

УДК 575:597.553.2

## МЕТОДИКА КОМПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА ИЗМЕНЧИВОСТИ СТРОЕНИЯ СЛОИСТЫХ СТРУКТУР ЧЕШУИ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ НА ПРИМЕРЕ КЕТЫ КАМЧАТКИ

Р. А. Шапоров, Н. В. Варнавская, В. А. Савин, В. Г. Степанов (ТИГ ДВО РАН), А. Г. Бажин



Разработана новая методика компьютерного исследования цифрового изображения чешуи тихоокеанских лососей как единого анализируемого объекта, с помощью которой производятся автоматический поиск и измерение параметров формы и размера слоистых элементов чешуи. Предложен способ стандартизированного считывания известных линейных параметров структуры чешуи на примере кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum), использование которых раньше было сопряжено со значительной трудоемкостью и субъективизмом. Созданы новые площадные параметры. Комплексное использование дифференцирующих параметров позволило показать достоверную дифференциацию всего массива выборок на региональные популяционные комплексы Восточной и Западной Камчатки, в пределах которых выделяются достоверно отличающиеся друг от друга северо-западные и юго-западные группы популяций. Достоверная дифференциация популяций показана без деления выборок по полу, возрастным группам или годам сбора, что указывает на универсальный характер найденных параметров и их незначительную зависимость от конкретных экологических условий, при которых происходит рост рыб в каждом году.

*R. A. Shaporev, N. V. Varnavskaya, V. A. Savin, V. G. Stepanov (Pacific Institute of Geography), A. G. Bazhin.* Method of complex analysis of variability of Pacific Salmon stratified scale structures in the example of chum salmon // Research of water biological resources of Kamchatka and of the northwest part of Pacific Ocean: Selected Papers. Vol. 9. Petropavlovsk-Kamchatski: KamchatNIRO. 2007. P. 131–142.

A new method of computer analysis of the digital images of Pacific Salmon scales as a whole object analyzing has been worked out to provide auto search and measurement of shape and dimension parameters of scale stratified elements. A standard way (algorithym) to read well known linear parameters of scale structure, which use before was difficult due to subjectivity and great laboriousness, has been suggested in the example of chum salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum). New square parameters have been provided. Using these differentiating parameters in a complex allows demonstration a reliable differentiation of the whole massif of samples into regional population complexes of East and West Kamchatka, where the northwestern and the southwestern population groups reliably different from each other can be identified. The authentic differentiation of the populations has been demonstrated without breaking the samples into sexes, age groups or years of sampling, what indicates of the universal character of the parameters suggested and their poor dependence on certain ecological conditions of fish growth every year.

Развитие лососевого хозяйства и рациональная организация промысла требуют решения задач, связанных с идентификацией нативных популяций в смешанных уловах. При решении подобных задач одним из первых в историческом аспекте является метод анализа строения слоистых элементов чешуи (Johnstone, 1905), которые характеризуются неоднородностью структуры, связанной с особенностями роста рыб в изменяющихся условиях окружающей среды. На этом представлении основан метод определения по структуре чешуи возраста рыб, так как сезонные изменения условий роста отражаются на структуре чешуи в виде зон широких и узких склеритов, соответствующих «летнему» и «зимнему» годовым кольцам (Dahl, 1910; Fraser, 1916; Fry, 1943; Чугунова, 1939, 1955; Бирман, 1960; Бивен, 1961; Anas, 1964). Аналогичным образом на структуре чешуи существуют различия по количеству и ширине склеритов, связанные с различиями условий среды обитания в разных водоемах (Крогиус, 1958; Anas, Murai, 1969;

Major et al., 1972; Mosher, 1972; Myers et al., 1984; Knudsen, 1985) и даже в разных районах одного и того же водоема (Deason, Hill, 1947; Henry, 1961; Mosher, 1963). Сезонные изменения темпа роста, связанные не только с экзогенными биологическими ритмами, но и с эндогенными физиологическими факторами, образуют на чешуе своего рода «визитную карточку» отдельных популяций лососей.

Исследования по дифференциации популяций лососей и идентификации их в смешанных уловах на основе различий в структуре чешуи развиваются со второй половины XX века до настоящего времени. В качестве примеров можно привести дифференциацию американских стад нерки *Oncorhynchus nerka* от р. Вуд до р. Колумбия (Mosher, 1972), популяций нерки в бассейне Бристольского залива (Cook, Lord, 1978; Cross, Stratton, 1991), залива Кука (Bethe, Krasnowsky, 1977) и других стад Аляски (McGregor et al., 1987), канадских стад нерки в бассейнах рек Британской Колумбии (Wood et al., 1987, 1988; Wood, Oliver, 1987); стад чавычи

*O. tschawytscha* Аляски (Rowland, 1969), бас. реки Юкон (McBride, Marshall, 1983; Merritt et al., 1988), бас. р. Колумбия (Bohn, Jensen, 1971; Myers, 1985, 1986; Schwartzberg, Fryer, 1993); кеты *O. keta* российских и японских стад (Nitta, Ueno, 1998); кижуча *O. kisutch* (Kato, Ishida, 1985); горбуши *O. gorbuscha* (Amos et al., 1963; Pearson, 1964; Takagi et al., 1981) популяций Северной Пацифики. В России была осуществлена дифференциация по структуре чешуи камчатских стад нерки (Крогиус, 1958; Коновалов, 1971; Селифонов, 1988; Бугаев, 1995; Bugaev, 2004b; Бугаев, 2005), кеты (Николаева, Семенец, 1983; Каев, 1998; Волобуев и др., 2005; Кловач, Заварина, 2002; Запорожец, Запорожец, 2000; Zavarina et al., 2004), кижуча (Зорбиди, 1978; Антонов, Зорбиди, 2001; Зорбиди, Антонов, 2002; Антонов и др., 2005), горбуши (Темных и др., 1997; Антонов, Балугева, 2000; Антонов и др., 2005), чавычи (Bugaev, 2004a, 2005).

Перечисленные исследования изменчивости популяций лососей по структуре чешуи, в основном, опирались на визуальный подсчет числа склеритов и измерение расстояний вдоль произвольно проведенных радиусов от центра чешуи, определенного также произвольно, до конца различных зон (зона пресноводного роста, первая морская зона, зона суженных склеритов и т. д.). Измерялась также ширина расстояний между краями склеритов в различных комбинациях (отдельные пары, прямые и обратные триплеты, группы из пяти склеритов и т. д.). Измерения производились сначала под микроскопом с помощью окуляр-микрометра, а позднее — с использованием проекционных изображений, на которых сначала вручную, а потом с помощью компьютерных программ, работающих по принципу того же окуляр-микрометра, измерялись параметры чешуи, которые, учитывая специфику их получения, часто называют линейными. Именно по такому принципу работает наиболее распространенный в настоящее время аппарат “Viosonics”, на котором исследователи измеряют несколько произвольно выбранных радиусов чешуи и получают набор из нескольких линейных параметров. При этом методе анализа одним из наиболее неблагоприятных факторов, влияющих на конечный результат, является субъективизм выполнения измерений. Учитывая, что чешуя лососей имеет не круглую, а овальную и, часто, неправильную форму, произвольное проведение радиуса значительно влияет на абсолютные значения признака. При этом зона прикрепления чешуи (зона вращения), на которую ориентируются исследовате-

ли при проведении радиусов, часто имеет неровную размытую форму. Увеличение числа радиусов, которое могло бы способствовать получению более надежных результатов, прямо пропорционально увеличивает трудоемкость анализа, и соответственно, его длительность, что не всегда по силам отдельным исследователям. Кроме того, показано, что линейные параметры строения чешуи подвержены сильному влиянию экологических факторов и значительно изменяются от года к году, так что в каждом году реперную базу данных, которая должна включать основные промысловые популяции из всех регионов воспроизводства, способных оказаться в смешанной выборке, необходимо готовить заново (Николаева, Семенец, 1983).

В связи с этим, результаты дифференциации популяций по структуре чешуи обеспечили более или менее достоверное выделение только крупных региональных групп популяций (Бивен, 1961; Куликова, 1970, 1975; Кловач, Заварина, 2002; Бугаев, 2005; и др.). При кластерном или многофакторном анализе группы популяций, образованные по сходству структуры чешуи, часто не совпадали с географическими региональными группировками, что снижало достоверность оценок. Так, детальный анализ чешуйных параметров первого года роста охотоморской кеты показал, что достоверно идентифицировать ее происхождение можно только в 26% случаев (Каев, 1998). Вероятность верного определения происхождения горбуши локальных стад Камчатки составила около 30% (Антонов и др., 2005). Несколько лучше удается дифференцировать популяции кижуча: разрешающая способность баз данных, включающих параметры структуры чешуи популяций кижуча Камчатки и северного охотоморского побережья, составила, в среднем, 69% в 1995 и 64% в 1997 гг. (Антонов и др., 2005).

Попытки автоматизировать процесс измерения параметров структуры чешуи и снизить влияние субъективного фактора предпринимались неоднократно (Major et al., 1972; Mason, 1973; Терсков и др., 1976; Ваганов, 1978). Они сводились к получению склеритограмм, построенных на основе измерения светопроницаемости чешуи — снятия фотометрических характеристик скульптуры верхнего слоя чешуи. Склеритограммы, имеющие вид кривых, пики на которых соответствуют областям наибольшего затемнения чешуи, также отражают параметры вдоль произвольно проведенных радиусов. Полученные параметры затем анализировались с помощью различных математических методов и были полезны при исследовании характе-

ра роста рыб, но не имели большого применения в целях дифференциации популяций и идентификации их в смешанных уловах. Недавно выполнено исследование (Robertson et al., 2004), использующее сканированное изображение чешуи нерки для получения фотометрических склеритограмм по шести радиусам с последующим анализом параметров, полученных на основе преобразования Фурье, с помощью вероятностных нейронных сетей (Probabilistic Neural Networks). В этом исследовании, как и в предыдущих, анализу подвергались произвольно проведенные радиусы, а вся чешуя не рассматривалась как единый анализируемый объект.

Между тем именно подход, при котором чешуя рассматривается как единый объект, может стать конструктивным при поиске новых эффективных параметров выявления изменчивости структуры чешуи. Исследование чешуи как единого анализируемого объекта и поиск автоматического алгоритма выбора и вычисления параметров позволили бы исключить субъективизм при получении результатов и унифицировать методику. Наблюдаемый в последнее десятилетие всплеск в развитии теории обработки и распознавания изображений, а также значительный подъем вычислительных мощностей, делают возможным применение этого подхода к объектам биологической природы, в частности, к анализу строения регистрирующих структур рыб.

Цель нашей работы заключалась в разработке автоматизированной эффективной компьютерной методики исследования структуры чешуи как единого анализируемого объекта и получении новых параметров, дифференцирующих локальные стада лососей. Под эффективностью понимается понижение трудоемкости процесса, исключение, по возможности, субъективизма при снятии параметров и максимально полное извлечение информации из объекта исследования.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом послужили выборки мигрирующих на нерест рыб из локальных популяций кеты западного и восточного побережий Камчатки, отобранные в 1997 и 2004 гг. Выборки, взятые с интервалом в 7 лет, были использованы, чтобы оценить уровень межгодовой изменчивости рассматриваемых параметров. Всего исследовано 15 популяций, общий объем проб чешуи составил 2877 образцов от 1564 производителей (рис. 1, табл. 1). У каждой особи исследовали, как правило, по две

чешуи. Для анализа использовали акриловые оттиски чешуи. Изображения чешуи просматривали и сканировали при помощи микроскопа LEICA DMLS, цифровой видеокамеры LEICA DC 100 и программы для просмотра и сканирования изображения LEICA DC 100.

При выполнении данной работы использованы методы машинной графики, вычислительной геометрии, обработки и распознавания изображений, теории статистической обработки данных (Крамер, 1975). Реализацию и отладку программных модулей производили в среде разработки программного обеспечения Borland Delphi 5.0.

Оценку достоверности различий осуществляли с использованием стандартных статистических методов (Глотов и др., 1982). Кластерный анализ сходства выборок по наборам морфологических параметров структуры чешуи выполняли используя расстояние Махаланобиса (Афифи, Эйзен, 1982). Расчеты выполнены в программе Statistica 6.0.

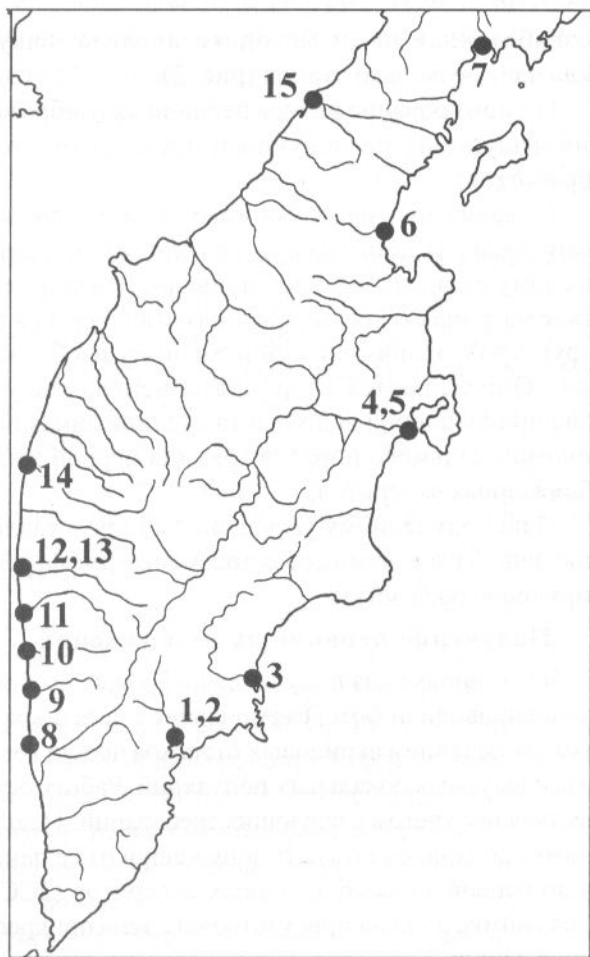


Рис. 1. Локализация выборок производителей кеты из популяций Западной и Восточной Камчатки. Номера выборок соответствуют таковым в таблице 1

Таблица 1. Локализация, год сбора и объем выборок производителей кеты из популяций Камчатки

Регион	Локальность, река	№ выборки	Год	Количество		
				особей	чешуйных пластин	
Восточная Камчатка	Авача	1	1997	100	197	
		2	2004	100	173	
	Жупанова Камчатка	3	2004	100	134	
		4	1997	150	292	
		5	2004	150	268	
	Хайлюля	6	2004	100	195	
		Кичига	7	2004	100	199
			8	2004	100	179
		Кихчик	9	2004	100	210
Западная Камчатка	Коль	10	2004	99	182	
	Воровская Крутогорова	11	2004	100	176	
		12	1997	100	173	
	Ича Палана	13	2004	100	200	
		14	1997	100	174	
15	1997	65	125			
Всего				1564	2877	

Примечание. Номера выборок соответствуют таковым на рис. 1

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработанная нами методика анализа чешуи включает несколько этапов (рис. 2):

1) формирование набора первичных изображений чешуи с их последующей предварительной обработкой;

2) анализ полученных снимков разработанным нами пакетом программ, в результате которого каждому из снимков чешуи приводится в соответствие матрица скелетизированного изображения со структурой, эквивалентной исходному изображению. Определяются координаты центра чешуи, зона прикрепления чешуи, а также описанная полиномом седьмого порядка граница первой зоны сближенных склеритов;

3) по полученному упрощенному представлению чешуи рассчитываются требуемые дифференцирующие параметры.

### Получение первичных изображений

На установке для получения цифровых изображений проводили фотографирование с десятикратным увеличением акриловых оттисков чешуи кеты из исследуемых локальных популяций. Работу осуществляли с учетом следующих требований: 1) поле снимка должно охватывать зону чешуи от ее центра до первой зоны сближенных склеритов (ЗСС), 2) на снимке должна присутствовать зона прикрепления чешуи.

После формирования первичных изображений выполняли их предварительную обработку, заключающуюся в следующих последовательных дей-



Рис. 2. Структурная схема методики автоматизированного получения дифференцирующих параметров

ствиях: 1) перевод снимков из цветного в полутоновое изображение, 2) увеличение контрастности. Все вышеперечисленные операции выполнены в программе Adobe PhotoShop 6.0 в автоматическом пакетном режиме.

### Получение полилиний единичной толщины

С исходным полутоновым изображением чешуи выполняли следующие операции:

1) с помощью градиентного метода поиска границ объекта с адаптивно изменяемыми параметрами строили линии максимального градиента, где каждый структурный элемент изображения представлялся в виде набора его контурных линий, со значениями градиента в каждой точке;

2) по набору контурных линий произведена процедура волновой скелетизации площадных объектов.

В итоге выполнения данных действий был получен набор полилиний единичной толщины, где каждая полилиния представляет собой упрощенное представление каждого структурного элемента полутонового изображения.

### Определение фокуса чешуи

На основании точек пересечения перпендикуляров к касательным в каждой точке каждой полилинии единичной толщины, учитывая расстояния от точки пересечения до точек полилиний, строили дискретную двумерную функцию вероятностного распределения возможных фокусов чешуи. После сплайн-аппроксимации этой функции определяли ее максимум. Найденное значение максимума и есть искомый фокус, или центр чешуи.

### Определение референтных линий или зоны прикрепления

Зона прикрепления чешуи определена в виде треугольника, ограниченного с одной стороны границами рисунка, с другой — двумя лучами или двумя референтными линиями «FL» и «FR», исходящими из центра чешуи (рис. 3). Процедура поиска зоны прикрепления носила интерактивный характер и выполнялась по двум параметрам: углу поворота треугольника по полю исходного рисунка и углу между сторонами треугольника, исходящими из центра чешуи (в дальнейшем параметр *Sigma*). Целевая функция представляла собой специальным образом подобранное соотношение величин, отображающих количество точек в пределах зоны прикрепления и вне ее, направление полилиний в этих точках и площадь зоны прикрепления.

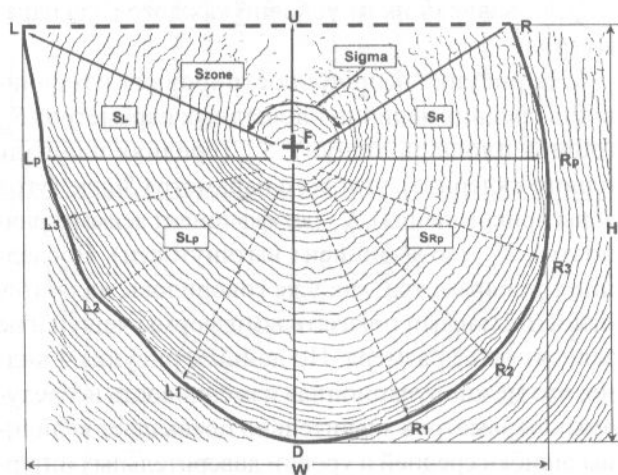


Рис. 3. Изображение чешуи кеты до первой зоны сближенных склеритов (ЗСС) и схема получения линейных, площадных и углового параметров. F — фокус (центр) чешуи; FR, FL — прямые, ограничивающие зону прикрепления чешуи; UD — прямая, перпендикулярная прямым LR и LpRp; FL1, FL2, FL3 — прямые, разбивающие угол DFLp на равные части; FR1, FR2, FR3 — прямые, разбивающие угол DFRp на равные части;  $S_{Rp}$ ,  $S_{Lp}$  — площади фигур FDRp, FDLp соответственно;  $S_R$ ,  $S_L$  — площади фигур FRRp, FLLp соответственно;  $S_{zone}$  — площадь фигуры FLR или площадь зоны прикрепления; *Sigma* — угол зоны прикрепления; *H* — общая высота; *W* — общая ширина

### Определение зоны информационных склеритов

По полученному в предыдущих этапах скелетизированному представлению исходного изображения чешуи, на основе определенных фокуса и зоны прикрепления чешуи, рассчитывали матрицу межсклеритных расстояний по всему полю рисунка за исключением зоны прикрепления. После дифференцирования этой матрицы, представляющей собой двумерную дискретную функцию значений межсклеритных расстояний, был получен набор точек, отражающих совокупность возможных траекторий максимального градиента, среди которых имеется траектория, задающая границу первой зоны ЗСС.

Траекторию границы первой ЗСС задавали в виде полиномиального уравнения седьмого порядка, выраженного в полярных координатах, аппроксимирующего точки максимального градиента, и искали с учетом следующих требований: 1) минимальная ошибка аппроксимации; 2) максимальное число аппроксимируемых точек; 3) максимально возможная площадь фигуры, ограниченная этим полиномом, границами рисунка и прямыми зоны прикрепления.

$$Ro = a_7 \varphi^7 + a_6 \varphi^6 + K + a_1 \varphi + a_0,$$

где *Ro* — расстояние от точки до центра чешуи;  $\varphi$  — полярный угол.

### Получение дифференцирующих параметров

Все операции по формированию морфологических признаков строения чешуи и вычислению их параметров выполнялись автоматически. В качестве дифференцирующих параметров были использованы следующие (рис. 3):

**линейные параметры:**  $D_{LU}$ ,  $D_{UR}$ ,  $D_{LR}$ ,  $D_{LpRp}$  — длина отрезков «LU», «UR», «LR», «LpRp» соответственно;  $D_{FD}$ ,  $D_{FU}$ ,  $D_{UD}$  — длина отрезков «FD», «FU», «UD» соответственно;  $Ro_L$ ,  $Ro_R$ ,  $Ro_{Lp}$ ,  $Ro_{Rp}$  — длина лучей «FL», «FR», «FLp», «FRp» соответственно;  $Ro_{L1}$ ,  $Ro_{L2}$ ,  $Ro_{L3}$  — длина лучей «FL1», «FL2», «FL3» соответственно;  $Ro_{R1}$ ,  $Ro_{R2}$ ,  $Ro_{R3}$  — длина лучей «FR1», «FR2», «FR3» соответственно; *H* — общая высота зоны чешуи до первых сближенных склеритов; *W* — общая ширина зоны чешуи до первых сближенных склеритов;  $N_{10}$  — среднее число склеритов по десяти лучам;

**площадные параметры:**  $S_{Rp}$ ,  $S_{Lp}$  — площади фигур «FDRp» и «FDLp» соответственно;  $S_R$ ,  $S_L$  — площади фигур «FRRp» и «FLLp» соответственно;  $S_{zone}$  — площадь фигуры «FLR» или площадь зоны прикрепления;  $S_{all}$  — общая площадь зоны первого года роста до первых сближенных склеритов

чешуи, без учета площади зоны прикрепления  $S_{zone}$ , и вычисляемая как:  $S_{all} = S_{Rp} + S_{Lp} + S_R + S_L$ ;  $S_{scl}$  — средняя площадь одного склерита, определяемая как  $S_{scl} = S_{all} / N_{10}$ ;

угловой параметр:  $Sigma$  — угол зоны прикрепления;  $K_{prl}$  — коэффициент вытянутости чешуи, вычисляемый как  $K_{prl} = D_{LpRp} / D_{FD}$ ;  $K_{as}$  — коэффициент «скошенности» или асимметричности чешуи, и вычисляемый как  $K_{as} = Abs(S_{Rp} - S_{Lp}) / S_{all}$ .

В предыдущих исследованиях структуры чешуи камчатских популяций лососей (Антонов, Баллуева, 2000; Запорожец, Запорожец, 2000; Зорбиди, Антонов, 2002; Антонов и др., 2005) использовали часть предложенных выше линейных параметров. Площадные и угловой параметры, методика вычисления которых разработана нами, являются новыми параметрами, учитывающими особенности строения чешуи как единого целого. Они могут иметь ряд преимуществ при решении поставленных задач.

В частности, площадные параметры  $S_L$ ,  $S_R$ ,  $S_{Lp}$ ,  $S_{Rp}$ ,  $S_{all}$ ,  $S_{zone}$ ,  $S_{scl}$  более адекватно соответствуют объекту исследований и статистически более логичны, поскольку интегрально отображают размер и форму чешуи. Угловой параметр  $Sigma$ , параметр вытянутости  $K_{prl}$  и параметр скошенности  $K_{as}$  предпочтительны по причине независимости от размеров чешуи и являются показателями некоторых особенностей формы чешуи. Величины интегральных параметров могут не зависеть от экологических условий каждого года, а их анализ позволит выявить устойчивую во времени эпигенетическую межпопуляционную дифференциацию, что выведет возможности применения метода на качественно иной уровень.

Поскольку вся чешуя при визуальном осмотре обнаруживает ярко выраженную «скошенность» (или асимметричность относительно линии «UD») как в левую, так и в правую стороны, и исходя из предположения, что образцы чешуи могли быть взяты с разных боков особи, был введен параметр, отвечающий за направление асимметричности чешуи и рассчитываемый как:  $As = S_{Rp} - S_{Lp}$ .

Отмечая тот факт, что знак параметра  $As$  должен быть одинаков для образцов чешуи, взятых с одной стороны особи (исходя из симметричности левосторонних и правосторонних фенотипических признаков живых организмов), полученные левосторонние и правосторонние параметры сортировались в зависимости от знака параметра  $As$ .

Среднее число склеритов  $N_{10}$  рассчитывали как усредненное значение по числу склеритов от десяти лучей, проведенных из центра чешуи и раз-

бивающих фигуру «LpRpD» на равные угловые части.

При необходимости, количество линейных параметров  $Ro_{L1}$ ,  $Ro_{L2}$ ,  $Ro_{L3}$  и  $Ro_{R1}$ ,  $Ro_{R2}$ ,  $Ro_{R3}$ , а также число лучей, по которым рассчитывался параметр  $N_{10}$ , может быть любым.

Так как с каждой особи сканировали и анализировали по два образца чешуи, полученные пары параметров были усреднены, и средние значения использованы в дальнейшем статистическом анализе.

Для всех полученных наборов параметров, характеризующих величины выбранных признаков чешуи кеты нативных популяций Камчатки, строили вариационные ряды, оценка которых с помощью теста Колмогорова–Смирнова показала их соответствие нормальному распределению.

### Оценка разрешающей способности дифференцирующих параметров

Анализ межпопуляционной изменчивости линейных параметров структуры чешуи кеты будет представлен в нашей последующей публикации, а в настоящей работе приводится исследование площадных и углового параметров, методика получения которых предложена нами впервые. Все выборки были рандомизированными и анализировались без разделения по полу и возрасту рыб, так как нашей главной задачей был поиск универсальных, не зависящих от условий каждого года параметров.

На рисунке 4 проиллюстрирована изменчивость средних величин площадных параметров  $S_{all}$  (общая площадь чешуи),  $S_{scl}$  (средняя площадь одного склерита), углового параметра  $Sigma$  (угол зоны прикрепления),  $K_{as}$  (коэффициент асимметричности),  $K_{prl}$  (коэффициент вытянутости). Последние три параметра, как уже говорилось, являются относительными показателями формы чешуи и не зависят от ее размера. По данным рисунка 4 видно, что межпопуляционная изменчивость исследуемых параметров значительно превышает величины ошибки средней и уровни доверительных интервалов. Это говорит о наличии достоверной гетерогенности по представленным параметрам популяций кеты Камчатки.

Для оценки характера межпопуляционной изменчивости и степени дифференцирующей способности полученных нами параметров структуры чешуи, выполняли кластерный анализ расстояний Махаланобиса, вычисленных с разными наборами параметров (рис. 5, 6). Использование только одного коэффициента асимметрии ( $K_{as}$ , рис. 5а) уже позволяет разделить весь набор выборок на два хо-

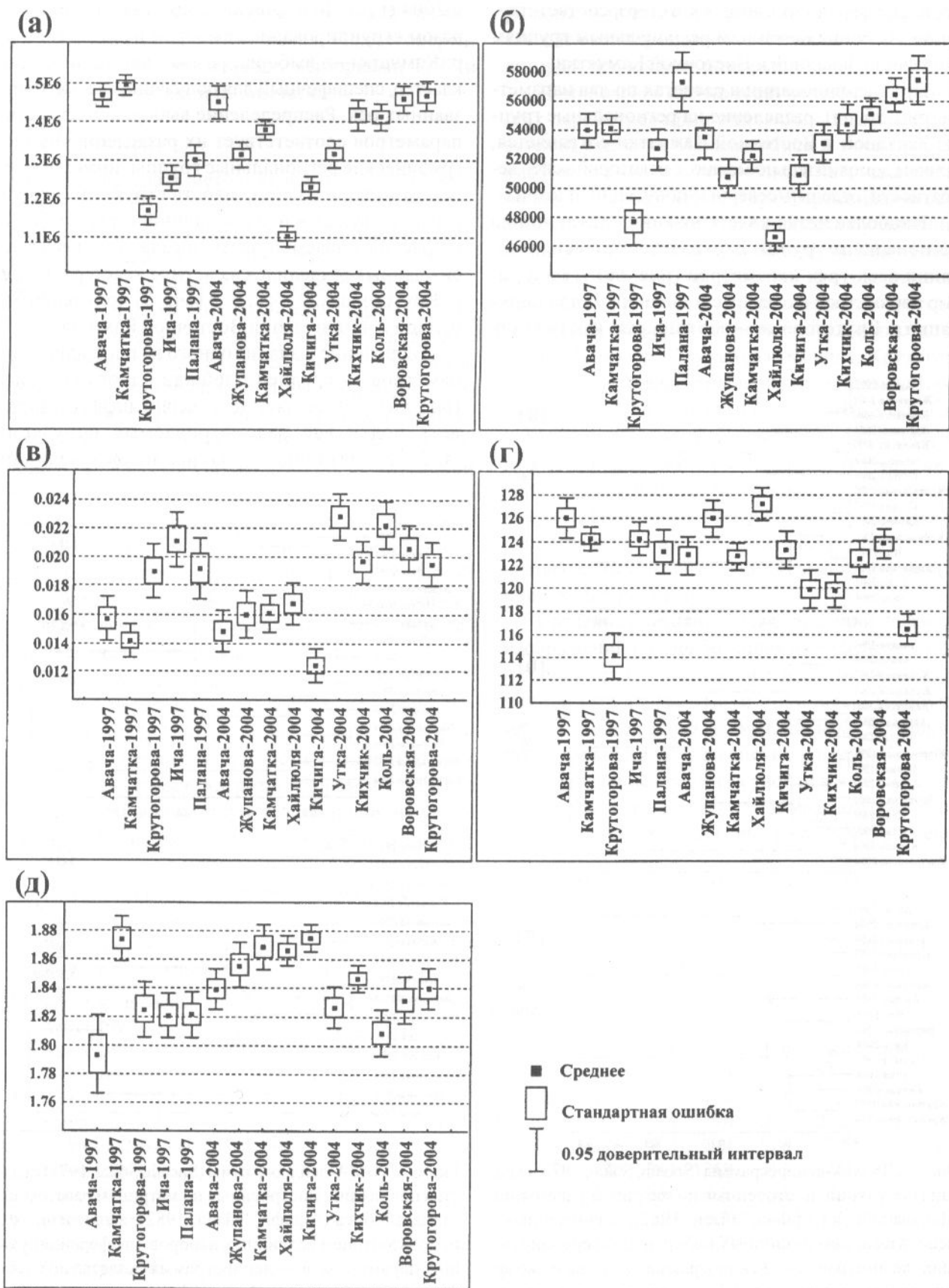


Рис. 4. Средние величины, их статистические ошибки и границы 95% доверительного интервала дифференцирующих параметров структуры чешуи кеты в популяциях Камчатки. а — общая площадь зоны первого года роста до первых сближенных склеритов ( $S_{a1}$ ), б — средняя площадь одного склерита ( $S_{sc1}$ ), в — коэффициент асимметрии ( $K_{as}$ ), г — угол зоны прикрепления ( $Sigma$ ), д — коэффициент «вытянутости» чешуи ( $K_{pr1}$ )

рошо дифференцированных кластера, соответствующих их принадлежности региональным группам популяций Западной и Восточной Камчатки.

При использовании в расчетах по два параметра (рис. 5б, 5в), разделение на региональные группы Западной и Восточной Камчатки сохраняется, причем дополнительно можно, с некоторой долей вероятности, отделить северные популяции от южных.

Наиболее четко кластеризация популяций на региональные группы проявляется при использовании всех трех параметров (рис. 6а). Такой набор параметров оказался специфичным для популяции р. Крутогорова — обе выборки, как 1997 так

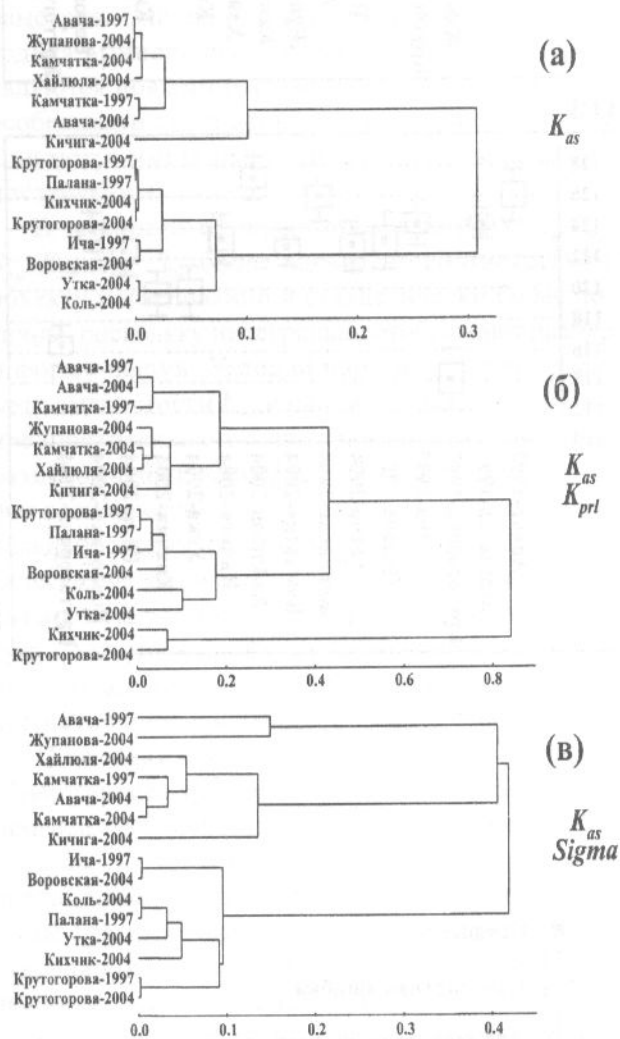


Рис. 5. UPGMA-дендрограммы (Sneath, Sokal, 1973) сходства популяций, построенные по матрицам расстояний Махаланобиса (Афифи, Эйзен, 1982), вычисленных с использованием различных наборов дифференцирующих параметров. а — дендрограмма сходства по коэффициенту асимметрии  $K_{as}$ ; б — дендрограмма сходства по коэффициенту асимметрии  $K_{as}$  и коэффициенту «вытянутости» чешуи  $K_{pri}$ ; в — дендрограмма сходства по коэффициенту асимметрии  $K_{as}$  и углу зоны прикрепления  $Sigma$

и 2004 гг., легли в один кластер. Аналогичным образом сгруппировались выборки из р. Авача и из р. Камчатка — выборки разных лет легли в один кластер, специфичный для популяции каждой из названных рек. Распределение выборок по сходству параметров соответствует их разделению на географические региональные группы, иначе говоря, прослеживается изменчивость структуры чешуи, соответствующая популяционной структуре вида на рассматриваемой части ареала. Так, весь массив данных разделился на четыре кластера: 1) бас. р. Крутогорова, 2) бас. р. Авача, 3) популяции Западной и 4) популяции Восточной Камчатки.

Включение в анализ одного из площадных параметров — средней площади одного склерита (рис. 6б) — позволяет достоверно дифференцировать почти все рассматриваемые популяции (табл. 2). Различия оказались недостоверными

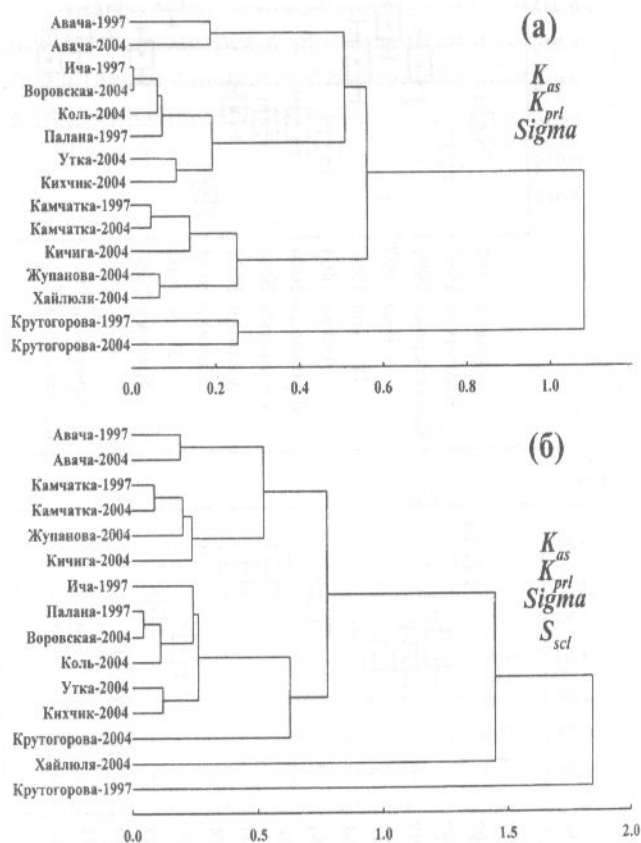


Рис. 6. UPGMA-дендрограммы (Sneath, Sokal, 1973) сходства популяций, построенные по матрицам расстояний Махаланобиса (Афифи, Эйзен, 1982), вычисленных с использованием различных наборов дифференцирующих параметров. а — дендрограмма сходства по коэффициенту асимметрии  $K_{as}$ , коэффициенту «вытянутости» чешуи  $K_{pri}$  и углу зоны прикрепления  $Sigma$ ; б — дендрограмма сходства по коэффициенту асимметрии  $K_{as}$ , коэффициенту «вытянутости» чешуи  $K_{pri}$ , углу зоны прикрепления  $Sigma$  и средней площади одного склерита  $S_{scl}$

только для пары популяций северо-запада Камчатки — р. Палана и р. Воровская. Недостоверны также были различия между выборками 1997 и 2004 гг. из популяции р. Камчатка.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана новая методика компьютерного анализа цифрового изображения чешуи лососей, основанного на создании упрощенной топологической структуры всей чешуйной пластинки или ее части как единого анализируемого объекта. В результате анализа производится автоматический (полностью без участия человека) поиск и измерение параметров формы и размера слоистых элементов чешуи. Предложен способ упрощенного стандартизированного считывания известных линейных параметров структуры чешуи, использование которых раньше было сопряжено со значительной трудоемкостью и субъективизмом при ручном выборе линий измерения, точки фокуса и линии прикрепления чешуи. При автоматизированном выборе этих параметров с помощью созданной нами компьютерной программы число линейных параметров может быть увеличено в несколько раз без увеличения трудоемкости процесса.

Такой подход к анализу структуры чешуи позволил найти ряд новых площадных и углового параметров, главные из которых — тотальная площадь зоны первого года роста в море, средняя площадь одного межсклеритного промежутка, угол зоны прикрепления чешуи, коэффициент асимметрии, коэффициент скошенности — являются интег-

ральными показателями формы и незначительно зависят от конкретных экологических условий, при которых происходит рост рыб.

Комплексное использование дифференцирующих параметров при вычислении попарных показателей сходства Махаланобиса и последующем кластерном анализе полученных матриц, позволило показать достоверную дифференциацию всего массива выборок на региональные популяционные комплексы Восточной и Западной Камчатки, в пределах которых выделяются достоверно отличающиеся друг от друга кластеры, соответствующие выборкам разных лет из локальных стад рек Авача, Камчатка, Жупанова, Кичига, Крутогорова, Хайлюля, северо-западной (реки Палана, Воровская, Коль, Ича), юго-западной (реки Утка, Кихчик) групп популяций. Достоверная дифференциация популяций показана без деления выборок по полу, возрастным группам или годам сбора, что указывает на универсальный характер исследованных параметров и их незначительную зависимость от конкретных экологических условий, при которых происходит рост рыб.

Созданная методика стандартизации цифровых изображений и разработанная на ее основе компьютерная программа выбора и считывания параметров структуры чешуи полностью (горбуша) или частично (нерка, кижуч, чавыча) применима к другим видам тихоокеанских лососей. Поскольку определение границ первой зоны сближенных склеритов — единственная задача, которая решалась с учетом видовой специфики строения чешуи

Таблица 2. Оценка достоверности расстояний Махаланобиса, вычисленных по четырем параметрам формы ( $K_{as}$  — коэффициент асимметрии,  $K_{prl}$  — коэффициент «вытянутости» чешуи,  $Sigma$  — угол зоны прикрепления,  $S_{scl}$  — средняя площадь одного склерита), с использованием критерия Фишера. Графическое изображение матрицы расстояний представлено в виде дендрограммы на рис. 6б

№	Локальность	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	Авача, 1997	3,7	11,3	18,0	18,7	34,3	14,0	18,1	15,5	11,6	11,6	33,1	26,8	11,4	8,3
2	Авача, 2004		7,7	7,7	7,6	29,1	5,1	13,1	7,4	11,8	10,8	24,0	16,3	10,8	7,2
3	Жупанова, 2004			5,2	3,3	5,8	5,1	15,4	13,2	15,7	13,3	36,0	33,6	6,5	13,3
4	Камчатка, 1997				2,8*	26,7	6,3	23,1	13,2	22,8	15,4	54,1	31,2	15,5	11,9
5	Камчатка, 2004					18,8	5,3	15,0	8,7	18,8	15,0	39,5	28,2	10,6	12,9
6	Хайлюля, 2004						18,8	36,7	38,6	41,3	39,4	57,6	77,1	20,8	37,5
7	Кичига, 2004							25,3	17,0	28,1	24,9	31,3	34,3	19,3	19,4
8	Утка, 2004								2,7*	2,9*	6,2	25,1	12,5	4,5	6,6
9	Кихчик, 2004									5,3	5,7	26,0	6,7	7,3	4,4
10	Коль, 2004										(1,7)	36,0	14,5	3,3*	2,4*
11	Воровская, 2004											45,5	14,9	4,2	(0,7)
12	Крутогорова, 1997												30,8	36,9	35,7
13	Крутогорова, 2004													25,0	8,4
14	Ича, 1997														6,2
15	Палана, 1997														

Примечание. В скобках недостоверные значения, \* — достоверны,  $P < 0,05$ , остальные — достоверны,  $P < 0,01$

кеты, дополнительные разработки в этой области позволят аналогичным образом получать дифференцирующие параметры формы и структуры чешуи других видов лососей.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят сотрудников лаборатории динамики численности КамчатНИРО Е.А. Шевлякова, Л.О. Заварину за предоставленные для анализа образцы чешуи кеты, а также сотрудников лаборатории популяционной биологии и генетики КамчатНИРО О.А. Пильганчук, Д.Ю. Макагонова, Е.Н. Збоеву, Р.А. Збоева за участие в работах по сканированию чешуи и подготовке цифровых изображений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антонов Н.П., Зорбиди Ж.Х., Балыева Е.С. 2005. Сравнительный анализ внутривидового разнообразия горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) и кижуча *O. kisutch* (Walb.) северо-западной части Тихого океана / Популяц. биол., генетика и систематика гидробионтов. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. С. 169–167.
- Антонов Н.П., Балыева Е.В. 2000. Идентификация горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) из смешанных морских уловов по структуре чешуи. Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана // Сб. науч. тр. КамчатНИИ рыб. хоз-ва и океанографии. Вып. 5. С. 51–55.
- Антонов Н.П., Зорбиди Ж.Х. 2001. Популяционная структура и пути миграции кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walb.) в преднерестовый период по результатам анализа склеритограмм чешуи // Тез. междунар. науч.-практич. конф. «Прибрежное рыболовство — XXI век» (Южно-Сахалинск, 19–21 сентября 2001 г.). Южно-Сахалинск: Сахалин. обл. кн. изд-во. С. 4–5.
- Афифи А., Эйзен С. 1982. Статистический анализ: Подход с использованием ЭВМ. М.: Мир, 488 с.
- Бивен Д.А. 1961. Различия в характере чешуи кеты *Oncorhynchus keta* (Walb.) Дальнего Востока и Аляски // Вопросы ихтиологии. Т. 1, вып. 1. С. 20–38.
- Бирман И.Б. 1960. О сроках формирования годовых колец на чешуе тихоокеанских лососей и темпе роста горбуши // Докл. АН СССР. Т. 132, вып. 5. С. 1187–1191.
- Бугаев А.В. 2005. Идентификация локальных стад нерки *Oncorhynchus nerka* в дрейфтерных уловах в 200–2002 гг. // Вопросы ихтиологии. Т. 45, № 1. С. 41–54.
- Бугаев В.Ф. 1995. Азиатская нерка (пресноводный период жизни, структура локальных стад, динамика численности). М.: Колос, 464 с.
- Ваганов Е.А. 1978. Склеритограммы как метод анализа сезонного роста рыб. Новосибирск: Наука, 138 с.
- Волобуев В.В., Бачевская Л.Т., Волобуев М.В., Марченко С.Л. 2005. Популяционная структура кеты континентального побережья Охотского моря // Вопр. ихтиологии. Т. 45, № 4. С. 489–501.
- Глотов Н.В., Животовский Л.А., Хованов Н.В., Хромов-Борисов Н.Н. 1982. Биометрия. Л.: ЛГУ, 263 с.
- Запорожец О.М., Запорожец Г.В. 2000. Дифференциация естественных и искусственно воспроизводимых популяций кеты (*Oncorhynchus keta*) по особенностям структуры чешуи. Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана // Сб. науч. тр. КамчатНИИ рыб. хоз-ва и океанографии. Вып. 5. С. 139–146.
- Зорбиди Ж.Х. 1978. Определение локальных стад кижуча в море по структуре чешуи // Изв. Тихоокеан. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии. Т. 102. С. 76–83.
- Зорбиди Ж.Х., Антонов Н.П. 2002. О возможности использования структуры чешуи кижуча *Oncorhynchus kisutch* Walbaum (*Salmonidae*) для идентификации его стад. Исследования водных биол. ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана // Сб. науч. тр. КамчатНИИ рыб. хоз-ва и океанографии. Вып. 6. С. 209–219.
- Каев А.М. Идентификация происхождения и история жизни охотоморской кеты *Oncorhynchus keta* по чешуе // Вопр. ихтиологии. 1998. Т. 38. № 5. С. 650–658.
- Кловач Н.В., Заварина Л.О. 2002. Экспресс-метод дифференциации стад кеты в океане // Вопр. рыболовства. Т. 3, № 3 (11). С. 534–543.
- Коновалов С.М. 1971. Дифференциация локальных стад нерки. Л.: Наука, 220 с.
- Крамер Г. 1975. Математические методы статистики. М.: Мир. 648 с.
- Крогиус Ф.В. 1958. О строении чешуи камчатской красной разных локальных стад // Биология морского периода жизни дальневосточных лососей. М.: ВНИРО. С. 52–63.

- Куликова Н.И. 1970. Структура чешуи и характер роста кеты различных стад // Изв. Тихоокеан. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии. Вып. 74. С. 81–93.
- Куликова Н.И. 1975. Определение локальных стад кеты в море по структуре чешуи и некоторым морфологическим признакам // Тр. Всес. НИИ мор. рыб. хоз-ва и океанографии. Вып. 106. С. 49–51.
- Николаева Е.Т., Семенец Н.И. 1983. К методике дифференциации стад кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) (Salmonidae) по структуре чешуи первого года роста // Вопр. ихтиологии. Т. 23, вып. 5. С. 735–745.
- Селифонон М.М. 1988. О вылове в море неполовозрелой озерновской нерки *Oncorhynchus nerka* (Walb.) // Вопр. ихтиологии. Т. 5, вып. 5. С. 943–948.
- Темных О.С., Малинина М.Е., Подлесных А.В. 1997. Дифференциация анадромных миграционных потоков горбуши четных поколений в Охотском море в 90-е годы // Изв. Тихоокеан. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии. Т. 122. С. 131–151.
- Терсков И.А., Ваганов Е.А., Спиридов В.В. 1976. Микрофотометрический анализ чешуи некоторых пресноводных рыб // Изв. Сиб. отд. АН СССР. № 10. Сер. биол. наук. Вып. 2. С. 95–102.
- Чугунова Н.И. 1939. К методике изучения возраста воблы по чешуе (на основании исследования чешуи меченых рыб) // Тр. Всес. НИИ мор. рыб. хоз-ва и океанографии. Т. 11. С. 75–98.
- Чугунова Н.И. 1955. О восстановлении истории индивидуальной жизни рыб по ее чешуе // Зоол. журн. Т. 34, вып. 5. С. 1099–1118.
- Amos M.H., Anas R.E., Pearson R.E. 1963. Use of a discriminant function in the morphological separation of Asian and North American races of pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) // Int. North Pac. Fish Comm. Bull. № 11. P. 73–100.
- Anas R.E. 1964. Sockeye salmon scale studies // Int. North Pac. Fish. Comm., Annu. Rep. P. 158–162.
- Anas R.E., Murai S. 1969. Use of scale characters and a discriminant function for classifying sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) by continent of origin // Int. North Pac. Fish. Comm. Bull. Vol. 26. P. 157–192.
- Bethe M.L., Krasnovsky P.V. 1977. Stock separation studies of Cook Inlet sockeye salmon based on scale pattern analysis // Alaska Department of Fish and Game, Informational Leaflet 180, Juneau, AK.
- Bohn B.R., Jensen H.E. 1971. Investigation of scale patterns as a means of identifying races of spring chinook salmon in the Columbia River // Res. Rep. Fish. Comm. Oregon. № 3. P. 28–36.
- Bugaev A.V. 2004a. Scale pattern analysis estimates of age and stock composition of chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* in R/V TINRO trawl catches in the western Bering Sea in September–October 2002 // NPAFC Doc. № 764. 15 p.
- Bugaev A.V. 2005. Scale pattern analysis estimates of age and stock composition of chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* in R/V TINRO trawl catches in the western Bering Sea and Northwestern Pacific Ocean in summer-autumn 2003 // NPAFC Doc. № 872. 24 p.
- Bugaev V.F. 2004b. Results of identification of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) secondary local stocks and secondary groups of local stocks in the coastal and river catches of Kamchatka River for 1978–2001 // NPAFC Tech. Rep. № 5. P. 114–116.
- Cook R.C., Lord G.E. 1978. Identification of stocks of Bristol Bay sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, by evaluating scale patterns with a polynomial discriminant method // Fish. Bull. Vol. 76. P. 415–423.
- Cross B.A., Stratton B.L. 1991. Origins of sockeye salmon in east side Bristol Bay fisheries in 1988 based on linear discrimination function analysis of scale patterns // Alaska Depart. Fish. Game. Tech. Fish. Rep. 91-09. 71 p.
- Dahl K. 1910. The age and growth of salmon and trout in Norway as shown by their scales // In: "The Salmon and Trout Association". L. 141 p.
- Deason H.J., Hill R. 1947. Age and growth of the kiji, *Leucichthys kiji* Koelz in Lake Michigan // Trans. Am. Fish. Soc. Vol. 74. P. 88–142.
- Fraser C.M. 1916. Growth of the spring salmon // Trans. Pacific Fish. Soc. P. 29–39.
- Fry F.E.J. 1943. A method for calculation of the growth of fishes from scale measurements // Univ. Toronto Stud. Biol. Ser. Vol. 51. P. 7–18.
- Henry K.A. 1961. Racial identification of Fraser River sockeye salmon by means of scales and its applications to salmon management // Int. Pac. Salmon Comm. Bull. № 12. 97 p.
- Johnston H.W. 1905. Scales of the Tay salmon as indicative of age, growth and spawning habit // In: 24-d Ann. Rep., Fishery Board of Scotland. Part 2. P. 63–67.
- Kato M., Ishida Y. 1985. Scale pattern analysis of coho salmon in the northwest North Pacific Ocean by materials obtained in 1975 salmon // NPAFC Doc. Fish Agency Japan, Far Seas Fish. Res. Lab., Shimizu. 18 p.

- Knudsen C.M.* 1985. Chinook salmon scale character variability due to body area sampled and possible effects on stock separation studies. M. Sc. Thesis, Univ. Washington, Seattle, 141 p.
- Major R.L., Mosher K.H., Mason J.E.* 1972. Identification of stocks of Pacific salmon by means of scale features / Jn: Simon, R.C. and P.A. Larkin [eds.] "The stock concept in Pacific salmon". MacMillan H.R. Lectures in Fisheries, Inst. Fish., Univ. British Columbia, Vancouver, B.C., Canada. P. 209–231.
- Mason J.E.* 1973. A semi-automatic machine for counting and measuring circuli on fish scales // In: "Ageing of Fish, Proc. Sympos. Reading". P. 87–102.
- McGregor A.G., McPherson S., Oliver G., Sharr S., Van Alen B.* 1987. Application of scale pattern analysis to the management of Alaska's sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) fisheries / Jn: H.D. Smith, L. Margolis, C.C. Wood [eds.] "Sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) population biology and future management". Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 96. P. 307–326.
- McBride N.D., Marshall S.L.* 1983. Feasibility of scale pattern analysis to identify the origins of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in the lower Yukon River commercial gillnet fishery, 1980–1981 // Alaska Department of Fish and Game, Division of Commercial Fisheries, Informational Leaflet. № 208. Juneau. 26 p.
- Merritt M.F., Wilcock J.A., Brannian L.K.* 1988. Origins of chinook salmon in the Yukon River fisheries, 1986 // Alaska Department of Fish and Game Tech. Fish. Rep. P. 88–14.
- Mosher K.H.* 1963. Racial analysis of red salmon by means of scales // Int. North Pac. Fish. Comm. Bull. № 11. P. 31–56.
- Mosher K.H.* 1972. Scale features of sockeye salmon from Asian and North American coastal regions // U.S. Fish. Bull. Vol. 70. № 1. P. 141–183.
- Myers K.W.* 1985. Racial trends in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) scale patterns // INPFC Doc. FRI-UW-8503. Univ. Washington Fish Res. Inst. Seattle. 56 p.
- Myers K.W.* 1986. The effect of alternative proportions of Asian chinook salmon on regional scale pattern analysis // NPAFC Doc. FRI-UW-8505. Univ. Washington Fish Res. Inst. Seattle, 44 p.
- Myers K.W., Rogers D.E., Harris C.K., Knudsen C.M., Walker R.V., Davis N.D.* 1984. Origins of Chinook salmon in the area of Japanese mothership and landbased driftnet fisheries in 1975–1981 // NPAFC Doc. FRI-UW-8503. Univ. Washington Fish Res. Inst. Seattle, 208 p.
- Nitta A., Ueno Y.* 1998. Stock identification of chum salmon *Oncorhynchus keta*, based on scale Character Analysis // NPAFC Doc. № 327, 8 p.
- Pearson R.E.* 1964. Use of discriminant function to classify North American and Asian pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum), collected in 1959 // Int. North Pac. Fish. Comm. Bull. Vol. 14. P. 67–90.
- Robertson S.G., Hagen P.T., Wilcock J.A., Bloomquist R.* 2004. Evaluating the efficacy of Probabilistic Neural Networks to determine stock structure in sockeye salmon using Fourier transformed luminance profiles of scale Circuli // NPAFC Tech. Rep. № 5. P. 125–128.
- Rowland R.G.* 1969. Relationship of scale characteristics to river of origin in four stocks of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in Alaska // U.S. Fish Wildl. Serv. Spec. Sci. Rep. Fish. № 577. 5 p.
- Schwartzberg M., Fryer J.K.* 1993. Identification of hatchery and naturally spawning stocks of Columbia Basin spring chinook salmon by means of scale pattern analysis // North Am. J. Fish. Man. Vol. 13. P. 263–271.
- Sneath P.H.A., Socal R.R.* 1973. Numerical Taxonomy. W.H. Freeman [ed], San-Francisco, Ca.
- Takagi K., Aro K.V., Hartt A.C., Dell M.B.* 1981. Distribution and origin of pink salmon, (*Oncorhynchus gorbuscha*) in offshore waters of the North Pacific Ocean // Int. North Pac. Fish. Comm. Bull. Vol. 40. 195 p.
- Wood C.C., Oliver G.T.* 1987. Stock identification of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) using biological markers // NPAFC Doc. Dept. Fish. And Oceans, Biol. Sci. Branch, Pac. Biol. Sta., Nanaimo, B.C. 52 p.
- Wood C.C., Oliver G.T., Rutherford D.T.* 1988. Comparison of several biological markers used for stock identification of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in northern British Columbia and southeast Alaska // Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. Vol. 1624. 44 p.
- Wood C.C., Riddell B.E., Rutherford D.T., Rutherford K.L.* 1987. Variation in biological characters among sockeye salmon populations of the Stikine River with potential application for stock identification in mixed-stock fisheries // Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. Vol. 1535. P. 61.
- Zavarina L.O., Antonov N.P., Bugaev A.V.* 2004. Scale criteria identify chum salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum) stocks in gillnet catches within economic zone of Russia // NPAFC Tech. Rep. № 5. P. 79–81.