

Санкт-Петербургский государственный университет

**КУЩ Дарья Анатольевна**

**Выпускная квалификационная работа**

**Пространственная структура популяции брюхоногого моллюска  
*Peringia ulvae* на литорали Белого моря (на примере о. Оленевский,  
Кандалакшский залив)**

Уровень образования: магистратура

Направление 05.04.06 «Экология и природопользование»

Основная образовательная программа ВМ.5532 «Экология. Биоразнообразие и охрана природы»

Научный руководитель: старший научный  
сотрудник  
Кафедра прикладной экологии СПбГУ  
кандидат биологических наук  
Нехаев Иван Олегович

Рецензент: старший научный сотрудник  
Лаборатория гидробиологии  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки  
Институт Озероведения Российской  
академии наук  
кандидат биологических наук  
Русанов Александр Геннадьевич

Санкт-Петербург – 2022

Введение.....	3
Глава 1. Литературный обзор.....	4
1.1 Биология <i>Peringia ulvae</i> .....	4
1.2 Распределение размерных когорт <i>Peringia ulvae</i> на литорали .....	5
1.3 Методы изучения размерной структуры популяции моллюсков .....	7
Глава 2. Материалы и методы.....	11
2.1 Описание района исследований.....	11
2.2 Полевой сбор материала .....	14
2.3 Обработка проб.....	18
2.4 Таксономическая идентификация.....	18
2.5 Определение размера моллюсков методом компьютерного зрения .....	19
Рисунок 8 - Процесс определения индивидуальных линейных размеров моллюсков. Слеваа – графическое изображение; справа – результат анализа с использованием компьютерного зрения.....	21
2.6 Статистическая обработка данных .....	21
Глава 3. Результаты.....	23
3.1 Применимость алгоритмов компьютерного зрения для анализа размерной структуры моллюсков.....	23
3.2 Изменение размерной структуры моллюсков <i>Peringia ulvae</i> при удалении от берега .....	27
3.3 Изучение пространственных структур <i>Peringia ulvae</i> на микромасштабе .....	31
Выводы .....	33
Литературные источники.....	34

## Введение

В работах по изучению пространственной структуры популяций литоральных видов, как правило, не учитываются особенности биологии этих организмов. К таким особенностям можно отнести размножение, питание, рост, поведение. Наоборот, при активном исследовании биологии литоральных организмов ещё не достаточно изучены механизмы внутривидовых отношений.

Под воздействием разных факторов вырабатываются такие формы межорганизменных взаимоотношений, которые регулируют систему на всех уровнях и определяют устойчивость сообщества в течение длительного времени на фоне меняющихся условий среды. Отражением этих процессов является специфическая пространственная и структурная организация популяций. При этом внешне сходные распределения могут быть отражением самых различных процессов.

В качестве объекта исследований выбран литоральный брюхоногий моллюск *Peringia ulvae* (Pennant, 1777). Благодаря сравнительно небольшим размерам, короткому жизненному циклу, высокой плотности поселения (до 150000 экз/м<sup>2</sup>) и обитанию на литорали перингии являются популярным объектом популяционных исследований.

Цель исследования – изучение пространственной и размерной структуры популяции моллюска *Peringia ulvae* на разных масштабах организации популяции.

Для этого необходимо было решить следующие задачи:

- 1) Проверка применимости алгоритмов компьютерного зрения для анализа размерной структуры моллюсков;
- 2) Выявление размерной структуры и численности моллюсков *Peringia ulvae* при удалении от берега;
- 3) Изучение пространственных структур *Peringia ulvae* на микромасштабе.

## Глава 1. Литературный обзор

### 1.1 Биология *Peringia ulvae*

Вид *Peringia ulvae* распространен вдоль восточного побережья Атлантического океана от северных берегов Франции, Белое море является северо-восточной границей ареала вида (Матвеева, 1974). Наиболее подробное исследование для северной части ареала *Peringia ulvae* проведено Матвеевой Т.А. (1974), дальнейший обзор основывается на этом источнике с необходимым дополнением из других источников.

Перингии обитают на литорали, заходя на небольшие глубины сублиторали (до 20 м). Они эврибионтны, в частности устойчивы к низкому содержанию кислорода, даже присутствию сероводорода, колебаниям солености и температуры. Большей численности достигает в распресненных местах (Столяров, 1994). Встречается на различных субстратах - илисто-песчаном, мелко-каменистом, на поверхности литоральных валунов; предпочитает - сильно заиленные участки и заросли нитчатых водорослей и *Zostera marina* (Матвеева, 1974). Питаются тем, что с поверхности субстрата соскабливают одноклеточные водоросли и бактериальные пленки (Цихон-Луканина, 1987).

Раковина взрослых особей перингии овально-коническая, с 5-6 уплощенными оборотами. Её максимальная высота до 8 мм (Голиков, Кусакин, 1978), для Белого моря до 5.7 мм (Матвеева, 1974). Раковина живого моллюска покрыта хорошо заметным периостракумом оливково-коричневого цвета. Форма оборотов раковины и швов, цвет периостракума может варьировать. (Голиков, Кусакин, 1978) Тело моллюска преимущественно черного цвета. На голове имеются два длинных щупальца с черными кольцами у кончика (Hayward et al., 1995). Это является видовым определительным признаком. У самцов над правым головным щупальцем располагается хорошо развитый пенис.

Моллюски раздельнополы, нерест происходит в наиболее теплые месяцы: у берегов Англии и Дании – с мая по август, в Белом море (пролив Великая Салма)

в июне-июле. Самка в сезон размножения откладывает несколько кладок (до 25 яиц). Эмбриональное развитие завершается выходом плавающих личинок. Развитие от кладок до оседания молодых моллюсков проходит примерно за месяц (Матвеева, 1974).

Пополнение популяции происходит неравномерно, волнами, что связано с высокой смертностью личинок в периодически изменяющихся условиях на литорали. Вследствие этого возникают разделенные размерные группы (когорты) взрослых моллюсков и выжившей молодежи, эта структура поддерживается при дальнейшем размножении (Barnes, 1996). Продолжительность жизни *P. ulvae* не превышает 2-3 лет (Матвеева, 1974).

Newell (2009) изучал приливно-отливные поведенческие реакции *Peringia ulvae*. Автор отмечал способность к миграциям с помощью слизистого плотика на поверхностной пленке воды. Во время отлива моллюски активно передвигаются, питаются детритом. Через какое-то время движение замедляется и прекращается, после чего моллюск закапывается в грунт, продолжая питание в нем, оставив на поверхности хоботок и щупальца. Почувствовав приливное движение воды, моллюски выползают на поверхность и всплывают, и чем дольше моллюск на плаву, тем больше склонность прикрепляться к любому встреченному субстрату. Обычно моллюски оседают на грунт при соприкосновении со дном. То есть, распределение перингии может существенно изменяться каждый приливно-отливный цикл.

## **1.2 Распределение размерных когорт *Peringia ulvae* на литорали**

Размерная структура популяции *Peringia ulvae* на литорали Белого моря была подробно изучена в серии исследований М.Ю. Колобова (Колобов, Бурковский, 2002). Этим автором сделано предположение, что в популяции *Peringia ulvae* на разных уровнях пространственной организации существуют разные способы распределения.

Было показано, что в мезомасштабе, то есть на расстоянии десятков метров, общая численность моллюсков и доля маленьких размерных групп по направлению от моря уменьшаются. Это связано с наличием градиента абиотических факторов от более стабильной морской среды до амфибиотической литорали, переходящей в сушу. Анализ главных компонент выявил наибольшее влияние следующих параметров (39% изменчивости факторов среды): влажность грунта, покрытие макрофитами, преобладание глинистой фракции в грунте. Наибольших значений численность популяции *Peringia ulvae* (около 6900 экз./м<sup>2</sup>) достигает на границе нижней и средней литорали. Максимум молоди (первая размерная группа) отмечается в нижней литорали, в середине нижней литорали молодь составляет 60% от всех обнаруженных перингий. Вторая размерная группа доминирует по численности в средней литорали, где она составляет 70% от всех обнаруженных здесь перингий. Все следующие группы и старые особи достигают максимальной численности в средней литорали. Далее при движении к верхней литорали плотность поселения гидробии постепенно снижается, особенно сильно условия среды сказываются на численности ювенильных групп, которые практически отсутствуют в верхних горизонтах литорали.

В микромасштабе изучены локальные закономерности пространственной организации для расстояний порядка целых сантиметров, что сопоставимо с размером взрослого моллюска. В отличие от мезомасштаба на этом пространственном уровне отсутствует направленный градиент среды, и на характер распределения влияют иные факторы. Было показано, что плотности ближайших размерных групп отрицательно скоррелированы.

На разных уровнях пространственной организации популяции *Peringia ulvae* ее распределение отличается. Для мезомасштаба наблюдается такое распределение размерных когорт, при котором молодь находится в нижних горизонтах литорали, а взрослые моллюски на верхних горизонтах. Указывается направленная миграция старших групп к верхним горизонтам. В том числе перемещения на поверхностной пленке воды, на масштабе десятков метров. Для объяснения результатов микромасштабного распределения было предположено,

что расхождение по размерам тела и, соответственно, размерам потребляемой пищи ослабляет пищевую конкуренцию при высоких плотностях поселения.

Общая численность перингии падает на краях их диапазона толерантности, при этом экологическая ниша молодых особей находится внутри видовой экологической ниши. Молодь выживает в более благоприятных по гидрологическому режиму зонах литорали, при этом имеет со взрослыми особями разные спектры питания. В мезомасштабе агрегированность распределения размерных когорт может быть объяснена в большей степени влиянием абиотических факторов, а не биотическими отношениями внутри популяции.

Исследование, о котором мы говорим, имеет ряд недостатков, в частности, в качестве меры была использована сырая масса зафиксированных в спирте экземпляров. При таком подходе разделение моллюсков на размерные когорты связано с большой погрешностью измерения при испарении спирта. Особенно затруднительно измерение мелких экземпляров, вес которых меньше веса окружающего фиксатора. Также долю молодежи сложнее оценить численно из-за потери при промыве проб. В обработке полученных данных накопление ошибок происходит при неточном использовании статистического аппарата, поскольку он подбирается произвольно (применимость метода, ограничения метода).

### **1.3 Методы изучения размерной структуры популяции моллюсков**

Линейные измерения осуществляются с помощью линейки, штангенциркуля, микрометра, окулярной линейки. Разрешающая способность и погрешность измерения зависят от диапазона измерения линейных размеров (Кузин, 2001). Объект измеряется в стандартных положениях по установленным морфометрическим признакам раковины (рис. 1). Возможно проведение измерений по фотографиям.

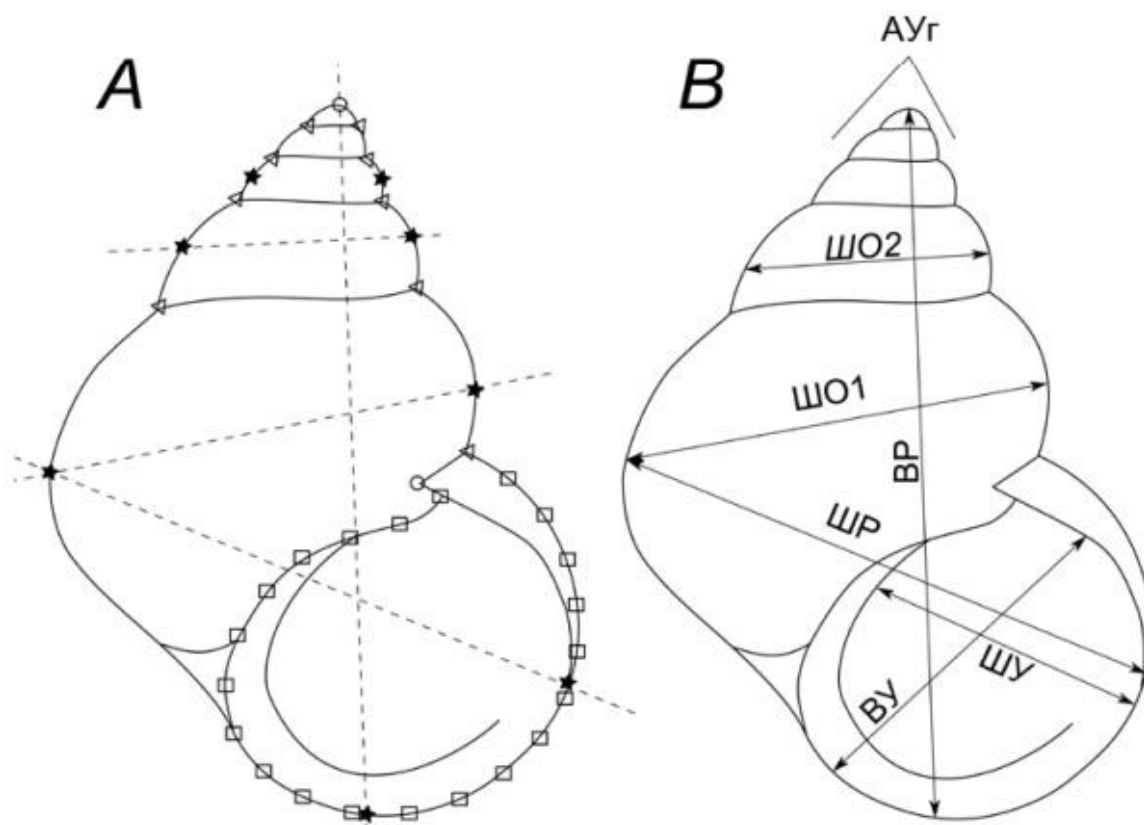


Рисунок 1 – Разные варианты изучения морфологии и размера раковины: А – геометрическая морфометрия, В – линейные измерения. Из Старунова и др., 2011

В работе Мясникова (1992) морфологический анализ использован для идентификации видов промысловых гребешков, между которыми существуют переходные формы, что затрудняет их видовое определение по скульптуре раковины. На основе длины, толщины и высоты раковины рассчитаны морфометрические индексы, также отличающие особей внутри вида по росту. Было показано, что внутривидовые различия в росте гребешков иногда больше, чем межвидовые. Изменчивость морфологических признаков может указывать на экологические особенности обитания популяций или особенности расселения видов.

В комплексном исследовании (Vinarski et al., 2017) по определению таксонов семейства Lymnaeidae линейные параметры раковины были преобразованы в два соотношения: ширина и высота раковины, высота оборота и



высота раковины. В результате множественные вариации формы раковины были разделены на два главных морфотипа.

Однако, часто наблюдается скоррелированность линейных и размерных характеристик (Старунова и др., 2011). Метод геометрической морфометрии исключает влияние размеров объекта на форму и учитывает варьирование ее элементов. В этом методе форма описывается декартовыми координатами меток, расставленных в фиксированных точках, которые должны присутствовать у всех объектов выборки. Изменение формы может быть линейным или нелинейным. Линейные изменения формы — это глобальное растяжение-сжатие (как в вертикальной, так и в горизонтальной плоскостях) всего объекта в целом (для всех меток одновременно). Нелинейные изменения представляют собой локальные деформации, сжатия, искривления вблизи каждой метки. Для исключения влияния размерного фактора экземпляры выборки выравнивают по отношению к конкретному эталонному объекту. Выровненные объекты совмещаются друг с другом путем растяжения-сжатия, в результате анализа вычисляются переменные формы — коэффициенты деформации. Эти коэффициенты могут использоваться в последующем статистическом анализе как количественные переменные (Старунова и др., 2010).

Использование массы в качестве размерного критерия позволяет производить измерения с высокой скоростью, но существенно меньшей точностью (Колобов, Бурковский, 2002). Методически задачу взвешивания можно решить различными способами: определение сырого веса, поверхностно-сухого, воздушно-сухого, с удалением полостной жидкости организма или без него, до или после фиксации, применение различных фиксаторов (Азовский, 2018).

Проблема методических временных затрат на измерения, снижения погрешности, увеличения объема выборки может быть решена при использовании компьютерного зрения (OpenCV). OpenCV — это библиотека алгоритмов компьютерного зрения с открытым исходным кодом, которая предназначена для анализа, классификации и обработки изображений. Метод появился сравнительно недавно, и применяется пока что в немногих исследованиях (Kiel, 2021). OpenCV

возможно можно специализировать под задачи собственного исследования, самостоятельно программируя необходимые скрипты.

## Глава 2. Материалы и методы

### 2.1 Описание района исследований

Белое море расположено на севере европейской части России в приполярном районе. Его акватория глубоко врезана в материк, через широкий пролив Белое море соединяется с Баренцевым морем (рис. 2).

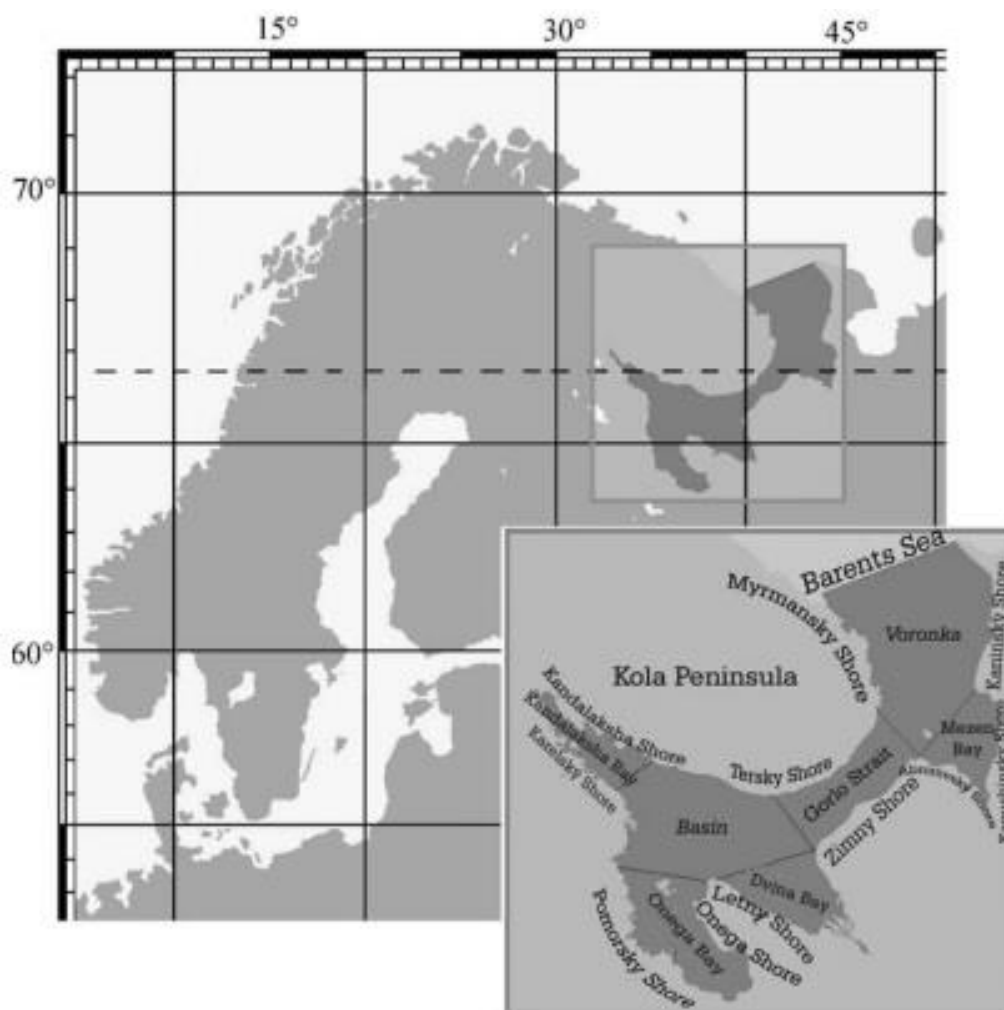


Рисунок 2 - Карта Белого моря и его районов. Из US National Oceanographic Data Center, 2012.

Кандалакшский залив является продолжением центрального глубоководного желоба открытой части Белого моря. От центрального бассейна его глубокая котловина (до 330 м) ограничена мелководным проливом (до 50 м). Сложная береговая линия со множеством врезанных заливов представляет в уменьшенном масштабе отчленение порогами прибрежных заливов от морской

части. Помимо изрезанности берегов, рельеф литорали более мелко подразделён фестончататыми структурами, формирующемся в результате приливно-отливных течений и волнового действия (Чесунов и др., 2008).

Климат Белого моря умеренно-холодный с континентальными чертами, которые проявляются в усилении сезонности, выраженной в большем прогреве летом и охлаждении зимой. Годовые амплитуды температуры у побережий превышают 20 °С (Чесунов и др., 2008).

Средние температурные показатели таковы: среднегодовая температура 0.5 °С, самый холодный месяц - февраль с температурами от -10 до -12 °С, самый тёплый месяц – июль с наибольшей температурой 13,2 °С (Чесунов и др., 2008). Зимний период под ледяным покровом продолжается 6 месяцев: начинается со второй половины-конца октября и заканчивается в середине-конце мая.

Значительным межсезонным и межгодовым изменениям подвержена солёность вод. Весной вследствие таяния льдов и речного стока поверхностные воды значительно опресняются. При повышении температуры возникает устойчивая плотностная стратификация поверхностных и глубинных вод. В летнее время поверхностный слой прогревается до +15 - 16 °С при солёности 20 - 28 ‰. На глубинах 34-44 м располагается термоклин – 0 °С, далее температура понижается до -1,4 °С примерно на горизонте 150 м, солёность с глубиной увеличивается до 30 – 34 ‰ (Зенкевич, 1963). Зимние воды осолоняются при образовании льда и происходит свободное вертикальное перемешивание всей толщи вод.

В Кандалакшском заливе правильные полусуточные приливно-отливные циклы с высотой приливов 2,5 - 3,5 м, наблюдается асимметрия соотношения – время подъёма на 1.5 - 2.2 ч меньше, чем время отступления воды.

Кроме приливно-отливных течений в Белом море существуют постоянные течения против часовой стрелки, которые осуществляют водообмен с Баренцевым морем. Летом при вертикальном расслоении более холодные и солёные воды Баренцева моря опускаются вниз на глубины, насыщая придонные слои

кислородом. Зимой, когда воды Белого моря достигают изогалины в 30 ‰, происходит большее поступление вод из Баренцева моря в Белое.

Ввиду большой роли речного стока в Белом море на долю аллохотонного органического вещества Белого моря приходится 70—80%. Содержание взвешенных и растворенных веществ в среднем около 7 мг/л (Berger, Naumov, 2000).

Особенностью Белого моря является одновременное сосуществование бореальных и арктических видов. В глубинной холодноводной части моря с верхним горизонтом до 30-40 м преобладают арктические формы. Поверхностные слои лучше прогреты, их населяет типичная бореальная фауна, многие из этих видов в Белом море представляют собой тепловодные реликты, оторванные от основного ареала. Также в Белом море проходит западная граница ареалов некоторых видов тихоокеанской фауны (Зенкевич, 1963).

Видовой состав типов литорали (на песчаном, илистом, каменистом субстрате) различается также, как и население горизонтов литорали одного типа. Число видов основных литоральных сообществ около 60, хотя общее количество видов расширяется до 144.

Основные доминанты илисто-песчаной литорали. На камнях прикреплены балянусы (*Semibalanus balanoides*), три вида фукуса: выше всех *F. vesiculosus*, ниже *F. inflatus*, *F. serratus* и *Ascophyllum nodosum*. На водорослях и под ними мидии (*Mytilus edulis*), литторины (*L. obtusata*, *L. saxatilis*, *L. littorea*), амфиподы (*Gammarus dubeni*), актинии (*Aulactinia stella*), гидроиды (*Laomedea flexuosa*, *Dynamena pumila*, *Clava multicornis*), иногда мшанки и прикрепленные полихеты. На заиленных участках с редкими зарослями фукусов формируются поселения пескожилов (*Arenicola marina*). В заиленном песке живет множество двустворчатых моллсков. Самые массовые *Macoma baltica*, *Mya arenaria*.

## 2.2 Полевой сбор материала

С 11 по 24 июля 2021 года на литоральных участках о. Оленевский отобраны 60 проб. Сбор организован на двух станциях в разных заливах с илисто-песчаной литоралью (рис. 3, рис. 4, рис. 5).

Для исследования градиентного распределения *Peringia ulvae* от верхних горизонтов литорали к нижним размечалась трансекта, перпендикулярно направленная через литораль к морю. Вдоль этой линии на примерно равном расстоянии были отобраны 5 проб с площади, ограниченной рамкой 15\*15 см (0,225 м<sup>2</sup>). Конкретное место пробы представляло типичный участок биотопа на данном горизонте. Нумерация проб начиналась от точки на верхнем горизонте литорали (точка 1) и последней была точка вблизи уреза воды (точка 5).

Для изучения локальной пространственной структуры рамку 25\*25 см (0,625 м<sup>2</sup>) внутри разделяли леской на квадраты 5\*5 см, и каждый из них являлся отдельной пробой. Для размещения станции был выбран внешне однородный ровный участок илисто-песчаной литорали без макрофитов и камней с максимальной плотностью *Peringia ulvae*, что определялось визуально.

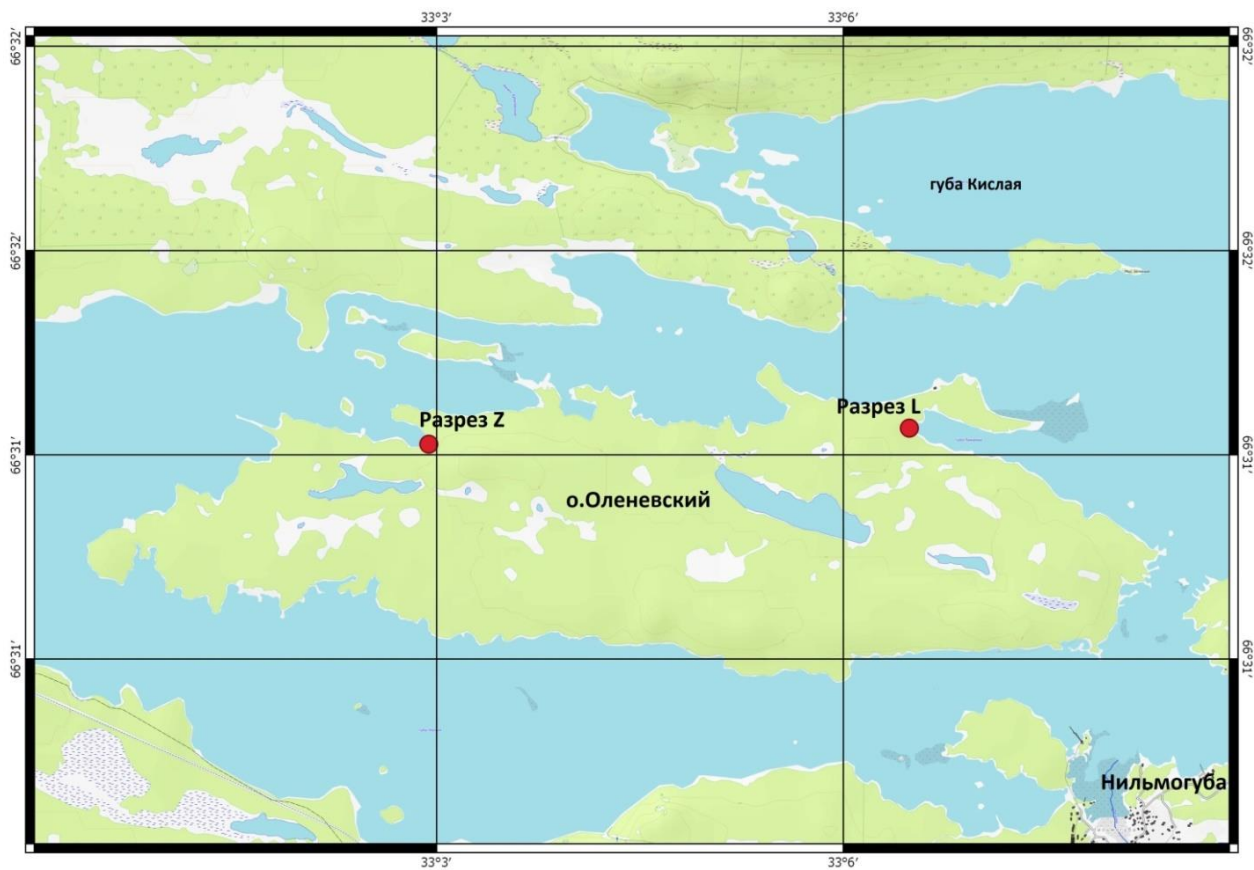


Рисунок 3 - Карта о. Оленевский с обозначенными трансектами, на которых отбирались пробы. GPS координаты точки 1: для трансекты L N 66°31,283' E033°06,540', для трансекты Z N 66°31,321' E 033°05,563'

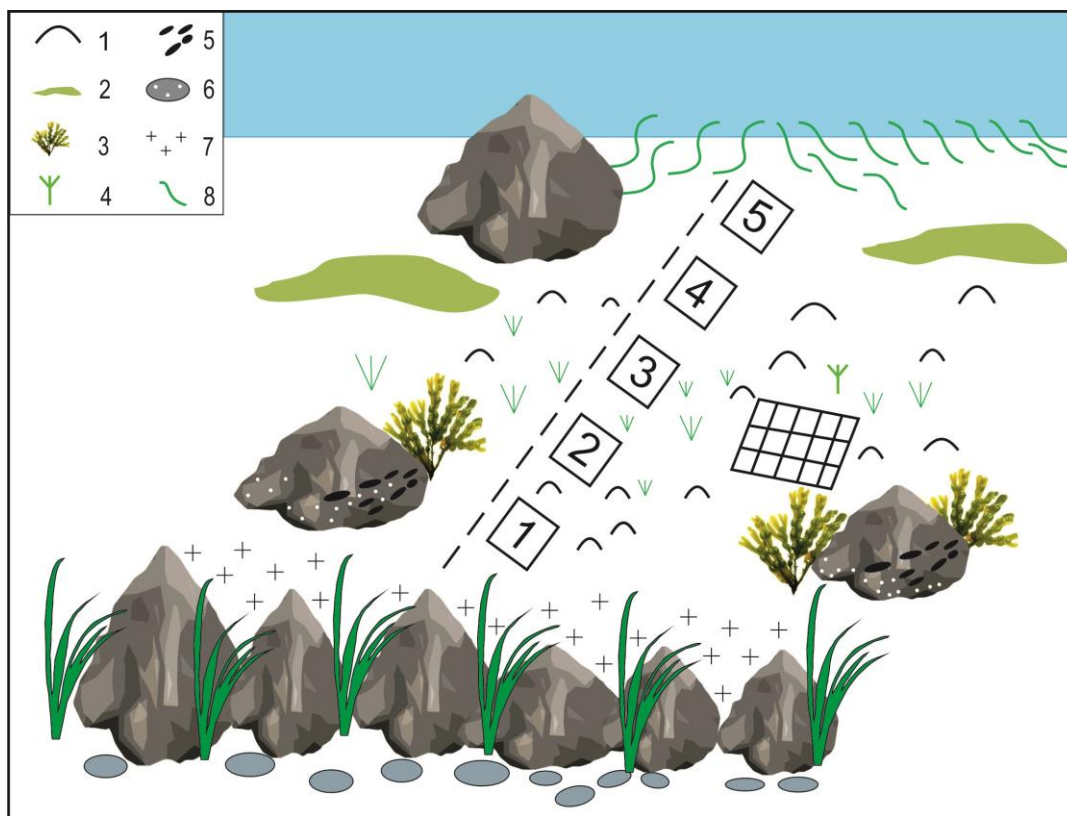


Рисунок 4 - Схема пробоотбора. 1- *Arenicola marina*, 2 – *Cladophora fracta*, 3 – *Fucus sp.*, 4 – *Ruppia maritima*, 5 - *Mytilus edulis*, 6 - *Semibalanus balanoides*, 7 – массовые береговые скопления мёртвого *Fucus sp.*, 8 – *Zostera marina*.



Рисунок 5 – Расположение точек отбора проб для исследования структуры популяции *Peringia ulvae* в градиенте от суши к морю на разрезе L.



Методика отбора была одинаковой для всех проб: лопаткой был снят поверхностный слой грунта на глубину примерно 2 см и переложен на сито из полиамидной сетки с размером ячеек 300 мкм. Промыв осуществлён аккуратными движениями в воде, чтобы не повредить раковины моллюсков, до того момента, пока не смывалась основная часть глинистой фракции. Затем материал помещался в ёмкости и фиксировался 96% этиловым спиртом.

Непосредственно на месте сбора проб проводилось измерение физико-химических параметров морской и интерстициальной воды. Определяли температуру, общую солёность, pH, содержание кислорода. Измерения показателей проводили с помощью: оптического рефрактометра Aqua-Pro, pH-метра/термометра HI 98128 pHep 5 (Hanna Instruments, США), оксиметра OHAUS Starter ST300D (Ohaus Corporation, США).

Для отбора интерстициальной воды в грунте делали ямку глубиной 10 см, затем скопившаяся в ней вода собиралась с помощью шприца объемом 100 мл с прикрепленной к нему трубкой. В лаборатории пробы фильтровали от взвеси, далее с помощью тест-наборов Salifert KH/Alk Profi-Test и Salifert Profi Test Calcium (Голландия) определяли содержание ионов кальция и карбонатную жёсткость.

Сделано визуальное описание биотопа для каждой точки отбора проб, которое включало характеристику грунта, рельефа, покрытие макрофитами, доминирующие виды. Измерена глубина сероводородной зоны, узнаваемая по черному цвету грунта. Описание сопровождалось фотографиями, также зарисовано общее расположение объектов вокруг рамки. В итоге получены единообразные данные по местам отбора проб.

### 2.3 Обработка проб

В лаборатории первичный материал разбирали при помощи стереомикроскопа МБС-10. Из грунта извлекались все моллюски.

Линейные измерения проводились на двух подвыборках из пробы № 3 с разреза L. Проба сливалась в чашку Петри с размеченным дном, подвыборка состояла из моллюсков попавших на квадрат из четырёх клеток. Одна подвыборка взята из центра, вторая с края чашки.

В чашке Петри со спиртом из стандартного положения с помощью окулярной линейки стереомикроскопа измерено 52 экземпляра.

### 2.4 Таксономическая идентификация

До недавних молекулярных исследований виды *Peringia ulvae* и *Ecrobia ventrosa* относили к одному роду *Hydrobia*, так как они трудно идентифицируемы по конхиологическим признакам. Для определения видовой принадлежности использовано описание пенисов *P. ulvae* и *E. ventrosa* из работы Горбушина (1992). На рисунке 6 приводится вскрытый самец, соответствующий по описанию виду *Peringia ulvae*. Поэтому мы считаем, что видовое определение моллюска было сделано корректно.

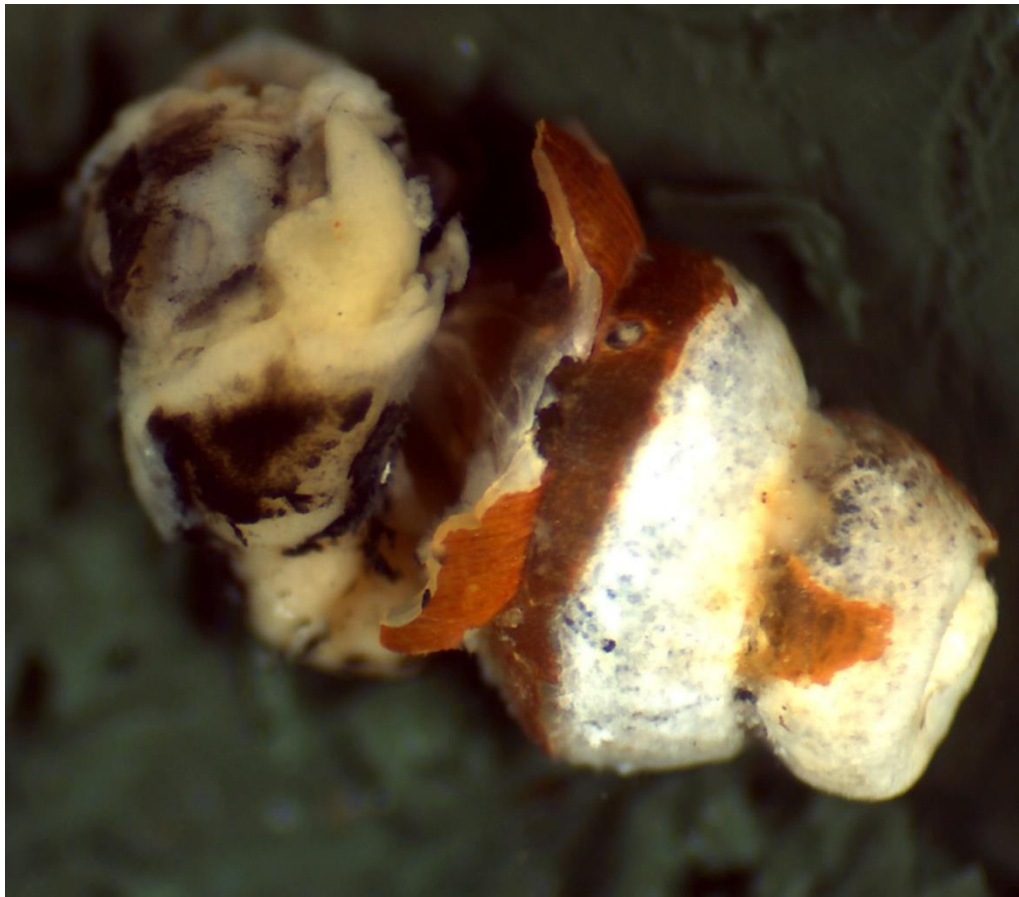


Рисунок 6 - Исследуемый моллюск, частично лишенный раковины. Виден пенис самца, идентифицирующий его как вид *Peringia ulvae*.

## 2.5 Определение размера моллюсков методом компьютерного зрения

Библиотека компьютерного зрения `phenopure` (Lürig, 2021) написана для языка программирования Python. Работа с ней осуществлялась с помощью программного обеспечения PyCharm. Была установлена библиотека `phenopure`.

У автора есть пример использования алгоритма для подсчёта и измерения моллюсков, поставленная им задача решена, однако предложенный код был не рабочим. Непонятно также насколько демонстрационная версия алгоритма применима для анализа реальных данных. Использована другая возможность работы алгоритма, более удобная для потоковой обработки. В библиотеке `phenopure` есть шаблонные файлы `yaml` с настройками. Взаимодействие с ними осуществляется с помощью встроенного интерпретатора. Настройки можно

свободно изменять на языке YAML, который интерпретатор переводит в код Python, то есть в модули и функции библиотеки rhenopure.

Уменьшение ошибок распознавания объектов на изображении было последовательно реализовано: в определении наилучших условий для получения изображения, выборе параметров обработки изображения и последующей коррекции данных с помощью статистического анализа.

Сделана серия фотографий с разным фоном (чашка Петри, чашка Петри с белой подложкой, тарелка) и параметрами съёмки (диафрагма, экспозиция) (рис. 7).



Рисунок 7 – Фотосъёмка в стандартных условиях.

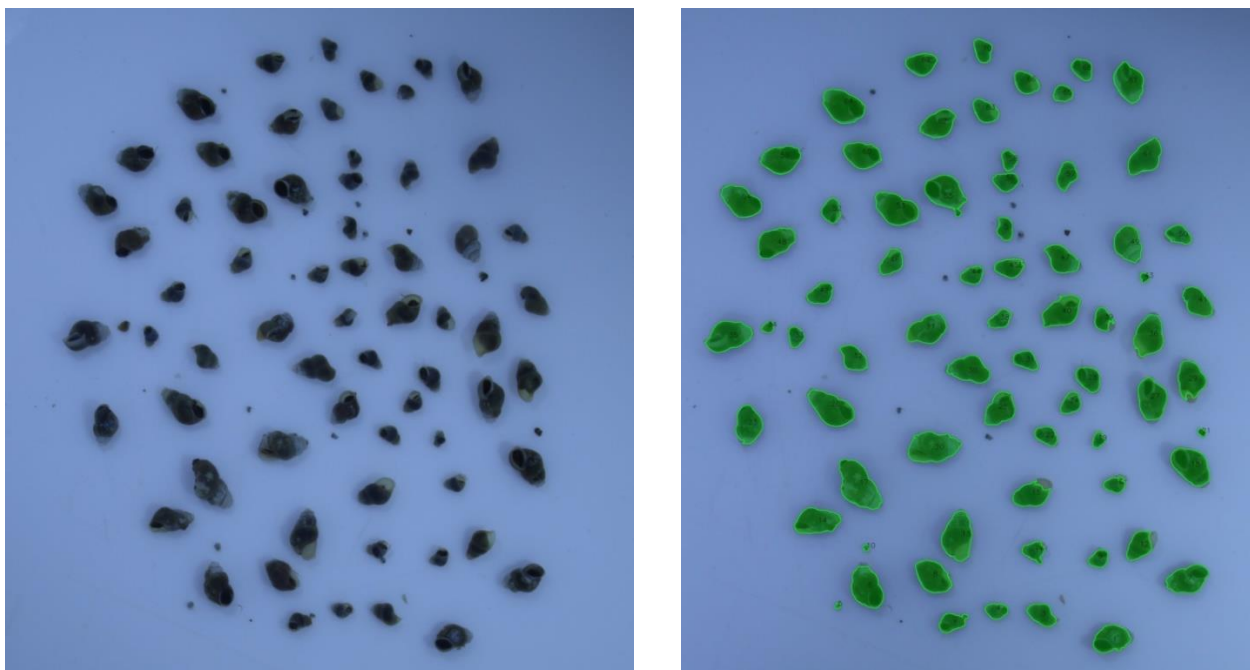


Рисунок 8 - Процесс определения индивидуальных линейных размеров моллюсков. Слева – графическое изображение; справа – результат анализа с использованием компьютерного зрения.

## 2.6 Статистическая обработка данных

Данные о размерах, полученные при помощи обработки изображений были проверены на наличие выбросов. Раковины моллюсков в отличие от распознанных на изображении артефактов имеют определенное соотношение площади и диаметра, поэтому мы воспользовались этим критерием для очистки значений от выбросов.

Распределение размерных групп моллюсков, полученное при помощи анализа изображений было сравнено с таковым, полученным при помощи непосредственных промеров. Для этого одна и та же выборка моллюсков была измерена обоими методами. Полученные данные были переведены в относительные, где за единицу был принят размер самого большого моллюска. Полученные данные были сравнены при помощи теста Стьюдента.

Для проверки гипотезы об увеличении размера моллюсков по направлению от моря к берегу был использован дисперсионный анализ с данными о размере моллюсков на всех станциях.

Для того чтобы выявить совокупное влияние факторов среды на примере небольшого количества проб мы уменьшили размерность данных при помощи анализа главных компонент. Затем влияние факторов на численность и средний размер было оценено в виде осей при помощи корреляционного анализа.

Другая гипотеза о размерных структурах, возникающих при высокой плотности *Peringia ulvae*, была проверена на данных о среднем размере с помощью дисперсионного анализа.

## Глава 3. Результаты

### 3.1 Применимость алгоритмов компьютерного зрения для анализа размерной структуры моллюсков

При работе с алгоритмом были опробованы разные варианты настройки фотокамеры.

Первым этапом была подготовка качественных изображений. Темные раковины *Peringia ulvae* хорошо отличаются от белого фона, вначале фотографии были сделаны на чашке Петри (моллюски находились в спирте) с белым листом-подложкой (рис. 9). Однако на изображении присутствовали тени, которые не удалось скорректировать с помощью освещения.

Алгоритм компьютерного зрения переводит изображение в чёрно-белое через сравнение яркости пикселя с пороговым значением, затем разделяет фон и объекты. Тени были источником помех при распознавании. На стеклянной белой тарелке со спиртом удалось практически полностью с помощью противонаправленного освещения избавиться от теней.



Рисунок 9 - Моллюски с разным фоном: слева - на чашке Петри с белым листом-подложкой; справа – на стеклянной белой тарелке.

При настройке параметров съёмки были найдены значения диафрагмы (32) и экспозиции (25), при которых получались наиболее контрастные снимки и освещение было равномерным (без затенения/высветления частей кадра) (рис. 10).

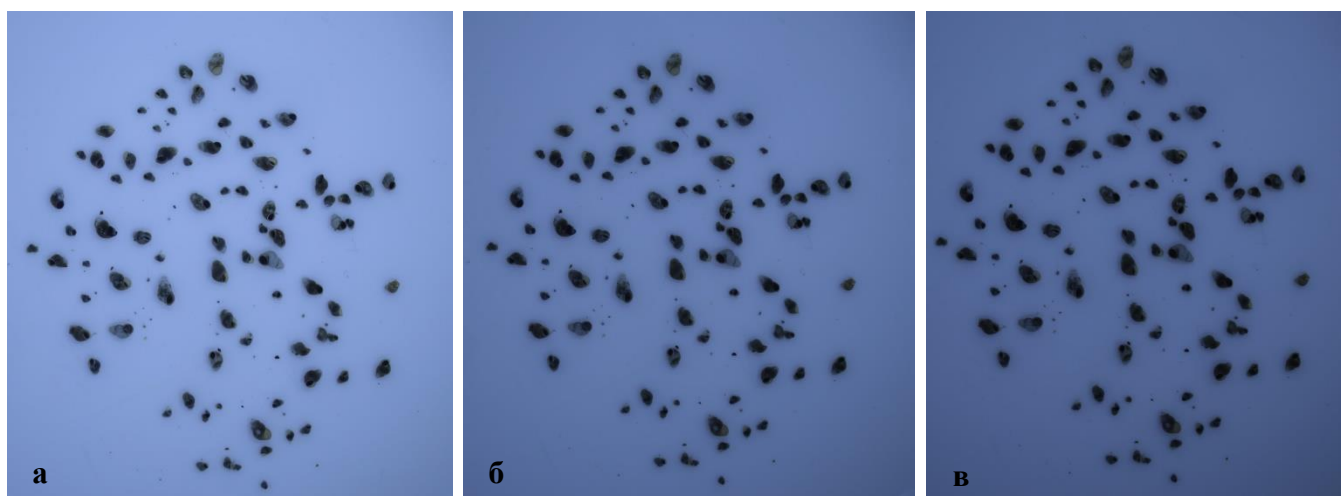


Рисунок 10 – Процесс подбора параметров съёмки (экспозиция/диафрагма): а – 25/25, б – 25/32, в – 30/32.

Выбор значений съёмки был основан на точности выделения контуров алгоритмом CV по фотографии (рис. 11). На рисунке представлено, как алгоритм справляется с выделением светлых участков объекта. При затемнении изображения лучше выделяется контур раковины, однако вместе с тем увеличивается ошибочное распознавание тени, которая также становится более тёмной.

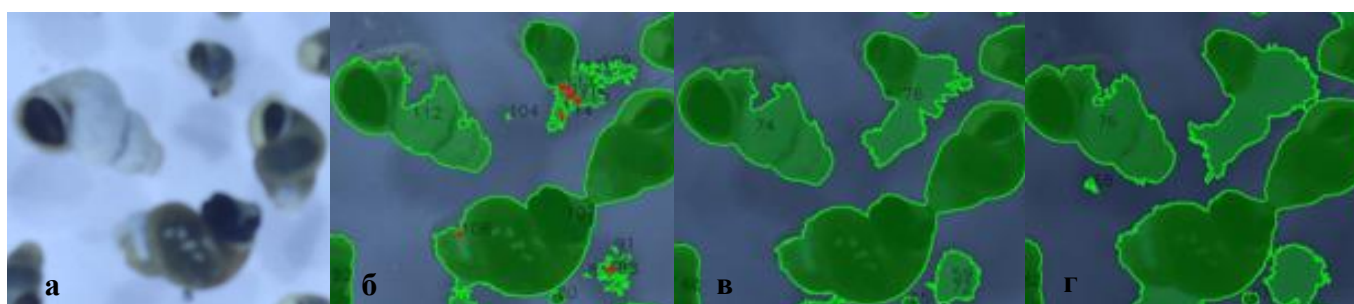


Рисунок 11 – Пограничные участки, на которых алгоритм совершает ошибки. Светлые части раковин могут быть не выделены, тёмные неверно распознаны как объект.

Такие ошибки распознавания как слияние объектов и фрагментация одного на несколько были скорректированы через задание значений функций в настройках алгоритма. По качеству результатов распознавания оптимальными



параметрами являются: метод – adaptive, blocksize - 69, constant - 2, channel – gray, min\_diametr – 10, min\_area – 60. Полностью избавиться от шума при обработке изображений не удалось, но данный этап необходим, поскольку существенно улучшает качество получаемых данных (рис. 12).

Результатами обработки фотографий алгоритмом CV был массив из 88 изображений и таблиц формата CSV. Данные были записаны в четыре столбца: имя файла исходного изображения, номер распознанного контура, площадь и диаметр (в пикселях).

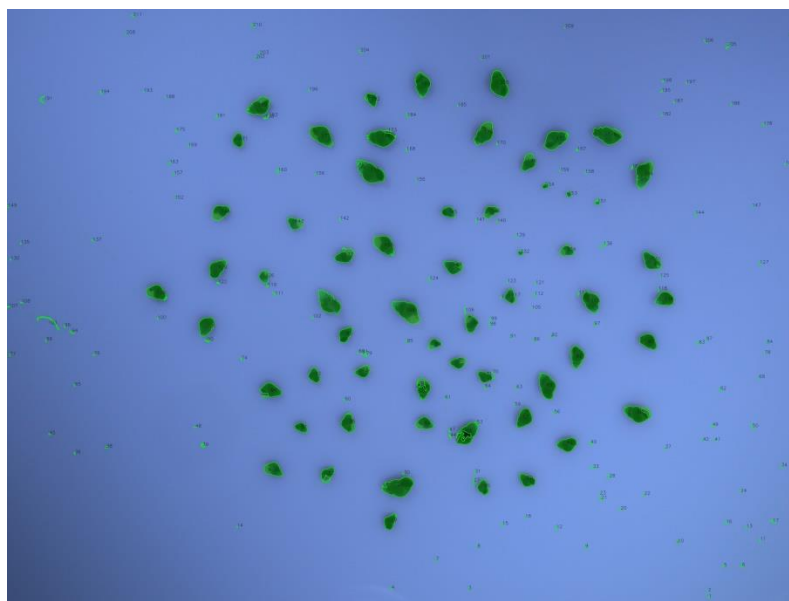


Рисунок 12 – Артефакты распознавания при оптимальных настройках камеры и программы.

В результате распознавания изображений были получены данные о размере 4104 моллюсков. Сравнение распределения размеров моллюсков, полученных при помощи анализа изображений и непосредственных промеров не выявило достоверных различий между сравниваемыми массивами данных ( $t = 0,21$   $p = 0,83$ ). Таким образом, мы считаем, что полученные данные достоверно описывают размерный состав моллюсков.

Очевидным преимуществом компьютерной обработки для получения данных о размере и численности моллюсков является возможность обработать большой объём материала (от сотен и тысяч экземпляров) за сравнительно короткое время.

К недостаткам стоит отнести более высокую погрешность относительно непосредственных измерений моллюсков. Также использование компьютерного зрения требует настройки и опробации параметров, что также занимает определенное время. Таким образом, использование предлагаемой методики оправдано только при больших объемах исследуемых выборок, когда важна экономия времени и погрешность может быть нивелирована большим объёмом данных.

### 3.2 Изменение размерной структуры моллюсков *Peringia ulvae* при удалении от берега

Для того чтобы выявить влияние факторов среды на распределение моллюсков (табл. 1 и табл. 2) был проведён анализ главных компонент. Наибольшую изменчивость взяла на себя PC1 (72% изменчивости). Нагрузки PC2, PC3 и PC4 составили 23, 2, 1% соответственно. В дальнейшем в анализе будут использованы только данные о PC1 И PC2, как наиболее информативные. Наибольшую положительную корреляцию ось PC1 имела с удалением от моря, солёностью и температурой. Ось PC2 коррелировала с солёностью, температурой, рН (табл. 3)

Таблица 1 - Абиотические факторы среды.

	Ед.из мерен ия	Трансекта L					Трансекта Z				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Удаление от моря	м	36,5	28,5	21,5	13,5	1,5	32,7	23,7	14,7	8,7	0,7
Температура	°С	24,6	22,9	23,5	22,3	21	16,4	17	16,6	16,3	0
Солёность	‰	27	26	27	24	22	19	22	25	25	0
рН		6,7	7,1	7,2	7,2	7,9	7,7	7,1	7,3	7,3	0
O <sub>2</sub>	мл	1,38	2,2	2,8	1,77	4,1	3,8	1,3	2,1	2,7	0
Ca	мл	0,22	0,29	0,25	0,16	0,37	0	0	0	0,35	0,28
Mg	мл	0,56	0,48	0,58	0,34	0,5	0,29	0,43	0,38	0,39	0,42
Глубина H <sub>2</sub> S	см	6	4	5	5,5	5	3	10	5	1	1
Грунт*		ПИ	ПИ	ИП	ПИ	ИП	ПИ	ПИ	ИП	ИП	ИП
Степень илистости	балл	5	4	5	5	8	2	2	4	7	2
Песок крупный		1	1	0	1	0	1	0	0	0	0
Песок мелкий		0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Камни большие и валуны		0,5	0,4	0,3	0,4	0,1	0,3	0,2	0,25	0,2	0
Камни мелкие и выступы		0,6	0,2	0,2	0,7	0	0,9	0,7	0	0	0

Таблица 2 - Численность организмов отмеченных на исследуемых участках.

		Трансекта L					Трансекта Z				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Fucus	Плёнкой Пятнами Покрытие	0	0,5	0,4	0,7	0,2	1	0,8	0,2	0,4	0
Ruppia maritima		0	0	0,4	0,5	0	0	0,8	0,3	0,2	0
Zostera marina		0	0	0	0	0	0	0,4	0,6	0,8	0,9
Cladophora fracta		0	1	1	1	1	0	1	0	1	0
		1	1	1	0	0	1	0	1	0	1
		0,4	0,6	0,7	0,8	0,9	0,3	0,8	0,4	0,5	0,1
Arenocila marina		0	0	0,5	0,6	0,7	0,6	0,8	0,3	0,2	0,1
Mytilus edulis		0	0,7	0,6	0,6	0,3	0,1	0,7	0,5	0,2	0
Littorina saxatilis		0	0,7	0,6	0,7	0,2	0,1	0,4	0	0,6	0,4
Littorina littorea		0	0	0,5	0,6	0,1	0	0,2	0	0,1	0

Таблица 3 - корреляции факторов и главных осей.

	PC 1	PC 2
Удаление от моря	0.79394	-0.58505
Температура	0.3979	0.47628
Солёность	0.43362	0.58505
pH	0.11211	0.1645
O <sub>2</sub>	0.023226	0.072992
Ca	-0.0033	0.007006
Жёсткость карбонатная	0.001482	0.002505
Глубина H <sub>2</sub> S	0.087568	0.043197
илисто-песчаный	-0.02388	0.023413
Песчано-илистый	0.023882	-0.02341
Степень илистости	-0.00423	0.21973
Песок крупный	0.021438	-0.01723
Песок мелкий	-0.01036	0.007242
Камни большие и валуны	0.008375	0.004874
Камни мелкие и выступы	0.014294	-0.01697
Fucus	0.00856	-0.00438
Ruppia maritima	0.00221	0.00697
Zostera marina	-0.0177	-0.00882
Cladophora fracta	0.00422	0.023016

Пленкой	0.00217	0.041451
Пятнами	0.00799	-0.03677
<i>Arenicola marina</i>	-0.0004	0.009957
<i>Mytilus edulis</i>	0.00558	0.013975
<i>Littorina saxatilis</i>	-0.0023	0.008365
<i>Littorina littorea</i>	0.00112	0.011639

Данные о численности моллюска *Peringia ulvae* приведены в табл. 4. Численность варьировала в диапазоне от 81 до 1492 особей. Средняя численность на разрезе L – 608, на разрезе Z -212 моллюсков.

Таблица 4 - Численность *Peringia ulvae* на разрезях L и Z.

Трансекта L					Трансекта Z				
1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
206	695	233	418	1492	376	226	261	81	116

На рисунке 13 показано изменение численности по направлению к морю. На разрезе L максимальное значение численности моллюска наблюдались на самой близкой к морю станции. Наоборот, на разрезе Z численность перингии была максимальной у берега.

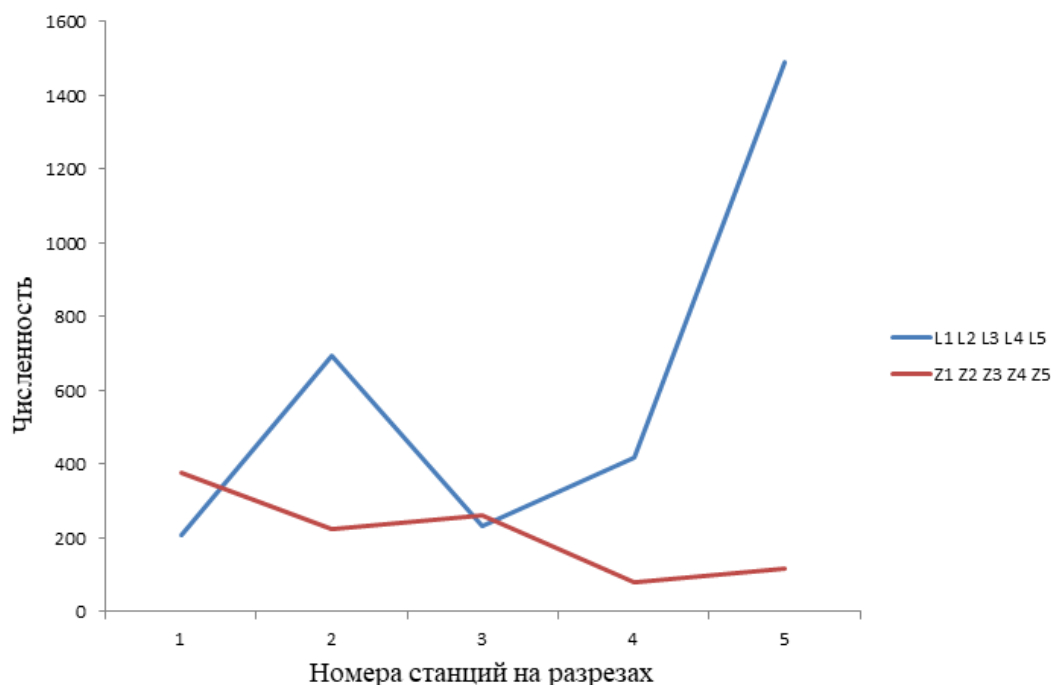


Рисунок 13 - Распределение численности *Peringia ulvae* на градиенте верхняя-нижняя литораль.

Корреляционный анализ численности моллюсков не выявил корреляции с главными осями (для PC1  $r = -0.07$   $p = 0.84$ , PC2  $r = 0.49$ ,  $p = 0.14$ ) оба разреза.

Данные о средних размерах моллюска *Peringia ulvae* приведены в табл.5. Средний размер варьировал в диапазоне от 1.7 до 2.9 мм. Средняя численность на разрезе L – 2.2, на разрезе Z – 2.5мм. На рисунке 14 средний размер на градиенте от суши к морю меняется незначительно.

Таблица 4 – Средний размер *Peringia ulvae* на разрезах L и Z.

Разрез L					Разрез Z				
1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
2.2	2.4	2	2.1	2.3	2.7	2.6	2.7	2.9	1.7

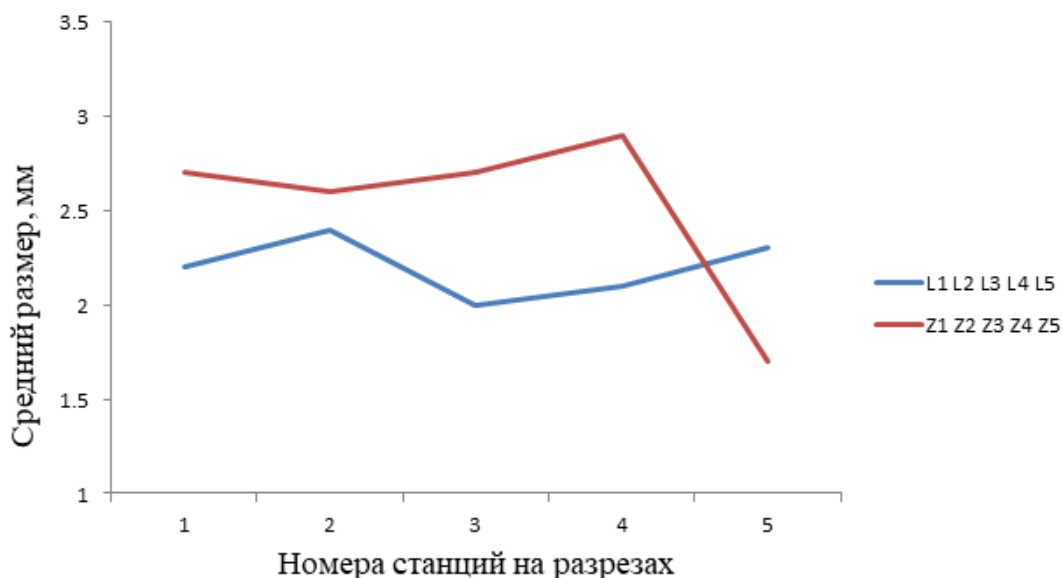


Рисунок 14 – Распределение средних размеров на градиенте верхняя-нижняя литораль.

Дисперсионный анализ данных о размере *Peringia ulvae* на разрезе L выявил достоверные различия ( $F = 17.8$ ,  $p < 0.0001$ ). Результаты теста Тьюки приведены в табл. 5. Достоверные различия выявлены между станциями L2 и L3 от остальных станций.

Таблица 5 – Сравнение станций разреза L тестом Тьюки

	L1	L2	L3	L4	L5
L1		0,03654	0,003139	0,485	0,9762

L2	4,018		0	4,663E-08	0,0007674
L3	5,072	10,62		0,08889	4,206E-07
L4	2,29	8,299	3,548		0,009041
L5	0,8387	5,583	7,77	4,649	

Условия обитания на нижнем горизонте литорали более близки к морским, поэтому можно было бы предположить, что в наиболее близких к морю станциях будет наибольшая плотность моллюсков, что однако не было подтверждено нашими исследованиями. Тем не менее, нами была выявлена неоднородность плотности поселения моллюсков.

### 3.3 Изучение пространственных структур *Peringia ulvae* на микромасштабе

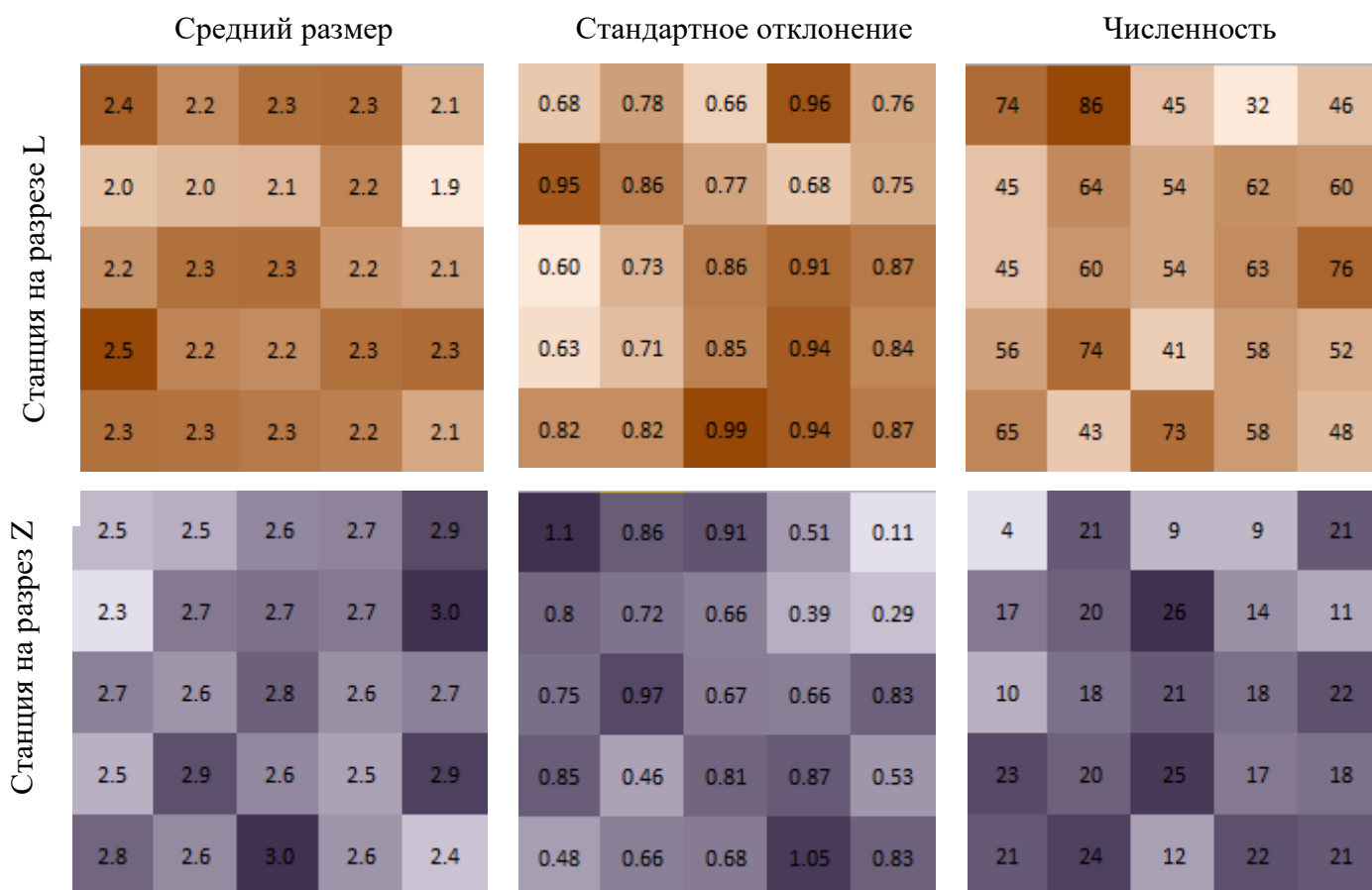


Рисунок 15 – Распределение среднего и стандартного отклонения размера, численности в микромасштабе.

Данные о численности, среднем значении и стандартном отклонении размера приведены на рисунке 15. В целом распределение этих характеристик неоднородно, не обнаруживает какой-либо закономерности.

Дисперсионный анализ данных о размере моллюсков не выявил достоверные различия участков.

В работе (Колобов, Бурковский, 2002) было показано, что имеется определенная закономерность в распределении ближайших размерных групп. В частности, на соседних участках преобладают близкие, но не те же самые размерные когорты моллюсков. В нашем исследовании этого выявлено не было, что может быть связано с тем, что эта структура не повторяется на других участках литорали. С другой стороны, нами были использованы другие методы анализа и не были выделены размерные группы, как это было сделано в цитируемой работе. В дальнейшем мы проверим это предположение с использованием результатов нашего исследования с методикой, применённой в предшествующих работах.



## Выводы

1. Апробирована методика получения данных о размере и численности моллюсков при помощи алгоритмов компьютерного зрения. Использование методики позволяет обрабатывать большие объемы данных за сравнительно короткое время.

2. Численность и размер моллюсков достоверно различались на разных участках литорали. При этом не было выявлено чёткого градиента изменения обоих параметров по направлению от суши к морю.

3. Достоверных различий в размерной структуре моллюсков *Peringia ulvae* на микромасштабе выявлено не было. Также не было выявлено закономерностей в количественном распределении.

## Литературные источники

Голиков А.Н., Кусакин О.Г. Раковинные брюхоногие моллюски литорали морей СССР. [Определители по фауне. 116]. Л.: Наука, 1978. 292 с.

Горбушин А. М. О видах состава моллюсков рода Гидробия (*Gastropoda*, *Prosobranchia*) в Белом море // Зоологический журнал. 1993. Т. 71. №. 9. С. 47-56.

Горбушин А.М. Структура линий зимней остановки роста и их формирование на раковине *Hydrobia ulvae* (*Gastropoda*: *Prosobranchia*) на Белом море. // Зоологический журнал. 1993. Т. 72. № 11. С. 29-34.

Згуровский К.Ф., Темных О.С., Мясников В.Г. Морфологическая дифференциация промысловых гребешков рода *Chlamys* (*Pectinidae*) в северо-западной Пацифике // Зоологический журнал. 1992. Т. 71. № 9. С. 22-32.

Зенкевич Л. А. Биология морей СССР. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 739 с.

Колобов М.Ю., Бурковский И.В. Зимнее состояние сообщества как фаза годового цикла в развитии беспозвоночных на литорали Белого моря // Успехи совр. биол. Т. 122. Вып. 3. 2002. С.222-226.

Кузин А.Ю., Марютин В.Н., Календин В.В. Методы и средства измерений линейных размеров в нанометровом диапазоне. 32 ГНИИИ МО РФ.

Матвеева Т. А. Экология и жизненные циклы массовых видов брюхоногих моллюсков Баренцева и Белого морей //Сезонные явления в жизни Белого и Баренцева морей. Исследования фауны морей. Л.: Наука, 1974. Т. 13 (21). С. 65-190.

Старунова З.И., Михайлова Н.А., Гранович А.И. Анализ межпопуляционных и внутривидовых различий формы раковины у представителей видового комплекса «*SAXATILIS*» (*MOLLUSCA*: *CAENOGASTROPODA*) методами графической морфометрии // Вестник СПбГУ. Серия 3. Биология. №4. 2010. С.23-34.

Старунова З.И., Михайлова Н.А., Гранович А.И. Использование методов геометрической морфометрии для анализа форм биологических объектов // Современные проблемы эволюционной морфологии. Материалы школы для молодых специалистов и студентов к 105-летию со дня рождения академика А. В. Иванова. Изд-во: Зоологический институт РАН. 2011. С.134-136.

Столяров А.П. Зональный характер распределения макробентоса эстуария реки Чёрной (Кандалакшский залив, Белое море) // Зоол.ж. Т. 73. Вып. 4. 1994. С. 65-71.

Чесунов А.В., Н.М. Калякина, Е.Н. Бубнова (ред.) Каталог биоты Беломорской биологической станции МГУ. Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2008. 384с.

Цихон-Луканина Е. А. Трофология водных моллюсков. М.: МГУ, 1987. 221 с.

Barnes R.S.K. Breeding, recruitment and survival in a mixed intertidal population of the mudsnails *Hydrobia ulvae* and *H.neglecta*. // *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 1996. 76. P. 1003-1012.

Berger V.Ya., Naumov A.D. General features of the White Sea. Morphology, sediments, hydrology, oxygen conditions, nutrients and organic matter // *Berichte zur Polarforschung*; 2000. № 359. P. 3-9.

Lürig M. D. Phenotype: A phenotyping pipeline for Python. *Methods in Ecology and Evolution*. 2021. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.13771>

Newell R. C. Behavioral aspects of the ecology of *Perinquia* (=Hydrobia) *Ulvae* (Pennant) (Gastropoda, Prosobranchia) // *Proceedings of the Zoological Society of London*. 1962. V. 138. Issue 1. P.49-75. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1962.tb05687.x>

Peter J. Hayward, John S. Ryland. *Handbook of the Marine Fauna of North-West Europe Concise ed.* 1995. P.812.

Steffen Kiel. Assessing bivalve phylogeny using Deep Learning and Computer Vision approaches/ bioRxiv preprint; this version posted April 9, 2021. The copyright holder for this preprint (which was not certified by peer review) is the author/funder, who has granted bioRxiv a license to display the preprint in perpetuity. It is made available under aCC-BY 4 International license. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.04.08.438943>

Vinarski M. V., Bolotov I. N., Schniebsd K., Nekhaev I. O., Hundsdoerfer A. K. Endemics or strangers? The integrative re-appraisal of taxonomy and phylogeny of the Greenland Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda) // *Comptes Rendus Biologies*. 2017. V. 340. Issues 11–12. P. 541-557.

US National Oceanographic Data Center (2012). NODC Standard Product: International ocean atlas Volume 7 - 36 year time series (1963-1998) of zooplankton, temperature and salinity in the White Sea (NCEI Accession 0099242). [indicate subset used]. NOAA National Centers for Environmental Information. Unpublished Dataset. <https://www.ncei.noaa.gov/archive/accession/0099242>. Accessed [date:20.05.2022]

<https://www.ncei.noaa.gov/metadata/geoportal/rest/metadata/item/gov.noaa.nodc%3A0099242/html>