отолики, зал. Петра Великого, Японское море

DOI: 10.31857/S0030157423030139, EDN: SJXNJY

ВВЕДЕНИЕ

Глазчатый опистоцентр *Opisthocentrus ocellatus* — прибрежный вид стихеевых рыб, широко распространенный в водах Японского, Охотского и Берингова морей и с тихоокеанской стороны северных Японских островов [3]. Условия обитания в ареале этого вида сильно варьируют: на отдельных участках ареала температура зимой никогда не опускается ниже 0°C, в других отрицательные температуры порядка –1.5...–1.7°C могут наблюдаться в течение 2–4 месяцев, а в северной части Охотского моря и существенно дольше [10]. Однако этот вид достаточно пластичен, и с изменением условий обитания происходит смещение его нерестовой активности так, что время развития икры приходится на наиболее холодный зимний период, а личинки появляются в планктоне при наступлении благоприятных для их питания условий весной [6, 26]. Например, у северо-восточного побережья о. Хонсю и на юге о. Хоккай-

до нерест глазчатого опистоцентра идет в декабре–январе при температуре 5–10°C. Икра димерсальная, откладывается в пустые раковины моллюсков и охраняется самкой. Ее развитие происходит при постепенном снижении температуры в диапазоне примерно 10–5°C [27]. В водах Приморья нерест проходит во второй половине осени [9] при сходных с побережьем Японии температурах, однако зимой температура здесь опускается до отрицательных значений и удерживается на таком уровне до конца марта, когда в закрытых бухтах залива Петра Великого взламывается и выносятся лед.

Ранее в аквариальных экспериментах удалось показать, что развитие икры у этого вида даже в более мягких условиях при температуре воды около 5°C занимало порядка 50 сут. На момент вылупления предличинки, по данным М. Шиогаки, имеют длину 9–10 мм (в среднем 9.58 мм) [27]. Для производителей отловленных в зал. Петра Великого были получены сходные показатели:

развитие икры продолжалось 46–48 сут при температуре 5–7°C [8]. При этом отмечено, что преднерестовые изменения в окраске самцов и поведении начинаются уже при температуре ниже 14°C, что соответствует октябрю в естественных условиях.

У южного побережья о. Хоккайдо личинки глазчатого опистоцентра (*TL* от 10.5 мм) отмечались на световых станциях с первой декады марта [28]. В российских водах Японского моря они появляются на световых станциях в конце марта–апреле [9].

Температурный режим конкретных акваторий, несомненно, оказывает влияние как на скорость развития эмбрионов и сроки вылупления, так и на скорость роста личинок и молоди [7, 17]. Как уже было сказано, развитие икры в российских водах происходит в более суровых условиях. В заливе Петра Великого, в частности, оно идет значительный промежуток времени при отрицательных температурах, а нерестилища опистоцентра, как правило, более трех месяцев находятся подо льдом. В результате непосредственно наблюдать за его ранним развитием и вылуплением в естественных условиях оказывается затруднительно. Исходя из этого, мы решили выяснить продолжительность развития икры и сроки вылупления опистоцентра в естественных условиях северо-западной части Японского моря ретроспективно, с помощью подсчета микроприростов на отолитах осевшей молоди, предполагая, что их закладка происходит с определенной периодичностью после вылупления. Для этого было необходимо описать микроструктуру отолитов, определить размеры отолитов на момент вылупления, и установить периодичность закладки микроприростов на них, что делается для опистоцетров впервые.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Осевшая молодь и половозрелые особи *O. ocellatus*, использованные в работе, были собраны в период с марта 2017 по май 2021 г. в б. Житкова о. Русский в заливе Петра Великого, в Амурском заливе в июне 2017 г. и в зал. Владимира (Норд-Ост) в июле 2017 г. Рыб собирали на заросших преимущественно зостерой и саргасуммом участках прибрежного мелководья с песчано-галечным и песчано-илистым дном с помощью малькового невода и ручного сачка (таблица). В период с марта 2017 по июнь 2021 г. в б. Житкова о. Русский в заливе Петра Великого еженедельно измерялась температура воды в слое 0–7 м с помощью профилографа CastAway CTD (SonTek, США). Одновременно производился отлов пелагических личинок на световых станциях для мониторинга видового состава ихтиопланктона и динамики размерного состава личинок в уловах.

Личинки *O. ocellatus* облавливались ручным сачком в световом пятне под светодиодными лампами мощностью 20–30 Вт с наступлением сумерек. Все образцы фиксировали сразу после поимки и до извлечения отолитов хранили либо в 95% этиловом спирте, либо замороженными.

Длину тела особей (*TL*) измеряли с помощью линейки, либо окуляр-микрометра под бинокляром МБС-10 у личинок, с точностью до 0.1 мм. Массу тела определяли с помощью аналитических весов с точностью до 0.01 г у мальков и с помощью электронных весов SHIMADZU (Япония) с точностью до 0.01 г у половозрелых особей. Отолиты измеряли с помощью программного обеспечения комплекса Zeiss Axio Image.Z2, либо Zeiss Discovery (Carl Zeiss AG, Германия) (в зависимости от размера отолитов) с точностью 0.01 мкм. Отолиты после извлечения хранились в смеси глицерина с этиловым спиртом 1 : 1.

Сеголетки глазчатого опистоцентра, использованные в работе по мечению, после поимки были помещены для адаптации в аквариум объемом 200 л в условиях, соответствующих условиям в месте поимки на 2 июня 2017 г.: температура воды 10°C, соленость около 32‰, естественный фотопериод и кормление живым кормом (мизиды и их молодь). Температура воды регулировалась стационарной проточной холодильной установкой Hailea HC-500A (Китай) и постепенно повышалась в соответствии с прогревом в месте поимки до 14°C к 09.06.17 и далее поддерживалась на этом уровне. Перед окончанием эксперимента, 05.07.2017, температура воды в аквариуме была кратковременно понижена до 12°C для выяснения влияния подобных изменений в условиях обитания на формирование структуры отолитов.

Недавно осевшие сеголетки были выбраны, поскольку их уже было легко содержать, они хорошо переносили мечение и их отолиты были достаточно крупны для манипуляций, связанных с изготовлением шлифов. В тоже время количество микроприростов на отолитах было еще небольшим, что облегчало их учет.

Для определения возраста использовался самый крупный из 3 пар отолитов – сагитта. Мы использовали в основном правый отолит, но если не удавалось извлечь оба отолита, то использовали и левый, поскольку асимметрии в росте отолитов у данного вида нами не обнаружено.

Периодичность закладки микроприростов мы уточнили с помощью прижизненного химического мечения отолитов ализариновым красным [12, 18], предварительно адаптировав эту методику для данного вида и к стадии развития.

Раствор ализаринового красного, забуференный гидроксидом калия до естественного pH (около 8.2), готовился непосредственно перед мечением. Экспозиция осуществлялась в основном

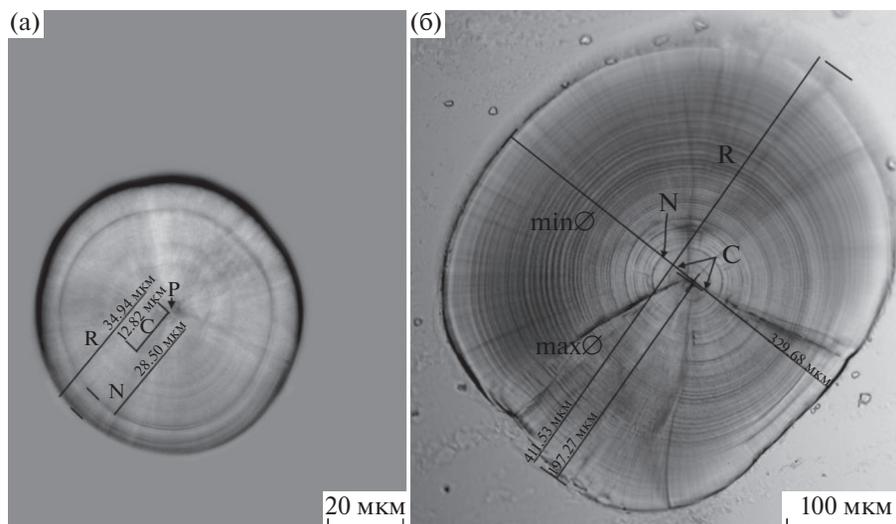


Рис. 1. Сагитта глазчатого опистоцентра: (а) пелагической личинки *TL* 10.5 мм после начала перехода на внешнее питание, (б) осевшей молоди *TL* 33.1 мм (шлиф), непосредственно после отлова 09.06.2017 из выборки, использованной для мечения. Р – примордиум, С – ядро отолита (на момент выклева), N – метка начала перехода на внешнее питание, R – измеряемый радиус сагитты (213.53 мкм), \varnothing_{\min} – наименьший диаметр сагитты (335,68 мкм), \varnothing_{\max} – наибольший диаметр сагитты (441.53 мкм, использован в расчетах).

в темное время суток в течение 16–18 часов с 17⁰⁰–18⁰⁰, поскольку ранее было показано, что отложение карбоната кальция в отолитах рыб, для которых характерна дневная активность, происходит в ночное время [25], а ализариновый красный образует устойчивое комплексное соединение с кальцием в составе карбоната кальция.

Первое мечение было проведено 19–20 июня 2017 г., второе – с 29 по 30 июня 2017 г. Еще два сеголетка глазчатого опистоцентра, пойманные 29.06.2017 в Амурском заливе, предварительно адаптировавшиеся в течение 4 часов к аквариальным условиям, были помечены один раз 29.06.2017 в общей группе. Таким образом, для исследования был отобран 31 сеголеток после двух мечений ализарином. Первое мечение было сделано в одной партии (вылов 02.06.2017) через 17 и в другой (вылов 09.06.2017) – через 10 сут после поимки. Следующая метка ставилась через 9 сут после первой. Еще у двух сеголетков была сделана только одна метка ализарином, сделанной непосредственно в день их поимки. Эксперимент был завершен 11.07.2017, и все сеголетки опистоцентра, подвергшиеся мечению были заморожены через 10 суток после последнего мечения.

После извлечения и измерения в рострально-каудальном направлении диаметра и в каудальном направлении радиуса сагитты с помощью программного обеспечения микроскопа Zeiss Axio Image.Z2, отолиты были индивидуально залиты эпокси-резиновым клеем-компаундом ПЭО-510КЭ-20/0 в подготовленные формы. Полученные заливки через 2–3 сут приклеивали быст-

ротвердеющим цианоакрилатом к предметному стеклу предварительно отшлифованной тыльной поверхностью. Далее рабочую поверхность препарата обрабатывали последовательно водостойкой шлифовальной бумагой с зерном от 40 до 0.4 мкм до получения шлифа толщиной порядка 50 мкм во фронтальной плоскости через ядро отолита. Мы старались получить шлиф вдоль оси наибольшего роста, но это не всегда получалось из-за изогнутой формы отолита и смещенного положения его ядра. В связи с этим для получения сравнимых данных по ширине микроприростов у разных особей мы приводили все промеры, сделанные вдоль выбранной для измерения оси (в генеральном направлении к заднему краю сагитты) к измеренному ранее наибольшему радиусу отолита в этом же направлении. Для получения четкого изображения микроприростов на препаратах отолитов вдоль всей оси измерения делали несколько последовательных фотографий при фокусировке на отдельных его участках и при необходимости дошлифовывали их или экстраполировали измерения микроприростов с дополнительных осей, проведенных на соседних участках, где микроприросты были хорошо видны. Фотографирование полученных меток, измерения и подсчет микроприростов проводили с помощью микроскопа Zeiss Axio Image.Z2 с ультрафиолетовой подсветкой в проходящем свете через объектив 40× и 100× с иммерсией. Подсчет микроприростов проводился от ядра сагитты (первая четкая кольцевая метка, ассоциируемая по нашим расчетам с моментом вылупления (рис. 1)). В целом, для учета суточных микроприростов оказалось

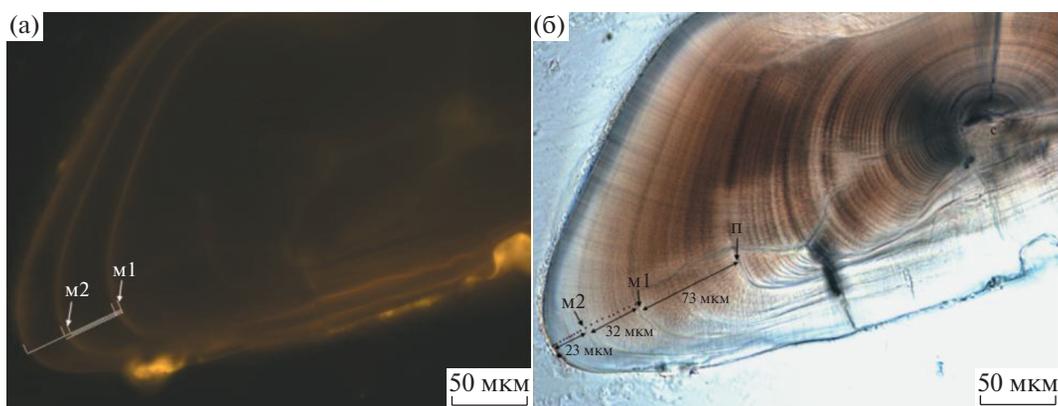


Рис. 2. Шлиф сагитты сеголетка опистоцентра $TL = 55.5$ мм, выловленного в б. Житкова 02.06.2017, зафиксированного 11.07.2017 после 2-х мечений ализариновым красным 19–20.06 и 29–30.06.2017. (а) шлиф в ультрафиолетовой подсветке: м1, м2 – метки, заложенные во время первого и второго мечений; (б) этот же шлиф в проходящем свете, п – предполагаемый размер сагитты на момент начала эксперимента, с – ядро отолита.

достаточно объектива $40\times$ без использования иммерсии. В этом случае в зоне между метками суточные приросты оказались достаточно хорошо различимы, поддавались учету, и их внутренняя структурированность не создавала дополнительных затруднений, как под объективом $100\times$ (рис. 2). Подсчет микроприростов на фотографиях препаратов проводил один оператор дважды с интервалом в несколько месяцев.

Статистическая обработка полученных данных и оценка параметров использованных уравнений осуществлялась в пакете статистики Statistica 8.0 и Excel Microsoft Office 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ихтиоплантонных сборах на световых станциях в б. Житкова о. Русский в период 2017–2021 гг. пелагические личинки глазчатого опистоцентра с длиной TL 9.0 – 17.5 мм встречались с последней декады марта по конец мая. Наиболее ранняя поимка была сделана 28 марта 2019 года. В остальные годы наблюдений их появление в планктоне отмечалось несколько позже, в первой–второй декаде апреля. Впервые личинки появляются на световых станциях примерно через неделю после выноса льда из бухты, когда температура воды у поверхности прогревается до примерно $+2^\circ\text{C}$, а на глубине, где обычно находятся кладки икры, она еще ниже нуля [26]. Размеры наиболее ранних личинок в планктоне на световых станциях в марте 2019 г при температуре 2°C на поверхности и около 0°C на глубине 7 м были несколько больше (от 11.5 мм), чем указанные на момент вылупления в аквариальных экспериментах (от 9.0 мм) [27], хотя в другие годы в апреле (например, 09.04 2021 г.), при температуре $3.6\text{--}3.7^\circ\text{C}$ по всей водной толще, в уловах встречались личинки с длиной тела 9–10 мм и остатками желточного мешка,

что, несомненно, указывает на недавнее их вылупление.

Сеголетки глазчатого опистоцентра, использованные в эксперименте по мечению, взятые из двух выборов в б. Житкова, имели 02.06 2017 г. длину тела в среднем 24.93 мм и массу 0.05 г, а 09.06.17 – уже 32.4 мм и 0.10 г (табл. 1). На момент фиксации 11.07.17 после мечения сеголетки имели длину тела от 38.5 до 61 мм (в среднем 47.08 мм) и массу в среднем 0.46 г. При этом две особи, которые были подсажены в эксперимент 29.06.17 из улова в Амурском заливе, на тот момент были заметно крупнее (54–57 мм), и к концу эксперимента, соответственно, имели значительно большие размеры: 62.0 и 69.0 мм.

Ализариновый красный легко проникает в ткани через жабры и внешние покровы, и образует устойчивое комплексное соединение с кальцием в составе карбоната кальция, дающее флюоресценцию при облучении ультрафиолетом с длиной волны 450–490 нм [11, 12, 16, 18]. Экспериментально нами было установлено, что 100% образование метки ализариновым красным на сагитте происходит у осевшей молоди глазчатого опистоцентра при экспозиции в течение 16–18 ч с $17^{00}\text{--}18^{00}$ в растворе с концентрацией 200 мг/л. Ранее такая концентрация показала 100% результат образования меток в работах по мечению молоди минтая, при смертности <80% [16]. Данная концентрация позволила нам получить метки с нулевой смертностью.

Полученные ализариновые метки были хорошо видны при ультрафиолетовой подсветке в диапазоне порядка 450 нм, интегрированной в Zeiss Axio Image.Z2 (рис. 2а). Количество флуоресцентных меток соответствовало количеству проведенных мечений у всех особей. В проходящем свете им соответствовали метки в виде более

Таблица 1. Размерно-весовые характеристики личинок, осевшей молоди и половозрелых особей глазчатого опистоцентра, использованных в работе

Дата сбора	Долгота	Широта	Пол, стад.	АС _{ср} , мм	Min–Max	Масса _{ср} , г	Min–Max	N, шт
26.05.17	131.932	43.021	m, f	106.7	89.0–114.5	6.32	3.84–8.60	8
2.06.17*	131.932	43.021	j	24.93	19.5–29.8	0.05	0.02–0.09	17
9.06.17*	131.932	43.021	j	32.4	26.8–40.4	0.10	0.05–0.19	51
9.06.17	131.932	43.021	m, f	98.37	33.1–126.3	6.71	0.17–13.2	9
29.06.17*	131.540	43.110	j	55.5	54.0–57.0			2
11.07.17**	131.540	43.110	j	65.5	62.0–69.0	1.33	1.07–1.58	2
11.07.17**	131.932	43.021	j	47.08	38.5–61.0	0.46	0.24–0.82	31
23.07.17	135.502	43.893	m, f	50.69	46.6–58.0	0.53	0.39–0.78	7
20.10.17	131.932	43.021	m, f	84.6	69.0–100.9	3.3	1.55–5.21	7
09.04.21	131.932	43.021	larv.	12.5	9.2–14.4			6
26.05.21	131.932	43.021	larv.	19.1	16.9–24.6			9

* – выборка особей, использованных для мечения, на момент поимки, ** – особи после мечения на момент фиксации.

темных микроприростов (стрессовые) (рис. 2б). Кроме того, стрессовая метка наблюдалась в месте, которое соответствовало по нашим расчетам времени поимки особей и помещению их в аквариум, после чего микроприросты на отоците стали менее отчетливые, а их ширина несколько уменьшилась. Еще одна метка в виде микроприроста с более темным краем была различима на небольшом расстоянии от края и соответствовала эксперименту по понижению температуры в аквариуме на 2 градуса за 5 полных суток до фиксации особей (рис. 2б).

Несмотря на то, что в период содержания в аквариуме метки были хуже выражены, менее четкие и широкие, чем в период обитания особей в естественных условиях, они все же были достаточно хорошо видны и поддавались учету (рис. 2б). Подсчет количества микроприростов между первой и второй ализариновой меткой у тех экземпляров, для которых проводилось два мечения через 9 суток, дал значения в диапазоне 8–11 приростов ($X_{ср} = 9.14$, $\sigma = 0.61$, $N = 44$). Количество микроприростов от последней метки до края отоцита было в пределах 9–12 ($X_{ср} = 10.78$, $\sigma = 0.92$, $N = 49$). От предполагаемого момента поимки, видного на отоцитах за счет изменения ширины и отчетливости микроприростов до первой ализариновой метки мы различали либо 9–11 приростов ($X_{ср} = 9.9$, $\sigma = 0.47$, $N = 14$), либо 18–20 приростов ($X_{ср} = 18.6$, $\sigma = 0.89$, $N = 5$), в зависимости от того, сколько суток особь провела до мечения в аквариуме. Полученные значения практически совпадают с временем пребывания особей в эксперименте (см. материалы и методы) и позволяют говорить о суточной периодичности закладки микроприростов на данном этапе развития глазчатого опистоцентра. Исходя из этого, мы можем оценить количество суток, прожитое экземпляра-

ми из нашего эксперимента с момента выклева до фиксации.

Взаимосвязь размеров отоцитов (наибольший диаметр и радиус в направлении построострума) с длиной тела хорошо описывалась уравнением степенной функции с высоким коэффициентом детерминации (R до 0.988) (рис. 3). Полученные уравнения взаимосвязи роста тела и сагитты: $\varnothing = 172.73 \times TL^{0.481971} - 482.21$ ($R = 0.9878$) и $r = 94.8589 \times TL^{0.480202} - 268.58$ ($R = 0.9842$), дают на момент вылупления ($TL = 9-10$ мм) радиус отоцита порядка 3.9–18.0 мкм (в среднем 11,0 мкм) и диаметр порядка 15.9–41.8 мкм (в среднем 29.0 мкм). В этих диапазонах на сагиттах, как правило, действительно наблюдается первая отчетливая метка, которую мы можем идентифицировать как метку вылупления. Следующая отчетливая метка радиусом в среднем около 25 мкм соответствует, в среднем, длине тела $TL = 10.3$ мм и, как мы полагаем, может соответствовать началу перехода на внешнее питание. От ядра к краю отоцита на шлифах видны кольцевые микроприросты, более узкие в центральной части, на расстоянии примерно 100 мкм от центра расширяющиеся и приобретающие собственную внутреннюю структуру из 2–3 слабо различимых колец (рис. 1).

Как уже отмечалось, ширина микроприростов на сагитте существенно изменялась от центра к краю: в центральной области, соответствующей периоду до полной резорбции желтка, ширина микроприростов была минимальна (рис. 1 и 4), в среднем порядка 1.5 мкм. Далее она заметно увеличивалась и на протяжении периода роста, предшествовавшего поимке, в среднем составляла уже около 4 мкм. В период содержания опистоцентров в аквариуме отчетливость микроприростов в целом снизилась, несколько уменьшилась и их ширина, в среднем до 3.8 мкм. Наличие внут-

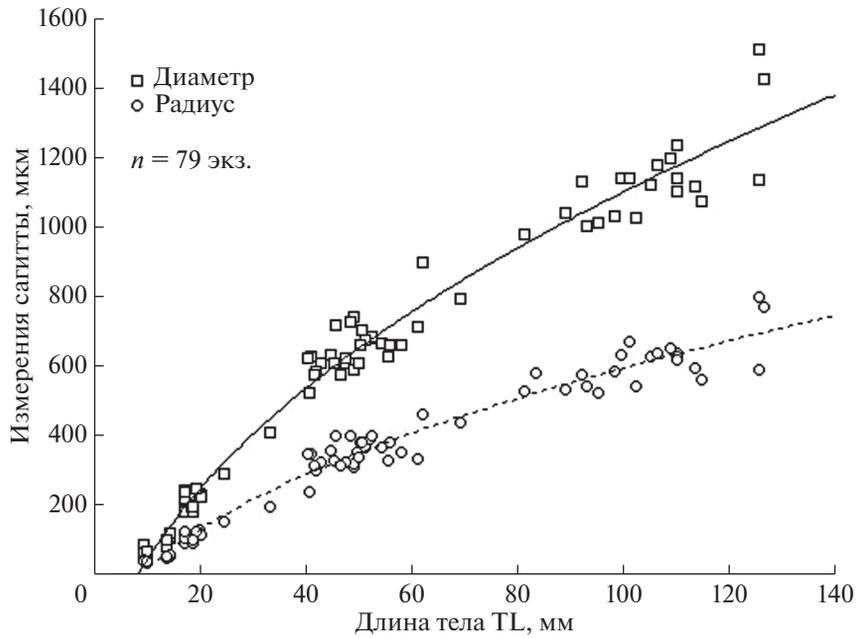


Рис. 3. Взаимосвязь размеров сагитты с линейными размерами особей.

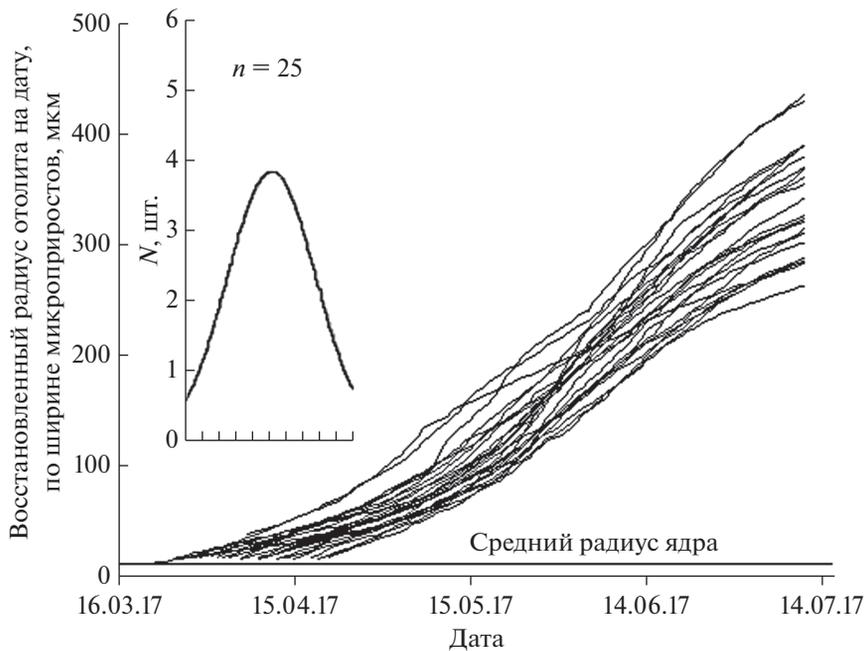


Рис. 4. Рост сагитты глазчатого опистоцентра, восстановленный по ширине микроприростов, учтенных от ядра до момента фиксации 11.07.2017.

ренной структуры в отдельных микроприростах сохранилась: так же наблюдалось до двух добавочных микроприростов внутри суточного.

У зафиксированных 11 июля 2017 г экземпляров на сагитте от ядра до заднего края было подсчитано от 82 до 113 микроприростов, интерпретированных нами как суточные ($x_{cp} = 99$, $\sigma = 8.9$,

$n = 25$), что соответствует периоду выклева с 20 марта по 20 апреля (в среднем 3 апреля) (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Появление личинок глазчатого опистоцентра в уловах на световых станциях в б. Житкова

о. Русский отмечено нами всего примерно на 20 дней позже, чем при сходной методике лова у южного побережья о. Хоккайдо. При этом нужно отметить, что из-за близкого расположения у тихоокеанского побережья о. Хоккайдо ветви холодного течения Ойясио, гидрологические условия на открытой акватории в этом районе достаточно своеобразны: зима мягкая ($t_{\text{воды}} = 1.8\text{--}5.8^\circ\text{C}$ в январе—марте), лето — прохладное ($t_{\text{воды}} = 10.5\text{--}16^\circ\text{C}$ в июле) [28], а в закрытых мелководных бухтах о. Хоккайдо [21] сезонный ход температур в весенне-летний период близок к показателям мелководных бухт зал. Петра Великого [22].

В середине апреля у побережья о. Хоккайдо встречались личинки длиной около 20 мм [28]. К первой декаде июня их размеры, по данным этих же авторов, увеличились до 25 мм, хотя у побережья префектуры Аомори к югу от Сангарского пролива уже в конце мая встречались неполовозрелые особи длиной 33–40 мм [27]. Кроме того, есть данные с южного побережья Хоккайдо, где в сборах из мелководной закрытой бухты Усу в июне присутствовали особи длиной тела от 30 до 55 мм (средняя длина 47 мм) [21]. То есть, в зависимости от условий обитания здесь наблюдались существенные различия в скорости роста особей опистоцентра. В наших сборах близкие к оседанию по размерам и пигментации особи ($TL > 20$ мм) встречались уже со второй половины мая в зарослях десмарестии *Desmarestia viridis*. Таким образом, запаздывание по срокам развития в сравнении с южным побережьем о. Хоккайдо оставалось в пределах 20–30 суток.

Проведенные исследования микроструктуры отолитов глазчатого опистоцентра позволили нам идентифицировать метки вылупления и перехода на внешнее питание исходя из установленной взаимосвязи линейного роста с ростом сагитты (рис. 3) и известных из литературных источников размеров личинок на момент вылупления и перехода на внешнее питание в аквариальных условиях [27]. К центру отолита от метки вылупления заметны еще 3–4 слабо различимые кольцевые структуры шириной около 2 мкм и, как правило, более темная центральная структура — примордиум (центр закладки отолита) радиусом 4–5 мкм (рис. 2). Микроприросты внутри ядра могут свидетельствовать о наличии у данного вида суточной периодичности в развитии эмбриона, связанной с реакцией на естественный фотопериод, после формирования органов зрения и закладки отолитов. Это явление описывалось ранее и для других видов рыб [14, 15, 19, 20, 29]. Между метками вылупления и перехода на внешнее питание визуально различимо от 6 до 14 кольцевых приростов шириной 1–2 мкм. Начало перехода на внешнее питание, судя по проведенным ранее исследованиям, происходит у глазчатого описто-

центра в возрасте около 10 сут после вылупления, а завершается переход на внешнее питание с полной резорбцией желтка в возрасте порядка 23 сут при длине тела порядка 12.7 мм [27, 28]. Переход на внешнее питание, судя по выраженности этой метки на сагитте, является не менее критическим, стрессующим событием в онтогенезе, чем выход эмбриона из яйцевой оболочки.

Наличие слабо различимых кольцевых образований внутри суточных микроприростов отмечено нами как в зоне роста, соответствующей обитанию в естественных условиях, так и в зоне, заложеной при содержании в контролируемых условиях аквариума. Структурированность суточных микроприростов может свидетельствовать, на наш взгляд, об изменениях в пищевой активности молоди в условиях естественного фотопериода, например, наличия утреннего и вечернего периодов активного питания.

Концентрация раствора ализаринового красного, использованная нами для прижизненного мечения отолитов у опистоцентра (200 мг/л) давала 100% результат при нулевой смертности, тогда как у молоди минтая смертность при такой концентрации была <80% [16]. Это говорит, на наш взгляд, о более высокой устойчивости опистоцентра к токсичному воздействию данного красителя, и позволяет рекомендовать ализариновый красный для аналогичных работ с другими видами рода *Opisthocentrus* и, вероятно, всего семейства Stichaeidae.

Количество микроприростов, различимых в период мечения, соответствовало количеству суток между мечениями и от последнего мечения до фиксации особей у всех особей в эксперименте. Также обнаружено соответствие количества микроприростов от предполагаемой метки поимки до края отолита количеству суток, проведенному молодью в аквариуме. Полученные в результате наших экспериментов по прижизненному химическому мечению отолитов данные позволяют утверждать, что на этом этапе развития у молоди глазчатого опистоцентра микроприросты на сагитте закладываются с суточной периодичностью, и их подсчет может быть использован для уточнения даты вылупления личинок в естественных условиях.

Рост сагитты в направлении построструма, восстановленный по ширине микроприростов (рис. 4) у глазчатого опистоцентра от начала развития идет очень неравномерно: примерно до радиуса 120 мкм рост более медленный, чем на следующем отрезке до поимки. Такой радиус сагитты соответствует длине тела TL около 19 мм, при которой молодь уже переходит к придонному образу жизни в зарослях десмарестии. Еще одно замедление роста у большинства особей во второй половине июня связано, очевидно, с содер-

жанием особей в аквариуме и экспериментами по мечению ализарином. Таким образом, график ретроспективных изменения радиуса сагитты, построенный для отдельных особей с помощью измерения расстояния от центра до границы каждого суточного микроприроста, дает представление о дате вылупления и позволяет непосредственно по характеру роста отолитов (изменению ширине микроприростов на разных этапах жизненного цикла) судить о темпах линейного роста особей в эти периоды (рис. 4).

По оценке, основанной на подсчете суточных микроприростов на сагитте, вылупление особей из нашей выборки происходило с 20 марта по 20 апреля 2017 г. с пиком в первой декаде апреля. Это согласуется с размерами личинок в уловах на световых станциях в этот период и с наличием в уловах личинок с остатками желточного мешка. Кроме того, связь сроков вылупления и появления личинок на световых станциях у о. Хоккайдо [27, 28] так же говорит в пользу правильности наших выводов о начале вылупления в зал. Петра Великого лишь в последней декаде марта, примерно на месяц позже, чем у о. Хоккайдо.

Многолетние наблюдения динамики температур и таяния льда весной в б. Житкова показали, что таяние льда и его вынос здесь происходит начиная с последней декады марта [22, 26], при этом на глубине расположения кладок опистоцентра (2–5 метров) температура в этот период еще примерно на 0.5°C ниже нуля вплоть до конца марта. Таким образом, вылупление личинок глазчатого опистоцентра в зал. Петра Великого, очевидно, начинается непосредственно перед разрушением ледового покрова еще при слабо отрицательных температурах, и наиболее интенсивно проходит в первой декаде апреля, когда температура воды по всей толще уже, как правило, на 1–3°C выше нуля. Продолжительность периода вылупления личинок в б. Житкова в 2017 г. была, по нашим оценкам, порядка месяца (рис. 4), что, очевидно, связано с особенностями условий развития отдельных кладок (глубина и сроки нереста). Возможен также занос и оседание пелагических личинок с соседних акваторий, где условия развития отличались более разительно, чем внутри бухты. Исходя из этого и известных сроков нереста [9], время развития икры в зал. Петра Великого может достигать в зависимости от условий конкретного года и микроклимата отдельных участков прибрежных акваторий 4.5–5 месяцев, что почти в 3 раза больше, чем у побережья Японии [27]. Учитывая, что нерест глазчатого опистоцентра в зал. Петра Великого проходит в основном в ноябре, а температура воды опускается ниже нуля в районе исследований только в последней декаде декабря [26], вероятно, эмбрионы уже успевают достичь к этому времени достаточно продвинутой стадии развития (в экспериментальных усло-

виях для развития икры было необходимо порядка 250 градусо-дней [8, 27]), после чего оно фактически замирает до конца марта. Косвенным подтверждением наличия задержки в развитии икры у глазчатого опистоцентра при отрицательных температурах, на наш взгляд, может служить и тот факт, что предличинки с остатками желточного желтка продолжают встречаться в уловах наряду с личинками на более продвинутой стадии развития еще в течение примерно двух недель в апреле при повсеместно положительных температурах.

Пороговая для протекания биохимических реакций и развития организма в целом температура воды (температура биологического нуля) исследована для достаточно большого количества организмов, в том числе и рыб [4, 5, 7]. Известно, что при содержании в условиях температур ниже пороговых (1°C) возможна тотальная гибель эмбрионов даже у такого бореального вида, как полосатая зубатка *Anarhichas lupus* [24] (цит. по [7]). При этом в естественных условиях, например, в Белом море, икра этого вида успешно развивается достаточно продолжительное время при температурах ниже нуля (до –1°C). Однако данные по продолжительности развития икры этого вида в разных частях ареала достаточно противоречивы. Так, если для Ньюфаундленда, где температурные условия относительно мягкие, указывается период с конца августа до середины декабря, то у северного побережья Норвегии и в Белом море икра развивается с августа–сентября по апрель, не смотря на то, что в Белом море, очевидно, условия значительно более суровые, в том числе отмечаются отрицательные температуры на протяжении 3–4 месяцев [23]. Выклев в Белом море, не смотря на продолжительный период отрицательных температур, начинается в апреле, как и у побережья Норвегии, причём начинается он еще при отрицательных температурах. Очевидно, что развивающаяся икра стихеевых, таких, как опистоцентры, также может переносить длительный период нахождения в условиях температур, близких к точке замерзания морской воды (в нашем случае до –1.7°C) на стадиях, близких к вылуплению, и возобновлять развитие при возвращении температур в диапазон благоприятных значений. Период вылупления при этом может начинаться уже при слабо-отрицательных температурах. Триггером для завершения эмбрионального развития в данном случае может выступать, помимо роста температуры выше критического значения, вероятно, и увеличение освещенности [13] на нерестилищах за счет увеличения продолжительности светлого времени суток и таяния льда.

Смещение сроков нереста у ряда прибрежных видов на более ранние сроки в зал. Петра Великого по сравнению с северными Японскими островами с их более мягкими условиями [26], в от-

личие от ситуации с полосатой зубаткой [23], происходит вполне закономерно со смещением периода благоприятных для нереста температур. Подобное характерно не только для глазчатого опистоцентра, но и для других видов семейства стихеевых [1, 2, 26]. У части из них, таких, как собачки рода *Chirolophis*, личинки успевают выключиться еще осенью и облавливаются в пелагиали при лове на свет с октября (предличинки и личинки) вплоть до оседания в мае [1]. У других видов они появляются в ихтиопланктонных уловах только весной еще на стадии предличинки, в частности у всех трех известных в водах зал. Петра Великого видов рода *Opistocentrus* [26]. Особенности эмбрионального развития у этих видов в естественных условиях данного района пока не описаны, и предложенная методика уточнения сроков вылупления для них, на наш взгляд, будет полезна.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает признательность заведующему лабораторией ихтиологии Баланову А.А. за помощь в организации работ и сборе материала и дирекции Приморского океанариума за создание технических условий для проведения работ на акватории б. Житкова. Отдельно с благодарностью хочется отметить помощь в сборе материала сотрудника Научно-адаптационного комплекса (НАК) Приморского океанариума Некотинева Ю.С.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баланов А.А., Енур И.В., Шелехов В.А. Описание пелагических личинок *Chirolophis japonicus* и *Ch. saitone* (Stichaeidae) из вод залива Петра Великого (Японское море) // Вопросы ихтиологии. 2020. Т. 60. № 3. С. 271–281.
2. Гнубкина В.П., Маркевич А.И. Размножение и развитие расписного масляка *Pholis picta* (Perciformes: Pholidae) и опоясанного опистоцентра *Opisthocentrus zonope* (Stichaeidae) // Вопр. ихтиологии. 2008. Т. 48. № 4. С. 528–536.
3. Линдберг Г.У., Красюкова З.В. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей. Ч. 4. Teleostomi. XXIX. Perciformes. 3. Blennioidae – 13. Gobioidae (CXLV. Сем. Anarhichadidae – CLXXV. Сем. Periophthalmidae). Л.: Наука, 1975. 464 с.
4. Макеева А.П. Эмбриология рыб. М.: Изд-во МГУ, 1992. 216 с.
5. Медников Б.М. Температура как фактор развития // Внешняя среда и развивающийся организм. М.: Наука, 1977. С. 7–52.
6. Надточий В.В. Сезонное развитие планктона в зонах разных типов вертикальной структуры вод северо-западной части Японского моря // Изв. ТИНРО. 1998. Т. 123. С. 150–167.
7. Павлов Д.А. Морфологическая изменчивость в раннем онтогенезе костистых рыб. М.: ГЕОС, 2007. 267 с.
8. Рутенко О.А. Эколого-морфологический и генетический анализ опистоцентровых рыб Японского моря (Perciformes: Opisthocentridae), Автореферат диссертации. Владивосток. 2022. 24 с. Так же доступно как [электронный ресурс] http://www.wimb.dvo.ru/misc/dissertations/images/dissertations/files/rutenko/Autoreferat_Rutenko.pdf (дата обращения: 12.12.2022).
9. Соколовский А.С., Соколовская Т.Г. Атлас икры, личинок и мальков рыб Российской вод Японского моря. Владивосток: Дальнаука, 2008. 223 с.
10. Шунтов В.П. Биология дальневосточных морей России. Т. 1. Владивосток: ТИНРО-центр, 2001. 580 с.
11. Beckman D.W., Schulz R.G. A simple method for marking fish otoliths with alizarin compounds. // Trans. Am. Fish. Soc. 1996. V. 125. P. 146–149. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1996\)125%3C0146:ASMFMF%3E2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1996)125%3C0146:ASMFMF%3E2.3.CO;2)
12. Blom G., Nordeide J.T., Svå sand T., Borge A. Application of two fluorescent chemicals, alizarin complexone and alizarin red S, to mark otoliths of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. // Aquaculture and Fisheries Management. 1994. V. 25. P. 229–243.
13. Downing G., Litvak M.K. Effects of light intensity, spectral composition and photoperiod on development and hatching of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) embryos // Aquaculture. 2002. V. 213. P. 265–278. PII: S0044-8486(02)00090-X.
14. Geffen A.J. The deposition of otolith rings in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., embryos // J. Fish Biol. 1983. V. 23. P. 467–474.
15. Joh M., Joh T., Matsu-ura T., Takatsu T. Validation of otolith increment formation and the growth rate of fat greenling larvae // Aquacult. Sci. 2008. V. 56. P. 157–166. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci.56.157>
16. Katakura S., Ohta M., Jin M., Sakur Y. Otolith-marking experiments of juvenile walleye pollock *Theragra chalcogramma* using oxytetracycline, alizarin complexone, and alizarin red // Suisanzoshoku. 2003. V. 51. № 3. P. 327–335. <https://doi.org/10.11233/AQUACULTURESCI1953.51.327>
17. Korwin-Kossakowski M. Fish hatching strategies: a review // Reviews in Fish Biology and Fisheries. 2012. V. 22. P. 225–240. <https://doi.org/10.1007/s11160-011-9233-7>
18. Lagardere F., Thibaudeau K., Begout Anras M.L. Feasibility of otolith markings in large juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*, using immersion in alizarin-red S solutions // ICES J. Mar. Sci. 2000. V. 57. P. 1175–1181. <https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0804>
19. Morales-Nin B. Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation // Fish. Res. 2000. V. 46. P. 53–67. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(00\)00133-8](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(00)00133-8)
20. Nakaya M., Morioka T., Fukunaga K. et al. Validation of otolith daily increments for larval and juvenile Japanese

- halfbeak *Hyporhamphus sajori* // Fish. Res. 2008. V. 93. P. 186–189.
<https://doi.org/10.1016/j.fishres.2008.04.004>
21. *Ochiai T., Fuji A.* Energy transformations by a blenny (*Opisthocentrus ocellatus*) population of Usu bay, southern Hokkaido // Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido University. 1980. V. 31. № 4. P. 314–326.
 22. *Panchenko V.V., Shelekhov V.A.* New data on reproduction and early ontogenesis of the antlered sculpin, *Enophrys diceraus* (Cottidae) in Peter the Great Bay // Marine Biology in the 21st Century: Achievements and Development Outlook (in Commemoration of the 100th Anniversary of the Birth of Academician Alexey V. Zhirmunsky). ABSTRACTS of the International Conference. Vladivostok, 2021. P. 182–183. Так же доступно как [электронный ресурс] http://www.imb.dvo.ru/images/nscmb/files/meetings/AVZ-Conf-2021-Posters/Panchenko_VV_poster.pdf (дата обращения: 08.12.2022).
 23. *Pavlov D.A., Novikov G.G.* Life history and peculiarities of common wolffish (*Anarhichas lupus*) in the White Sea // ICES Journal of Marine Science. 1993. V. 50. № 3. P. 271–277.
 24. *Pavlov D.A.* Growth of juveniles of White Sea common wolffish, *Anarhichas lupus* L., in captivity // Aquacult. Res. 1995. V. 26. P. 195–203.
 25. *Rě P.* Daily growth increments in the sagitta of pilchard larvae *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) (Pisces: Clupeidae) // Cybium. 1984. V. 7. № 3. P. 9–15.
 26. *Shelekhov V.A., Epur I.V., Balanov A.A. et al.* Some adaptations of pricklebacks (family Stichaeidae) to reproduction in Peter the Great Bay (the Sea of Japan). // Marine Biology in the 21st Century: Achievements and Development Outlook (in Commemoration of the 100th Anniversary of the Birth of Academician Alexey V. Zhirmunsky). ABSTRACTS of the International Conference. Vladivostok, 2021. P. 182–183. Так же доступно как [электронный ресурс] http://www.imb.dvo.ru/images/nscmb/files/meetings/AVZ-Conf-2021-Posters/Shelekhov_VA_poster.pdf (дата обращения: 08.12.2022).
 27. *Shiogaki M.* Life history of the stichaeid fish *Opisthocentrus ocellatus*. // Jap. J. Ichthyol. 1982. V. 29. № 1. P. 77–85.
 28. *Tokuya K., Amaoka K.* Studies on larval and juvenile Blennies in the coastal waters of the Southern Hokkaido (Pisces: Blennioidei) // Bull. Fac. Fish. Hok. Univ. 1980. V. 31. № 1. P. 16–49.
 29. *Tsukamoto K., Shima Y.* Otolith daily increment in sand fish // Nippon Suisan Gakkaishi. 1990. V. 56. P. 1083–1087.

Verification of the Daily Periodicity of Microincrements Formation on the Otoliths of the Juvenils of the Ocellated Blenny *Opisthocentrus ocellatus* (Stichaeidae) for a Retrospective Evaluation of the Period of Mass Hatching under the Conditions of Peter the Great Bay of the Japan Sea

V. A. Shelekhov[#]

A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

[#]*e-mail: shelekhov@mail.ru*

Experiments were carried out on intravital otolith-tagging of juveniles of the ocellated blenny after transition to benthic life mode with Alizarin Red S. Marking at a dye concentration of 200 mg/L for 16–18 h at night, gave 100% formation of fluorescent marks with zero mortality of experimental individuals. Alizarin marks on the otoliths correspond to “stress” marks in the form of darker micro-increments, visible in transmitted light. The calculation of microincrements in the zone between two consecutive markings with an interval of 9 days confirmed the daily periodicity of their laying at this stage of development of the ocellated blenny. This allowed us to determine the period of hatching in natural conditions of juveniles in the Zhitkov Bay (Russky Island, the Peter the Great Bay, Japan sea). Hatching of larvae in 2017 in this species occurred, according to our estimates, from the last decade of March to the end of the second decade of April, with a peak in the first decade of April. Hatching begins even under the ice at a slightly negative water temperature of –1–0°C, but it proceeds mainly already at a temperature of 1–3°C, after the removal of ice from the bay. Taking into account the known timing of spawning of the ocellated blenny in the Peter the Great Bay (November–early December), we can state that the development of its eggs in this area is greatly slowed down at water temperatures below zero in December–March and can go on for 4–5 months, which is almost 3 times longer than the development time in more mild conditions of the south Hokkaido.

Keywords: ocellated blenny, otolith-tagging, Alizarin Red S, time of incubation and hatching, otoliths, the Peter the Great Bay, Japan Sea