

УДК 592.591.16:574.632

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-26-35

Репродуктивные адаптации морских ежей с планктотрофной личинкой

П.М. Жадан¹, М.А. Ващенко²¹ Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, г. Владивосток, Россия;² Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

В кратком обзоре обобщены оригинальные данные авторов о роли факторов среды в запуске и синхронизации нереста в естественных популяциях двух видов морских ежей с планктотрофной личинкой. Показано, что для обоих видов характерны сходные репродуктивные адаптации, направленные на повышение репродуктивного успеха. Высокая чувствительность морских ежей, в первую очередь самцов, к сигналу(ам) окружающей среды, скорее всего к фитопланктону, может рассматриваться как широкомасштабная адаптация, характерная для многих морских беспозвоночных с внешним оплодотворением и планктотрофной личинкой, и, видимо, является одной из предпосылок для развития массового нереста. Ночное время, а также фазы новолуния и полнолуния являются модулирующими факторами, увеличивающими вероятность массового нереста. Более длительную продолжительность нереста у самцов по сравнению с самками, большую продолжительность выделения спермы во время массового нереста по сравнению с таковым во время одиночного нереста, большую продолжительность нереста у самцов, обитающих в среде с более высоким уровнем фитопланктона, и сближение самцов и самок во время массового нереста можно рассматривать как мелкомасштабные адаптации, повышающие вероятность оплодотворения.

Ключевые слова: иглокожие, репродуктивный цикл, нерест, факторы среды, фитопланктон, температура

Поступила в редакцию 17.02.2022. Получена после доработки 24.02.2022. Принята к печати 28.02.2022.

Для цитирования: Жадан П.М., Ващенко М.А. Репродуктивные адаптации морских ежей с планктотрофной личинкой. Тихоокеанский медицинский журнал. 2022;1: 26–35. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-26-35

Для корреспонденции: Ващенко Марина Александровна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17); ORCID: 0000-0002-9098-2102; e-mail: mvaschenko@mail.ru

Reproductive adaptations of sea urchins with planktotrophic larvae

P.M. Zhadan¹, M.A. Vaschenko²¹ V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia; ² A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology FEB RAS, Vladivostok, Russia

Summary: The brief review summarizes the authors' original data on the role of environmental factors in triggering and synchronization of spawning in natural populations of two species of sea urchins with planktotrophic larvae. It is shown that both species exhibit similar reproductive adaptations aimed at enhancing reproductive success. The high sensitivity of sea urchins, primarily males, to environmental signal(s), most likely to phytoplankton, can be considered as a large-scale adaptation characteristic of many marine invertebrates with external fertilization and planktotrophic larvae and promoting the development of mass spawning events. Night time, as well as the new moon and full moon phases, are modulating factors that increase the likelihood of mass spawning. Longer duration of spawning in males compared to females, longer duration of sperm release during mass spawning compared to that during solitary spawning, longer duration of spawning in males living in an environment with higher level of phytoplankton, and approach of males and females during mass spawning can be considered as small-scale adaptations that increase the likelihood of fertilization.

Keywords: echinoderms, reproductive cycle, spawning, environmental variables, phytoplankton, temperature

Received 17 February 2022; Revised 24 February 2022; Accepted 28 February 2022

For citation: Zhadan P.M., Vaschenko M.A. Reproductive adaptations of sea urchins with planktotrophic larvae. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:26–35. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-26-35

Corresponding author: Marina A. Vaschenko, PhD of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Physiology of the A.V. Zhirmunsky National Scientific Center for Marine Biology of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (17 Palchevsky St., Vladivostok, 690041, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-9098-2102; e-mail: mvaschenko@mail.ru

В ходе эволюции у морских беспозвоночных с наружным оплодотворением и питающимися (планктотрофными) личинками выработался ряд репродуктивных адаптаций, обеспечивающих успешность размножения. Для многих таких видов характерен годовой репродуктивный цикл с нерестом, приуроченным к сезону с оптимальными условиями для развития потомства – температурой и соленостью воды, наличием пищи для потомства [1]. Синхронизация нереста у особей разных полов в пределах

одного поселения чрезвычайно важна для успешности воспроизводства вида, что обусловлено малой продолжительностью жизни половых клеток во внешней среде и быстрым разбавлением гамет [2]. Следовательно, для успешного оплодотворения необходим внешний стимул, который бы обеспечивал одновременный выброс гамет в воду у достаточного количества особей обоих полов [3].

Морские биологи давно заметили, что появление планктотрофных личинок беспозвоночных совпадает

с цветением фитопланктона [4]. Биологический смысл этого явления очевиден – фитопланктон служит пищей для личинок. В лабораторных экспериментах было показано, что добавление микроводорослей или их экстрактов к морской воде стимулирует нерест морских ежей и двусторчатых моллюсков [5–7]. Большинство видов морских ежей – типичные представители морских беспозвоночных с внешним оплодотворением и планктотрофной личинкой, поэтому на протяжении десятков лет они служат объектами исследований, цель которых – выявление факторов, запускающих и синхронизирующих нерест в поселениях таких животных. Существует обширная литература, в которой обсуждается ряд факторов – предполагаемых синхронизаторов нереста в поселениях морских ежей. Наряду с повышением концентрации фитопланктона в воде [8–11] на роль таких факторов претендуют повышение или понижение температуры воды [12–15], фотопериод [16], фазы лунного цикла [9, 17–19], а также наличие половых клеток в окружающей среде [20]. В большинстве работ выводы были сделаны на основании исследований репродуктивного цикла морских ежей. Однако из-за низкой частоты отбора животных (обычно один раз в месяц) и недостаточного контроля параметров среды в местах их обитания однозначного ответа получено не было.

В Национальном научном центре морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН) исследования репродуктивных циклов массовых видов морских ежей, обитающих в зал. Петра Великого (Японское море), проходили в начале 1970-х гг. по инициативе д.м.н. профессора П.А. Мотавкина, который в то время возглавлял созданную им лабораторию гаметогенеза. Были получены первые данные о сезонных изменениях состояния гонад и сроках нереста у морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* и *Mesocentrotus nudus* (= *Strongylocentrotus nudus*) и об эндогенных регуляторных механизмах репродуктивного цикла с участием нейrogормонов [21]. В период с 1984 по 2003 гг. мы исследовали динамику состояния репродуктивной функции морских ежей *S. intermedius*, обитающих в загрязненных и относительно чистых районах зал. Петра Великого в сезон их размножения, и обнаружили сдвиг сроков нереста с осени на раннее лето в поселениях морского ежа из сильно загрязненных районов [22]. В дальнейшем были приняты многолетние (2003–2015 гг.) исследования репродуктивных циклов морских ежей *S. intermedius* в 23 природных поселениях, расположенных в северо-западной части Японского моря на протяжении 400 км побережья Приморского края, на различном расстоянии от г. Владивостока, крупнейшего морского порта на Дальнем Востоке с населением более 600 тыс. человек. Выявлены три типа поселений морского ежа, различающихся сроками нереста: первый – с ярко выраженным осенним нерестом, в сентябре – начале октября, второй – с ярко выраженным раннелетним нерестом, в конце мая – июне, и третий – с двумя

пиками нереста, раннелетним и осенним [22, 23]. Было показано, что поселения *S. intermedius* второго типа расположены в прибрежной зоне, прилегающей к г. Владивостоку. Поскольку антропогенное загрязнение сопряжено с эвтрофикацией прибрежных морских вод [24], мы выдвинули гипотезу о том, что различные сроки нереста в разных поселениях морских ежей *S. intermedius* могут быть обусловлены их адаптацией к условиям обитания в среде с высоким уровнем первичной продукции, то есть с высокой концентрацией фитопланктона – пищи для личинок морских ежей [23].

В настоящей работе кратко изложены результаты наших исследований, направленных на проверку гипотезы о том, что фитопланктон и/или другие факторы среды индуцируют либо не способны индуцировать нерест в природных поселениях морских ежей с планктотрофной личинкой.

Явление отсутствия нереста в поселениях *S. intermedius*

Чтобы выяснить, связаны ли сроки нереста в поселениях *S. intermedius* с уровнем антропогенной нагрузки, мы детально исследовали репродуктивный цикл этого вида в б. Киевка. Эта бухта расположена в малонаселенном районе, прилегающем к Лазовскому государственному заповеднику, одному из крупнейших лесных заповедников на российском Дальнем Востоке, что предполагает отсутствие значимого антропогенного влияния на морскую прибрежную экосистему. В ходе исследований мы столкнулись с неожиданным и ранее не описанным явлением – в 2008 г. более 90% морских ежей не закончили свой репродуктивный цикл нерестом [25]. Мы исследовали состояние гонад *S. intermedius* из б. Киевка методами определения гонадного индекса и гистологического анализа на протяжении трех репродуктивных циклов (с апреля 2008 г. по апрель 2011 г.) и обнаружили, что, несмотря на ежегодное созревание гонад в июле–августе, в некоторые годы нерест отсутствовал у почти всей (95% не отнерестившихся самок в 2008 г.) или большей части (53% неотнерестившихся самок в 2009 г.) популяции морского ежа [25]. В сентябре начиналась массовая деструкция невыметанных яйцеклеток, которые распадались на мелкие фрагменты (рис. 1). Самцы также не нерестились полностью. Резорбция невыметанных гамет (очистительные процессы) продолжалась в течение 7 мес., тогда как в случае нормального нереста морских ежей эти процессы занимают 2–3 мес. [26]. Только 1 из 3 исследованных репродуктивных циклов *S. intermedius* закончился полным нерестом (в 2010 г.) [25].

Мы провели оценку полноты нереста в поселениях *S. intermedius* в северо-западной части Японского моря, от б. Рудная на севере до зал. Восток на юге, с целью анализа пространственного (географического) распределения этого явления (рис. 1). Для того чтобы выявить региональные различия в температуре поверхностного слоя воды и уровне продукции фитопланктона (определенного как концентрация хлорофилла *a*), были проанализированы данные спутникового мониторинга за август–октябрь 2008–2009 гг. [25]. Сравнение

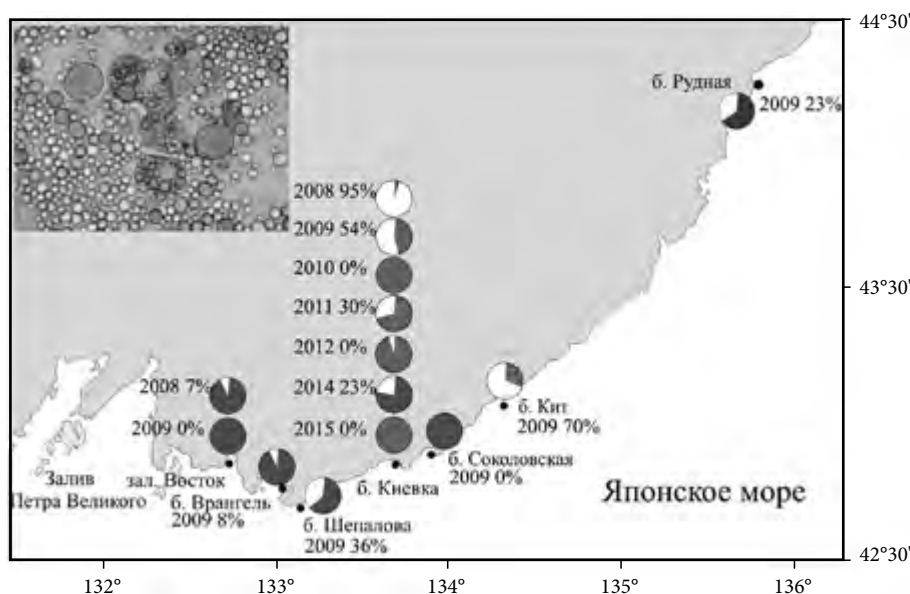


Рис. 1. Встречаемость явления отсутствия нереста в поселениях морского ежа *S. intermedius* в северо-западной части Японского моря.

Доля не отнерестившихся самок обозначена белым цветом. На врезке – деструкция невметанных яйцеклеток (мазок гонады).

сезонной динамики температуры и концентрация хлорофилла *a* в б. Киевка и зал. Восток представляет наибольший интерес, поскольку разница в доле не отнерестившихся самок *S. intermedius* между этими районами была очень высока (рис. 1). В 2008 г. динамика температуры в б. Киевка и зал. Восток была сходной (коэффициент корреляции Пирсона $r = 0,81$, $p < 0,0001$), тогда как концентрация хлорофилла *a* сильно различалась: максимальная и средняя величины в зал. Восток были в 5,5 и 3,5 раза выше, соответственно, чем таковые в б. Киевка. В 2009 г. динамика температуры в б. Киевка и зал. Восток, а также на 5 других станциях (бухты Рудная, Врангеля, Шепалова, Соколовская и Кит) была сходной. Доля не отнерестившихся самок, тем не менее, была различной в разных бухтах и коррелировала со средней концентрацией хлорофилла *a* в этих районах [25]. Наибольшая концентрация хлорофилла *a* была обнаружена в зал. Восток, где в 2009 г. не было не отнерестившихся самок (рис. 1).

Результаты проведенного исследования показали наличие связи между успешностью нереста в поселениях морского ежа *S. intermedius* и уровнем фитопланктона в районах их обитания. Кроме того, эти результаты указывают на необходимость определенного фактора среды или комбинации факторов для стимуляции нереста в естественных популяциях морских ежей. Достаточно высокая концентрация фитопланктона, который служит пищей для личинок, и подходящая для развития личинок температура воды – основные факторы, обеспечивающие успешность выживания потомства морских ежей, поэтому оба этих фактора могут претендовать на роль стимулов окружающей среды, запускающих нерест в поселениях морского ежа *S. intermedius*. Результаты наших исследований не поддерживают гипотезу о том, что понижение

или повышение температуры может быть основным триггером нереста морских ежей [27]. В то же время, они поддерживают гипотезу о том, что повышение концентрации фитопланктона – наиболее вероятный кандидат на роль главного фактора, инициирующего нерест морских ежей.

Первичная продукция в прибрежных водах в значительной степени зависит от притока биогенных элементов из таких источников, как терригенный сток, апвеллинг и антропогенное загрязнение [28, 29]. Район наших исследований характеризуется значительными вариациями уровня антропогенного воздействия и межгодовыми колебаниями объема речного стока, а также сроков и выраженности апвеллинга [25, 30–32]. Мы предположили, что явление отсутствия нереста в поселениях *S. intermedius* может быть обусловлено таким сочетанием факторов окружающей среды, которое способствует низкому уровню первичной продукции в сезон размножения морских ежей. Результаты наших последующих исследований показали, что отсутствие нереста у части популяции *S. intermedius* в б. Киевка – обычное явление, так что нерестовый сезон может длиться более 2 мес. [32], а неполный нерест наблюдали в течение 4 сезонов в период с 2008 по 2015 гг. (рис. 1).

Влияние факторов среды на нерест морских ежей

С целью проверки гипотезы о том, что фитопланктон индуцирует нерест в поселениях *S. intermedius*, мы исследовали влияние различных факторов среды (фитопланктон, температура, соленость, содержание кислорода, уровень прилива, лунный цикл и время суток) на успешность нереста морских ежей. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1) исследовать с высоким временным разрешением динамику состояния гонад морского ежа, обитающего

в районах с различным уровнем первичной продукции, в течение репродуктивного сезона;

2) исследовать с высоким временным разрешением сезонную и суточную динамику факторов среды в местах обитания животных;

3) осуществить количественный анализ нерестовой активности морских ежей с использованием видеосъемки;

4) провести анализ зависимости между нерестовой активностью в поселениях морского ежа и факторами среды.

Исследования проходили в двух районах северо-западной части Японского моря: б. Киевка (относительно низкий уровень первичной продукции) и б. Алексеева о-ва Попова (высокий уровень первичной продукции, обусловленный влиянием загрязненных вод Амурского залива). Время проведения экспериментов совпадало с нерестовыми сезонами *S. intermedius* в этих районах. В б. Киевка это август–сентябрь, а в б. Алексеева – май–сентябрь [23, 33].

Исследования были проведены в 2 этапа. На первом этапе анализировали состояние гонад морских ежей с 4 станций в б. Киевка в течение 2 сезонов размножения (2011 и 2012 гг.) при частоте отбора животных в среднем каждые 4 сут. Параметры среды измеряли ежедневно с помощью океанографического зонда в местах обитания животных. Анализировали зависимость между событиями нереста, определенными как временной интервал («нерестовое окно») между двумя выборками морских ежей, в течение которого было зарегистрировано достоверное изменение одного или нескольких показателей состояния репродуктивной функции (гонадный индекс, доля готовых к нересту морских ежей, доля отнерестившихся самок), и факторами среды (концентрации хлорофилла *a* – показателя содержания фитопланктона в воде – и кислорода, температура, соленость, уровень моря, фазы лунного цикла). Детали методов и статистического анализа описаны в статье [32].

Суммарно, по 3 показателям (достоверное снижение ГИ и/или доли готовых к нересту морских ежей и увеличение доли отнерестившихся самок), за 2 сезона было выявлено 16 событий нереста – «нерестовых окон» продолжительностью от 4 до 12 суток [23, 32]. Сравнительный анализ взаимосвязи между динамикой факторов среды и нерестом морских ежей показал, что 14 из 16 событий нереста имели место в начале сезонного апвеллинга и после его окончания в условиях стабильной температуры (внутрисуточные колебания температуры < 1°C) или небольших межсуточных и внутрисуточных вариаций температуры (до 4°C). Два события нереста произошли в периоды, когда имели место сильные температурные флуктуации, с межсуточными колебаниями температуры до 6–14°C. Однако в обоих случаях эти «нерестовые окна» включали несколько дней с относительно стабильной температурой. В то же время очень сильные температурные флуктуации, зарегистрированные на

2 станциях во время апвеллинга/даунвеллинга (меж- и внутрисуточные вариации температуры более 14°C) не вызвали массового нереста в поселениях морских ежей, несмотря на высокую степень готовности животных к нересту (почти 100%) [32].

Сравнение сроков нереста морских ежей и динамики концентрации хлорофилла *a* в придонном слое воды показало, что все 16 событий нереста совпадали с увеличением содержания хлорофилла *a* [32]. Логистический регрессионный анализ выявил достоверную зависимость между вероятностью нереста морских ежей и всеми моделями, в которых были использованы различные факторы на основе концентрации хлорофилла *a* (значения *p* от < 0,05 до < 0,0001). Логистический регрессионный анализ не выявил достоверной зависимости между вероятностью нереста морских ежей и моделями, в которых были использованы различные факторы на основе солености и температуры. Не обнаружено также достоверных моделей с использованием различных парных комбинаций температуры, солености и концентрации хлорофилла *a*. Статистический анализ взаимосвязи между фазами лунного цикла и событиями нереста морских ежей (круговая статистика для циклической шкалы данных [34]) показал, что 13 из 16 дат регистрации нереста совпадали с фазами новой или полной луны. Различий в уровне прилива во время различных фаз луны не выявлено (ANOVA, *p* > 0,05) [32].

Таким образом, мы получили убедительное свидетельство в пользу гипотезы о том, что повышение концентрации фитопланктона может быть основным фактором, стимулирующим нерест в популяциях морских ежей [23,32]. Однако для того чтобы получить твердый ответ на этот вопрос, мы провели исследование с еще более высоким временным разрешением. На втором этапе была осуществлена круглосуточная сезонная видеорегистрация нерестового поведения морских ежей (с интервалом в 1 мин) в сочетании с регистрацией факторов среды (с интервалом в 10 мин) [33]. Исследования проведены в бухтах Киевка и Алексеева в 2014–2016 гг.

Покадровый анализ видеозаписей с помощью программы «Tracker» для видеоанализа (www.open-sourcephysics.org/items/detail.cfm?ID=7365) показал, что в б. Киевка нерест морских ежей наблюдали редко, перерывы между событиями нереста варьировались от 1 до 14 сут. Здесь в течение августа–сентября двух сезонов размножения нерест был зарегистрирован у 106 самцов и 5 самок. В б. Алексеева в течение мая–июня было зарегистрировано 388 событий нереста у самцов и 16 – у самок. Пик нереста совпал с новолунием (между 20 и 24 мая), во время которого было зарегистрировано 55 и 88% событий нереста у самцов и самок, соответственно. В период с 17 мая по 13 июня произошло 95% событий нереста; впоследствии случаи нереста отмечались лишь у единичных самцов.

Корреляционный анализ не выявил достоверной связи между долей нерестящихся морских ежей

в течение каждого часа наблюдений и температурой, соленостью воды и уровнем ее насыщения кислородом. В то же время обнаружена достоверная положительная корреляция между долей нерестящихся животных и концентрацией хлорофилла *a* при высоком уровне достоверности ($p < 0,001$).

Парный критерий *T* Вилкоксона показал, что величины медианной концентрации хлорофилла *a* за нерестовый сезон в б. Киевка достоверно различались в разные годы, а в б. Алексеева она была достоверно выше, чем в б. Киевка (во всех случаях $p < 0,001$). Эти данные указывают на наличие причинно-следственной связи между нерестом и концентрацией хлорофилла *a*: более высокая концентрация хлорофилла *a* в течение нерестового сезона соответствует более высокой среднесуточной доле нерестящихся особей (рис. 2) [33].

Эпизоды нереста морских ежей в течение суток были распределены неравномерно ($p < 0,005$ и $p < 0,002$ для бухт Киевка и Алексеева, соответственно, круговая статистика, тест Рэлея) [33]. В б. Киевка все эпизоды нереста были зарегистрированы в период между 16 и 2 часами. Середина этого интервала нерестовой активности приходилась на закат ($M \pm SD = 20$ ч 58 мин $\pm$ 3 ч 20 мин). В б. Алексеева большая часть эпизодов нереста (74,8%) зарегистрирована в темное время суток, и середина интервала нерестовой активности соответствовала 23 ч 33 мин $\pm$ 4 ч 35 мин.

Статистический анализ параметров среды не выявил существенных различий между периодами низкой и повышенной нерестовой активности на обеих станциях. Таким образом, неравномерное распределение эпизодов нереста в течение суток (циркадный ритм) свидетельствует об участии эндогенного фактора в регуляции нереста *S. intermedius*.

Мы не нашли в доступной литературе сведений о наличии связи между нерестом морских ежей и временем суток, хотя влияние циркадного ритма на миграционную и двигательную активность этих животных показано в ряде работ [35, 36]. Вместе с тем есть

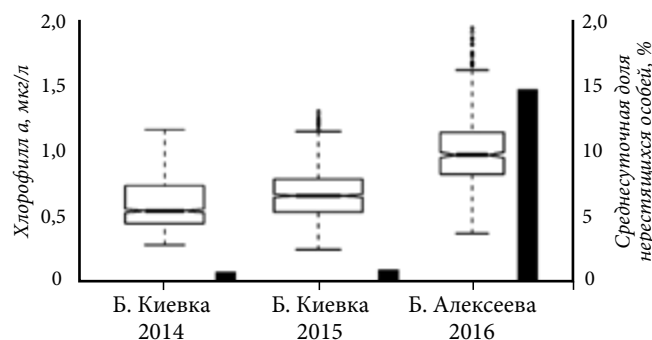


Рис. 2. Медианные значения (горизонтальные линии внутри прямоугольников) концентрации хлорофилла *a* за нерестовый сезон и среднесуточная доля нерестящихся морских ежей (черные столбики) в бухтах Киевка и Алексеева. Верхняя и нижняя границы прямоугольников – 75 и 25 процентиля, соответственно; вертикальные отрезки – минимальные и максимальные значения; кружочками обозначены статистические выбросы. Ширина прямоугольников пропорциональна величине выборки; размеры вырезок обозначают 95% доверительный интервал медианы.

интересное исследование [37], в котором аквалангисты в течение двух летних сезонов собирали данные о количестве нерестящихся представителей иглокожих (Holothuroidea, Asteroidea, Crinoidea и Ophiuroidea) и времени их нереста в центральном и северном районах Большого Барьерного рифа. Мы проанализировали данные этих исследований с помощью теста Рэлея. В результате оказалось, что эпизоды нереста представителей этих групп иглокожих также неравномерно распределены в течение суток: центр распределения их нерестовой активности соответствовал 19 ч 00 мин $\pm$ 2 ч 00 мин. Таким образом, изменчивость уровня нерестовой активности в течение суток, вероятно, является общим свойством иглокожих. Молекулярной основой для этого могут быть гены, принадлежащие большому семейству фотолиаз–криптохромов (гены *Cpf*), продукты которых принимают участие в репарации ДНК, восприятии света и регуляции циркадных ритмов. Недавно эти гены обнаружены в геноме морских ежей [38]. Реализация нереста в сумерки и в темное время суток является полезным приобретением, повышающим вероятность выживания потомства.

Таким образом, исследования связи между событиями нереста *S. intermedius*, зарегистрированными методами анализа состояния гонад и методом видеорегистрации, и факторами среды не выявили зависимости нерестовой активности морских ежей от температуры, солености и концентрации растворенного кислорода. В то же время обнаружена достоверная положительная зависимость вероятности событий нереста от концентрации хлорофилла *a*. Более того, впервые получена достоверная положительная корреляция между долей нерестящихся морских ежей в течение каждого часа наблюдений и концентрацией хлорофилла *a*. Выходит, мы получили убедительное доказательство в пользу гипотезы о том, что увеличение концентрации фитопланктона в воде может служить первичным стимулом для запуска нереста морских ежей [8–10, 20].

Наше исследование выявило совпадение большинства событий нереста *S. intermedius* с фазами новой и полной луны. Тем не менее влияние лунного цикла на нерест морского ежа было различным в разные годы исследований. Это, так же как и феномен отсутствия нереста [25, 32], может быть объяснено с той точки зрения, что фазы лунного цикла, по всей видимости, не являются первичным стимулом, необходимым для запуска нерестовой активности *S. intermedius*. Наиболее вероятно, что лунный цикл может служить дополнительным фактором, усиливающим чувствительность морских ежей к другим факторам среды, как это было предположено ранее для морского ежа *Lytechinus variegatus* [20].

Количественный анализ нерестового поведения морских ежей во время массового нереста

Метод видеорегистрации позволил впервые осуществить количественный анализ преднерестового и нерестового поведения 2 видов морских ежей,

S. intermedius и *M. nudus* [39]. Были проанализированы натурные видеозаписи, полученные в течение 6 нерестовых сезонов (2014–2019 гг.) в 2 бухтах, Киевка и Алексева. Целью исследования было получить ответы на следующие вопросы: 1) как и за какое время до нереста меняется поведение двух видов морских ежей и 2) меняются ли расстояния между самцами и самками в результате нерестового поведения? Кроме того, были определены временные характеристики выделения гамет и динамика численности нерестящихся особей во время массового нереста этих видов.

Для каждого вида было зарегистрировано 12 массовых нерестов, в которых участвовало 10 и более особей [39]. Нерест происходил в сумерках или ночью в 19 из 24 случаев массового нереста, зарегистрированных для обоих видов. Из 24 массовых нерестов, 12 произошли в интервале от 0 до 4 суток вблизи новолуния, 2 события зафиксированы за сутки до полнолуния, 3 события произошли в фазе прибывающей Луны (первая четверть) и 7 событий наблюдались, когда Луна находилась в фазе убывания (третья четверть). Несмотря на то, что нерестовые сезоны *S. intermedius* и *M. nudus* в изучаемых районах перекрываются, и иногда наблюдали одновременный нерест нескольких особей обоих видов, не было зарегистрировано ни одного случая синхронного массового нереста с участием 10 и более особей каждого вида.

Сравнительный анализ выявил сходное нерестовое поведение у обоих видов [39]. Установлено, что характер нереста прерывистый, гаметы у самцов и самок выделяются порциями. Количество порций и общая длительность нереста у самцов достоверно выше, чем у самок, за счет большей длительности интервалов между порциями спермы (тест Манна–Уитни, $p < 0,05$ и $p < 0,01$ для *S. intermedius* и *M. nudus*, соответственно). К другим особенностям нереста самцов относится их способность начинать нерест раньше самок и заканчивать его позже, а также нереститься в отсутствие самок. Кроме того, длительность нереста самцов в б. Алексева с более высоким уровнем первичной продукции была достоверно больше, чем в б. Киевка с относительно низким уровнем первичной продукции (тест Манна–Уитни, $p < 0,0001$). У обоих видов продолжительность выхода одной порции спермы и общая продолжительность выхода спермы была достоверно выше при массовом нересте, чем при одиночном нересте (тест Манна–Уитни, $p < 0,01$) [39].

В среднем самки *S. intermedius* и *M. nudus* начинали нерест через 26,5 мин и 24,0 мин, соответственно, после начала нереста первого самца, когда большое количество самцов уже отнерестились, и заканчивали нерест за 12,0 и 15,5 мин до последнего нереста самцов. Несмотря на то, что самцы начинали нереститься раньше и заканчивали нерест позже самок, динамика численности самцов и самок у обоих видов хорошо синхронизирована, так что максимальное количество одновременно нерестившихся полов совпадало

(коэффициент корреляции Спирмена $r = 0,722$ и $0,845$ для *S. intermedius* и *M. nudus*, соответственно, $p < 0,0001$) (рис. 3 а, б). В большинстве случаев продолжительность нереста обоих видов морских ежей составляла около 100 мин (рис. 3 а, б).

В целом, самцы *S. intermedius* и *M. nudus* проявляли гораздо более активное нерестовое поведение, чем самки. Во-первых, они начинали нерест раньше и заканчивали нерест позже самок. Более того, самцы обоих видов морских ежей были способны к нересту в отсутствие самок. Наши наблюдения подтверждают принятое в настоящее время мнение о том, что самцы иглокожих преимущественно нерестятся первыми [27, 40].

Во-вторых, численность самцов, участвующих в массовом нересте, была значительно выше, чем самок. Соотношение самок и самцов составляло 1:9 и 1:5 для *S. intermedius* и *M. nudus*, соответственно, что существенно отличается от соотношения полов в природных популяциях этих видов, близкого к 1:1 [33]. Близкое соотношение самок и самцов во время массового нереста в полевых условиях было обнаружено для других видов морских ежей, таких как *Strongylocentrotus purpuratus*

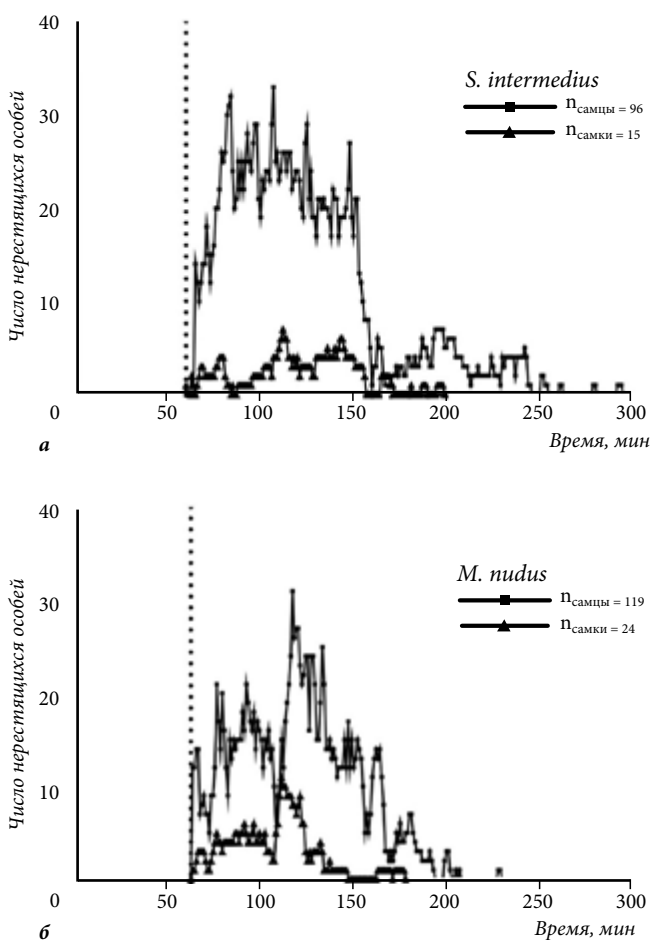


Рис. 3. Динамика численности одновременно нерестящихся самцов и самок морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* (а) и *Mesocentrotus nudus* (б) во время массового нереста. Все данные о численности самцов и самок, участвующих в массовом нересте, были совмещены на оси X в момент времени, совпадающий с началом нереста первой особи в каждом событии массового нереста (обозначено вертикальной пунктирной линией).

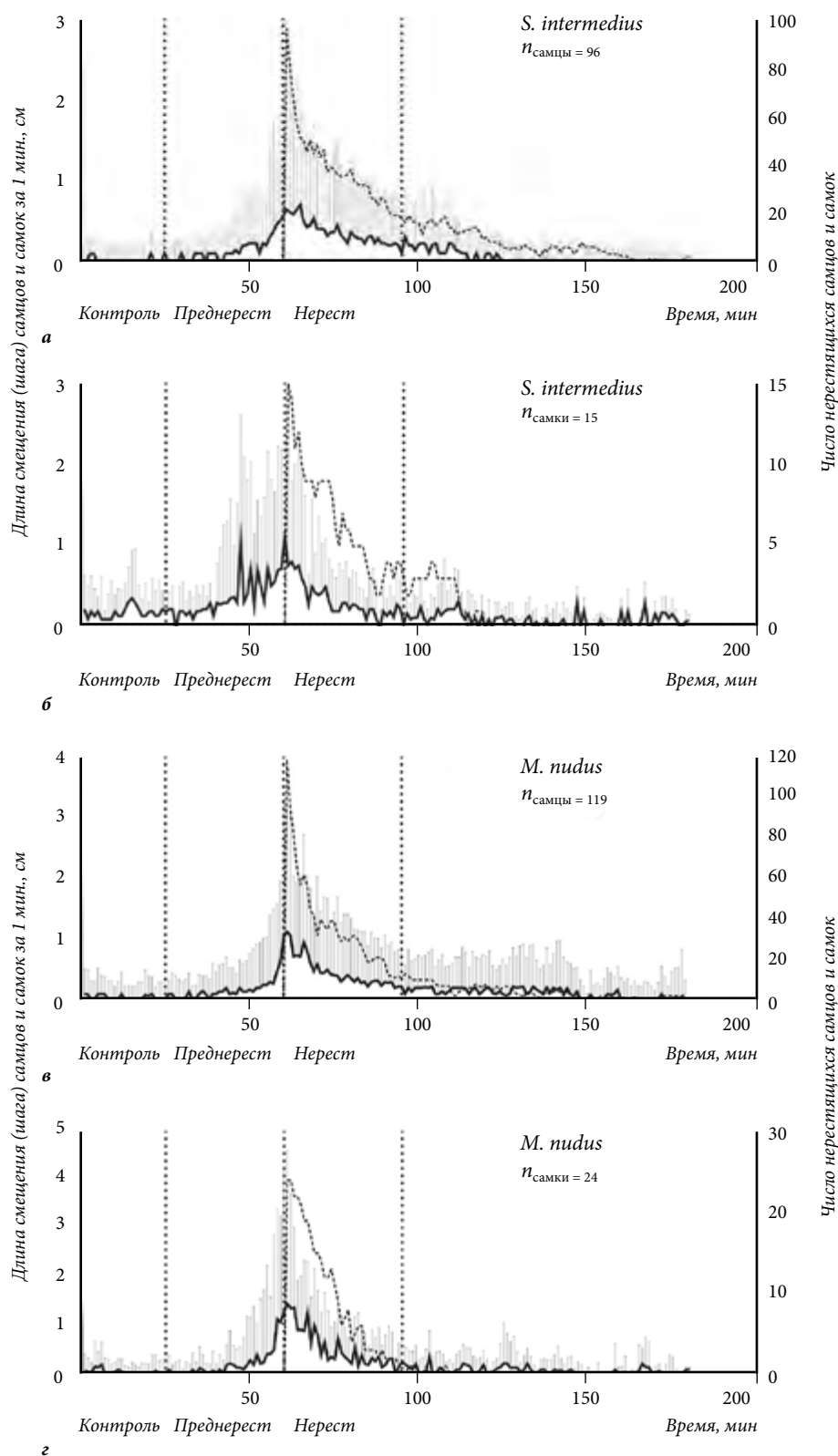


Рис. 4. Динамика двигательной активности самцов и самок морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* (а, б) и *Mesocentrotus nudus* (в, г) до и во время массового нереста.

Данные о длине шагов морских ежей и численности нерестящихся особей были совмещены на оси X в момент времени, совпадающий с началом нереста каждой особи. Вертикальными пунктирными линиями обозначены границы контрольного, преднерестового и нерестового интервалов. Черная сплошная линия обозначает среднюю длину шага морских ежей. Вертикальные линии соответствуют межквартильному диапазону (IQR). Штриховые линии показывают количество нерестящихся особей.

(1:4, [41]), *M. franciscanus* (1:8, [41]) и *S. droebachiensis* (1:4, [14]).

Наши исследования показали, что важнейшей чертой нерестового поведения морских ежей является повышение двигательной активности незадолго до нереста и во время нереста [39]. Достоверное увеличение длины смещения самцов и самок за 1 мин (длины шага) *S. intermedius* (рис. 4 а, б) и *M. nudus* (рис. 4 в, г) происходило за 30–35 мин до начала нереста (тест Крускала–Уоллиса, $p < 0,0001$). В период нереста оба пола *M. nudus* и самцы *S. intermedius* ускорялись еще больше, а самки *S. intermedius* несколько замедлялись (тест Крускала–Уоллиса, $p < 0,0001$). По мере приближения окончания массового нереста скорость движения самок обоих видов постепенно снижалась.

Очень важен тот факт, что самцы, которые начинали нерест первыми во время массового нереста, а также самцы, которые нерестились в одиночку, увеличивали скорость своего движения перед нерестом в отсутствие других нерестящихся особей. Это наблюдение указывает на то, что увеличение двигательной активности у *S. intermedius* и *M. nudus* перед нерестом обусловлено влиянием факторов окружающей среды. Мы полагаем, на основании результатов наших исследований [33, 39], что основным фактором, вызывающим увеличение двигательной активности морских ежей, является повышение концентрации фитопланктона в воде. В пользу этого вывода свидетельствует также тот факт, что в некоторых случаях, при повышении концентрации хлорофилла *a* до 5–10 мкг/л, не нерестящиеся (незрелые или уже отнерестившиеся) особи начинали активно двигаться раньше, чем их соседи собирались нереститься. Эти наблюдения позволяют предположить, что незрелые морские ежи обладают способностью воспринимать некоторые сигналы окружающей среды, в случае их высокой интенсивности, и проявлять нерестовое поведение.

Чтобы определить, сближаются ли самцы и самки во время массового нереста, было проведено 2 анализа [39]. Во-первых, определяли расстояния от самцов и самок до их общего центра масс. При расчете центра массы морского ежа условная масса самцов или самок принималась кратной времени выхода гамет. Во-вторых, измеряли расстояния от каждого из самцов и от каждой не нерестящейся особи до центра масс самок. Анализ пространственного распределения самцов и самок морских ежей во время массового нереста выявил значительное сближение морских ежей обоих видов на плоской поверхности (кормушки с ламинарией) в период нереста [39]. Расстояние от нерестящихся морских ежей до их общего центра масс и до центра масс самок во время массового нереста морских ежей достоверно уменьшалось, особенно существенно в первые 60 мин от начала нереста. Более того, не нерестящиеся особи также сближались с самками, хотя это сближение было менее выраженным, чем между самцами и самками.

Пространственное распределение морских ежей во время нереста на вертикальной поверхности существенно отличалось от такового на плоских кормовых субстратах. Самцы и самки обоих видов на вертикальной поверхности двигались строго вверх как до, так и во время нереста [39]. Нерестящиеся самцы, достигнув вершины большого камня, продолжали активно перемещаться по его поверхности в отсутствие самок. В случаях, когда рядом находилась нерестящаяся самка, самцы замедляли ход или останавливались. Напротив, самки обычно прекращали активное движение во время нереста, достигнув вершины камня. Самки *S. intermedius* также демонстрировали аналогичное поведение на пищевых субстратах, когда они взбирались на других особей. У *M. nudus* подобное поведение не зарегистрировано.

Таким образом, нам удалось получить ответ на один из наиболее интересных вопросов, касающихся репродуктивного поведения морских ежей – это вопрос о том, сближаются ли морские ежи друг с другом во время нереста. На сегодняшний день имеется лишь скудная информация о пространственном распределении морских ежей разных видов до и во время нереста, что обусловлено практически полным отсутствием прямых полевых наблюдений этих процессов. Насколько нам известно, исследование Левитана [41] является единственной работой, в которой определяли расстояние между нерестящимися и не нерестящимися морскими ежами *M. franciscanus* во время массового нереста в полевых условиях. На основании данных о распределении морских ежей, картируемых с 30-минутным интервалом в течение 2 ч, сделан вывод о том, что во время нереста нерестящиеся и не нерестящиеся особи не становились более агрегированными.

В нашем исследовании с интервалом в 1 мин в течение 3 ч прослеживали траектории морских ежей и определяли изменение расстояний от самцов и не нерестящихся особей до центра масс самок [39]. Такой подход позволил показать, что морские ежи *S. intermedius* и *M. nudus* не образовывали настоящих скоплений до и во время массового нереста, но, несомненно, сближались. Наиболее существенные изменения расстояний между нерестящимися и не нерестящимися морскими ежами *S. intermedius* и *M. nudus* происходили в первые 50–60 мин после начала массового нереста. Таким образом, временное разрешение в 30 мин [41] оказалось недостаточным для обнаружения изменения расстояний между морскими ежами во время нереста.

Поскольку успех оплодотворения у морских ежей зависит от расстояния между самцом и самкой [41, 42], их сближение во время массового нереста имеет важное значение для успешности воспроизводства. Смысл сближения не нерестящихся особей и самок не очень очевиден. В связи с этим возникает вопрос: проявляют ли нерестящиеся самцы и не нерестящиеся особи сходное поведение из-за их реакции на некоторые химические сигналы (феромоны), посылаемые вместе с гаметами, выделяемыми сородичами, скорее всего,

самками? Мы полагаем, что полученные в настоящей работе новые данные о закономерностях двигательной активности морских ежей при массовом нересте послужат физиологической основой для поиска биомолекул, которые могут играть роль феромонов у этой группы иглокожих.

Заключение

Анализ данных о состоянии гонад (степень зрелости и готовность к нересту) морского ежа *S. intermedius* и динамике факторов среды в сезон его размножения в районах северо-западной части Японского моря с различными уровнями антропогенной нагрузки и первичной продукции показал, что сроки нереста (нерестовые окна) в различных поселениях *S. intermedius* могут быть разными даже в пределах одной бухты. Кроме того, годовой репродуктивный цикл морского ежа в некоторых поселениях может не завершаться полноценным нерестом. Все это указывает на то, что нерест морских ежей зависит не только от степени зрелости гонад, но также и от локальных условий окружающей среды, то есть определенные внешние стимулы необходимы для запуска нереста. Исследования связи между событиями нереста, зарегистрированными методом видеорегистрации, и факторами среды (температура, соленость и концентрации растворенного кислорода и хлорофилла *a*) выявили достоверную положительную зависимость событий нереста только от концентрации хлорофилла *a*. Таким образом, мы получили убедительные доказательства в пользу того, что увеличение концентрации фитопланктона в воде может служить первичным стимулом для запуска нереста морских ежей.

Анализ временных и количественных закономерностей поведения морских ежей *S. intermedius* и *M. nudus* во время массового нереста показал, что для обоих видов характерны сходные репродуктивные адаптации, направленные на повышение репродуктивного успеха. Высокая чувствительность морских ежей, в первую очередь самцов, к фитопланктону представляет крупномасштабную (глобальную) адаптацию, характерную для многих беспозвоночных с внешним оплодотворением и планктотрофной личинкой, и, по-видимому, является одной из предпосылок для развития массового нереста. Ночное время суток, а также фазы новой и полной луны, видимо, являются модулирующими факторами, увеличивающими вероятность массового нереста. Такие поведенческие особенности, как ускорение движения и стремление взобраться на возвышенность, сближение самцов и самок во время нереста, более длительная продолжительность нереста у самцов по сравнению с самками, большая продолжительность выделения спермы самцами во время массового нереста, чем во время одиночного нереста, можно рассматривать как мелкомасштабные адаптации, повышающие вероятность оплодотворения.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: научное исследование частично финансировано за счет государственных заданий Российской Федерации (темы 121082600038-3 и 121021500052-9).

Литература / References

- Himmelman JH. Spawning, marine invertebrates. In: Knobil E, Neill JD, editors. *Encyclopedia of Reproduction*. V. 4. New York: Academic Press; 1999. P. 524–33.
- Leviton DR, Petersen C. Sperm limitation in the sea. *Trends Ecol Evol*. 1995;10:228–31. doi: 10.1016/S0169-5347(00)89071-0.
- Petersen CW, Levitan DR. The Allee effect: a barrier to recovery by exploited species. In: Reynolds JD, Mace GM, Redford KH, Robinson JG, editors. *Conservation of exploited species*. Cambridge: Cambridge University Press; 2001. P. 281–300.
- Thorson G. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol Rev Cambridge Phil Soc*. 1950;25:1–45. doi: 10.1111/j.1469-185X.1950.tb00585.x.
- Breese WP, Robinson A. Razor clams, *Siliqua patula* (Dixon): gonadal development, induced spawning and larval rearing. *Aquaculture*. 1981;22:27–33. doi: 10.1016/0044-8486(81)90130-7.
- Starr M, Himmelman JH, Theriault JC. Direct coupling of marine invertebrate spawning with phytoplankton blooms. *Science*. 1990;247:1071–74. doi: 10.1126/science.247.4946.1071.
- Starr M, Himmelman JH, Theriault JC. Isolation and properties of a substance from the diatom *Phaeodactylum tricornutum* which induces spawning in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Mar Ecol Prog Ser*. 1992;79:275–87. doi: 10.1139/f93-103.
- Starr M, Himmelman JH, Theriault JC. Environmental control of green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, spawning in St Lawrence estuary. *Can J Fish Aquat Sci*. 1993;50:894–901. doi: 10.1139/f93-103.
- Gaudette J, Wahle RA, Himmelman JH. Spawning events in small and large populations of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* as recorded using fertilization assays. *Limnol Oceanogr*. 2006;51:1485–96. doi: 10.4319/lo.2006.51.3.1485.
- González-Irusta JM, De Cerio FG, Canteras JC. Reproductive cycle of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the Cantabrian Sea (northern Spain): environmental effects. *J Mar Biol Ass UK*. 2010;90:699–709. doi: 10.1017/S002531540999110X.
- Bronstein O, Kroh A, Loya Y. Reproduction of the long-spined sea urchin *Diadema setosum* in the Gulf of Aqaba – implications for the use of gonad-indexes. *Sci Rep*. 2016;6(1):29569. doi: 10.1038/srep29569.
- Byrne M. Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Mar Biol*. 1990;104(2):275–89. doi: 10.1007/BF01313269.
- Lamare MD, Stewart BG. Mass spawning by the sea urchin *Evechinus chloroticus* (Echinodermata: Echinoidea) in New Zealand fiord. *Mar Biol*. 1998;132(1):135–140. doi: 10.1007/s002270050379.
- Himmelman JH, Dumont CP, Gaymer CF, Vallières C, Drolet D. Spawning synchrony and aggregative behaviour of cold-water echinoderms during multi-species mass spawnings. *Mar Ecol Prog Ser*. 2008;361:161–168. doi: 10.3354/meps07415.
- Egea E, Merigot B, Mahe-Bezac C, Feral J-P, Chenuil A. Differential reproductive timing in *Echinocardium* spp.: the first Mediterranean survey allows interoceanic and interspecific comparisons. *Comptes Rendus Biologies*. 2011;334(1):13–23. doi: 10.1016/j.crv.2010.10.007.
- Byrne M, Andrew NL, Worthington DG, Brett PA. Reproduction in the diademoid sea urchin *Centrostephanus rodgersii* in contrasting habitats along the coast of New South

- Wales, Australia. *Mar Biol.* 1998;132(2):305–18. doi: 10.1007/s002270050396.
17. Lessios HA. Presence and absence of monthly reproductive rhythms among eight Caribbean echinoids off the coast of Panama. *J Exp Mar Biol Ecol.* 1991;153(1):27–47. doi: 10.1016/S0022-0981(05)80004-8.
 18. Coppard SE, Campbell AC. Lunar periodicities of diadematid echinoids breeding in Fiji. *Coral Reefs.* 2005;24(2):324–332. doi: 10.1007/s00338-005-0491-5.
 19. Mercier A, Hamel JF. Synchronized breeding events in sympatric marine invertebrates: role of behavior and fine temporal windows in maintaining reproductive isolation. *Behav Ecol Sociobiol.* 2010;64(11):1749–65. doi: 10.1007/s00265-010-0987-z.
 20. Reuter KE, Levitan DR. Influence of sperm and phytoplankton on spawning in the echinoid *Lytechinus variegatus*. *Biol Bull.* 2010;219(3):198–206. doi: 10.1086/BBLv219n3p198.
 21. Хотимченко Ю.С., Деридович И.И., Мотавкин П.А. Биология размножения и регуляция гаметогенеза и нереста у иглокожих. М.: Наука, 1993. [Khotimchenko YS, Deridovich II, Motavkin PA. *The reproductive biology and regulation of gametogenesis and spawning in echinoderms*. Moscow: Nauka; 1993. (In Russ.)]
 22. Ващенко М.А., Жадан П.М. Исследование влияния хронического загрязнения морской среды на состояние репродуктивной функции беспозвоночных животных. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2012;2:110–14. [Vaschenko MA, Zhadan PM. Studying effects from chronic marine environment pollution on the state of invertebrates reproductive function. *Pacific Medical Journal.* 2012;2:110–14. (In Russ.)]
 23. Zhadan PM, Vaschenko MA, Almyashova TN. Effects of environmental factors on reproduction of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. In: Agnello M, editor. *Sea urchin – from environment to aquaculture and biomedicine*. Reijeka: INTECH, 2017. P. 35–69. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69511>.
 24. Stonik IV, Orlova TY. Summer-autumn phytoplankton in Amurskii Bay, Sea of Japan. *Rus J Mar Biol.* 1998;24:207–13.
 25. Zhadan PM, Vaschenko MA, Almyashova TN. Spawning failure in the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* in the northwestern Sea of Japan: potential environmental causes. *J Exp Mar Biol Ecol.* 2015;465:11–23. doi: 10.1016/j.jembe.2014.12.017.
 26. Walker CW, Unuma T, Lesser MP. Gametogenesis and reproduction of sea urchins. In: Lawrence JM, editor. *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. P. 11–33.
 27. Mercier A, Hamel J-F. Endogenous and exogenous control of gametogenesis and spawning in echinoderms. *Adv Mar Biol.* 2009;55:1–302. doi: 10.1016/S0065-2881(09)55001-8.
 28. Зуенко Ю.И. Промысловая океанология Японского моря. Владивосток: ТИНРО-Центр, 2008. [Zuenko YI. *Fisheries oceanography of the Japan Sea*. Vladivostok: TINRO-Center; 2008. (In Russ.)]
 29. Cloern JE, Foster SQ, Kleckner AE. Review: Phytoplankton primary production in the world's estuarine-coastal ecosystems. *Biogeosci Discuss.* 2013;10:17725–83. doi: 10.5194/bg-11-2477-2014.
 30. Жабин И.А., Грамм-Осипова О.Л., Юрасов Г.И. Ветровой апвеллинг у северо-западного побережья Японского моря. *Метеорология и гидрология.* 1993;10:82–6. [Zhabin IA, Gramm-Osipova OL, Yurasov GI. Wind upwelling off the northwest coast of the Sea of Japan. *Russian Meteorology and Hydrology.* 1993;10:82–6 (In Russ.)]
 31. Zvalinskii VI, Lobanov VB, Zakharkov SP, Tishchenko PY. Chlorophyll, delayed fluorescence, and primary production in the northwestern part of the Sea of Japan. *Oceanology (Mosc).* 2006;46:23–32. doi: 10.1134/S0001437006010048.
 32. Zhadan PM, Vaschenko MA, Lobanov VB, Sergeev AF, Kotova SA. Fine-scale temporal study of the influence of hydrobiological conditions on the spawning of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. *Mar Ecol Prog Ser.* 2016;550:147–61. doi: 10.3354/meps11678.
 33. Zhadan PM, Vaschenko MA, Ryazanov SD. Assessing the effect of environmental factors on the spawning activity of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* through video recording observations. *Mar Ecol Prog Ser.* 2018;588:101–19. doi: 10.3354/meps12436.
 34. Zar JH. *Biostatistical analysis*. 5th ed. NJ: Prentice-Hall, Englewood Cliffs; 2010.
 35. Crook AC, Long M, Barnes DKA. Quantifying daily migration in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *J Mar Biol Ass UK.* 2000;80:177–8. doi: 10.1017/S0025315499001721.
 36. Hasegawa K. Analysis of circadian rhythm in *Strongylocentrotus nudus* using a commercial digital camera with an interval function. *Rep Mar Ecol Res Inst.* 2014;18:63–5.
 37. Babcock R, Mundy C, Keesing J, Oliver J. Predictable and unpredictable spawning events: *in situ* behavioral data from free-spawning coral reef invertebrates. *Inv Repr Dev.* 1992;22(1–3):213–28. doi: 10.1080/07924259.1992.9672274.
 38. Oliveri P, Fortunato AE, Petrone L, Fujiwara TI, Kobayashi Y, Todo T, Antonova O, Zantke J, Arboleda E, Tessmar-Raible K, Falcatore A. The cryptochrome/photolyase family in aquatic organisms. *Mar Genomics.* 2014;14:23–37. doi: 10.1016/j.margen.2014.02.001.
 39. Zhadan PM, Vaschenko MA, Permyakov PA. Quantitative study of the behavior of two broadcast spawners, the sea urchins *Strongylocentrotus intermedius* and *Mesocentrotus nudus*, during mass spawning events *in situ*. *PeerJ.* 2021;9:e11058. doi: 10.7717/peerj.11058.
 40. Levitan DR. Sperm limitation, sperm competition and sexual selection in external fertilizers. In: Birkhead T, Moller A, editors. *Sperm competition and sexual selection*. San Diego: Academic Press; 1998. P. 173–215.
 41. Levitan DR. Density-dependent selection on gamete traits in three congeneric sea urchins. *Ecology.* 2002;83:464–79. doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[0464:DDSGT]2.0.CO;2.
 42. Levitan DR. Sex-specific spawning behavior and its consequences in an external fertilizer. *American Naturalist.* 2005;165(6):682–94. doi: 10.1086/429733.