



Всероссийская конференция

МОРСКАЯ БИОЛОГИЯ В 21 ВЕКЕ:

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ, МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ

Владивосток
12-15 сентября 2023 г.



Памяти академика
Владимира Леонидовича
Касьянова

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

г. Владивосток



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Национальный научный центр морской биологии
им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения
Российской академии наук

Приморский океанариум - филиал ННЦМБ ДВО РАН

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
Всероссийской конференции
«Морская биология в 21 веке:
биология развития, молекулярная и клеточная биология,
биотехнология морских организмов»
(памяти академика Владимира Леонидовича Касьянова)

12-15 сентября 2023 г.
Владивосток, Россия

ABSTRACTS
of the All-Russian Conference
"Marine Biology in the 21st Century:
Developmental Biology, Molecular and Cell Biology,
Marine Biotechnology"
(in commemoration of the Academician Vladimir L.
Kasyanov)

September 12-15, 2023
Vladivostok, Russia

Владивосток
2023

УДК 574.5
ББК 28.082.21
М 805

Утверждено к печати Ученым советом
Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского
Дальневосточного отделения Российской академии наук

«Морская биология в 21 веке: биология развития, молекулярная и клеточная биология, биотехнология морских организмов»: тезисы докладов Всероссийской конференции (памяти академика Владимира Леонидовича Касьянова), 12–15 сентября 2023 г., Владивосток, Россия / сост. В.М. Серков. – Владивосток: ННЦМБ ДВО РАН, 2023. – 385с.

"Marine Biology in the 21st Century: Developmental Biology, Molecular and Cell Biology, Marine Biotechnology" Abstracts of the All-Russian Conference (in commemoration of the Academician Vladimir L. Kasyanov), September 12–15, 2023, Vladivostok, Russia / Compiled by Vadim M. Serkov.– Vladivostok : NSCMB FEB RAS, 2023. – 385 p.
ISBN – 978-5-91849-168-3

УДК 574.5
ББК 28.082.21
М 805

В сборнике публикуются тезисы докладов по следующим направлениям морской биологии: биология развития, молекулярная и клеточная биология, биотехнология морских организмов, а также по некоторым аспектам аквакультуры и индустрии публичных аквариумов (океанариумов).

Для эмбриологов, цитологов, биохимиков, генетиков, гидробиологов, ихтиологов, преподавателей и студентов ВУЗов.

This collection contains proceedings in the following fields of marine biology: developmental biology; molecular and cell biology; biotechnology of marine organisms; as well as on some aspects of aquaculture; and the public aquarium industry.

The issue will be of interest for embryologists, cytologists, biochemists, geneticists, hydrobiologists, ichthyologists, lecturers, and university students.

Ответственные редакторы: к.б.н. О.М. Корн
к.б.н. Е.С. Корниенко
Ответственный секретарь: к.б.н. В.М. Серков

ISBN - 978-5-91849-168-3

© ННЦМБ ДВО РАН, 2023

Приветствие председателя оргкомитета конференции

Дорогие друзья, уважаемые коллеги!

Объявляя о проведении в 2023 году во Владивостоке очередной конференции «Морская биология в 21 веке», мне хотелось подчеркнуть важную роль фундаментальных научных исследований в устойчивом развитии как нашей страны, так и всего человечества. Наука не имеет границ и придерживается принципов деполитизированности и открытости. Объединяя усилия в области исследования и сохранения Океана, мы должны стремиться к тому, чтобы каждый человек задумался о проблемах, угрожающих океану, осознал важность сохранения чистого и богатого моря, понял ценность морских ресурсов. Мы стремимся к тому, чтобы каждый человек сделал хотя бы один маленький шаг, отдаляющий нас от разрушения «голубой планеты». В этом заключается миссия нашей организации: «Исследование биологии моря и просвещение на благо устойчивого развития человечества в гармонии с океаном».

На нашей ежегодной конференции мы традиционно отдаем дань памяти выдающимся биологам, внесшим значительный вклад в развитие морской биологии и ННЦМБ ДВО РАН. В этом году конференция посвящена памяти академика Владимира Леонидовича Касьянова, второго директора Института биологии моря Дальневосточного отделения Российской академии наук, сохранившего институт в трудные девяностые годы и заложившего основу его дальнейшего развития.

Целью конференции является укрепление научных и профессиональных контактов, координация морских научных исследований, совершенствование просветительской деятельности в области морской биологии. Коллектив ННЦМБ ДВО РАН искренне рад видеть Вас во Владивостоке на берегу Тихого океана, символично названного Pacific Ocean!

И.Ю. Долматов

Директор ННЦМБ ДВО РАН,

член-корреспондент Российской академии наук,

доктор биологических наук

Академик Владимир Леонидович Касьянов (1940 - 2005)



Владимир Леонидович Касьянов, доктор биологических наук, профессор, академик Российской академии наук, выдающийся организатор науки, известный ученый в области сравнительной эмбриологии морских организмов, сохранения морской биоты, эволюции биосферы и климатических изменений на планете, автор более 130 научных работ, в том числе 5 монографий. Директор Института биологии моря ДВО РАН в 1989-2005 гг.

В.Л. Касьянов закончил Ленинградский государственный университет в 1962 г., в 1965 г. окончил аспирантуру ЛГУ. После защиты кандидатской диссертации до 1971 г. работал в ЛГУ. В 1971 г. по приглашению директора Института биологии моря Дальневосточного научного центра Академии наук СССР Алексея Викторовича Жирмунского приехал работать во Владивосток и прошел путь от младшего научного сотрудника до руководителя Института. В 1986 г. Владимир Леонидович защитил докторскую диссертацию, в 1994 г. был избран членом-корреспондентом Российской академии наук, а в 2000 г. – академиком.

В 1973 году в Институте была создана Лаборатория эмбриологии. Касьянов В.Л. стал ее первым заведующим и создателем нового направления исследований на Дальнем Востоке. Лаборатория эмбриологии стала кадровой основой научной школы академика В.Л. Касьянова в области биологии размножения и развития морских организмов. Касьянов В.Л. провел обширные исследования репродуктивной стратегии многих видов иглокожих и моллюсков. Он применил новый экспериментальный подход к количественной оценке энергетических затрат на производство потомства на примере модельных видов - мидии и морских звезд. Итогом исследований стала серия экспериментальных и обзорных работ по размножению и развитию иглокожих и моллюсков, половому диморфизму, развитию гонад и дифференцировке пола у иглокожих. Были опубликованы книги о репродуктивной стратегии морских двустворчатых моллюсков и иглокожих, переведенные на английский язык и изданные за рубежом.

В последние годы жизни В.Л. Касьянов отдавал много времени и сил экологической и природоохранной деятельности, организации

исследований меняющихся под влиянием человека экосистем, изучению биоресурсов и биоразнообразия Мирового океана, анализу глобальных изменений климата. По его инициативе и под его руководством начато издание многотомной серии "Биота российских вод Японского моря", охватывающей все морское биологическое разнообразие от бактерий до позвоночных животных.

Вклад академика В.Л. Касьянова в развитие мировой науки отмечен высокими национальными и международными наградами. В 1994 г. он стал лауреатом премии РАН им. А.О. Ковалевского за цикл работ по сравнительной эмбриологии; в 2004 г. – лауреатом международной премии им. А.П. Карпинского за выдающийся вклад за развитие морской биологии.

Касьянов В.Л. вел большую научно-организационную деятельность как член Совета по науке, технологиям и образованию при Президенте РФ, первый заместитель председателя Дальневосточного отделения РАН, член президиума РАН, вице-президент Гидробиологического общества РАН, член нескольких Научных советов РАН и т.д. Был одним из создателей и главным редактором журнала "Биология моря", членом редакционных советов других отечественных и зарубежных журналов, председателем Национального комитета международной программы «International Geo-Biosphere Program» и ее Восточно-Азиатского комитета, вице-президентом Международного научного фонда Отто Кинне, членом Международного экологического института (Германия).

В Дальневосточном государственном университете (ДВГУ) профессор В.Л. Касьянов читал курсы лекций по сравнительной эмбриологии и биологии размножения и развития, был директором Академии экологии, морской биологии и биотехнологии ДВГУ и председателем ее ученого совета. Много сил им лично было положено на организацию морской биологической станции "Заповедное", предназначенной для проведения летней практики студентов.

По предложению В.Л. Касьянова Президент РФ поддержал идею создания во Владивостоке крупнейшего в России океанариума. В память об этом крупном ученом и выдающемся организаторе науки Дальневосточное отделение РАН учредило премию имени академика В.Л. Касьянова за работы в области молекулярной, клеточной биологии и биологии развития морских организмов. Именем академика В.Л. Касьянова названа улица на о. Русский, на которой расположен научно-образовательный комплекс "Приморский океанариум". В.Л. Касьянов сохранил Институт биологии моря в трудные 90-е года и дал импульс его развитию в начале XXI века.

СОДЕРЖАНИЕ

МОРФО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШИ В МОДЕЛИ КОНТРОЛИРУЕМОГО КОРТИКАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ
Августинович Ф.К., Манжуло И.В. 21

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИНТЕГРИН-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ КАК ОДНОГО ИЗ МАРКЕРОВ КОНТРОЛЯ СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК МОЛЛЮСКОВ ПОСЛЕ ЦИКЛА ЗАМОРАЖИВАНИЯ – ОТТАИВАНИЯ
Агеенко Н.В., Киселев К.В., Одинцова Н.А...... 24

ТОПОГРАФИЯ ГАНГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК И ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАЗРЕШЕНИЕ СЕТЧАТКИ У ЖЕЛТОГО АПОГОНА-БАБОЧКИ *SPHAERAMIA NEMATOPTERA* (BLEEKER, 1856) (PISCES: KURTIFORMES: AROGONIDAE)
Алескеров Н.Р.о., Пуцин И.И...... 26

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МАСТЕРСКАЯ «ХРАНИТЕЛИ МОРЯ»: ОПЫТ РАБОТЫ С ДЕТЬМИ 8-9 ЛЕТ НА БАЗЕ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА
Алёшина А.В. 29

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ В УСЛОВИЯХ АДАПТАЦИИ К ДЕФИЦИТУ КИСЛОРОДА
Андреева А.Ю., Кладченко Е.С., Кухарева Т.А. 32

РАЗВИТИЕ ПАЛЕОАННЕЛИДЫ *GALATHOWENIA OCULATA* ПОМОГАЕТ РЕКОНСТРУИРОВАТЬ ЭВОЛЮЦИЮ ЛИЧИНКИ-МИТРАРИИ
Андропова Е.И., Краус Ю.А., Римская-Корсакова Н.Н., Воронежская Е.Е. 35

ПЕРВОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ КОПУЛЯТИВНОГО ОРГАНА У САМЦА МОРСКОЙ ТИХОХОДКИ *HALOBIOTUS STENOSTOMUS*
Банникова М.А., Бисерова Н.М. 37

ИСКУССТВЕННОЕ ВОСПРОИЗВОДСТВО ТЕТРЫ КЕРРИ (*INPAICHTHYS KERRI*) В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА
Баранов А.Ю., Суюндукоев А.Д...... 40

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ МОРСКИХ МАКРОВОДОРОСЛЕЙ
Баркина М.Ю., Баркина Д.Ю., Баркина Н.В...... 43

**СВЕТОВОСПРИЯТИЕ ГРЕБНЕВИКОВ В КОНТЕКСТЕ ОБЩЕЙ
ЭВОЛЮЦИИ ЗРЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ**

Кривенко О. В., Баяндина Ю. С., Кулешова О. Н......45

**СВЯЗЬ ПОПУЛЯЦИЙ ХЕМОСИМБИОТРОФНОГО
ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CALYPTOGENA PACIFICA*
(*VESICOMYIDAE: PLEOCARDIINAE*) БЕРИНГОВА МОРЯ И
ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ ТИХОГО ОКЕАНА**

Белов Д.А., Кременецкая А.В., Крылова Е.М......48

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ НЕМАТОДЫ *RHABDOCHONA
CORONACAUDA* (*RHABDITIDA: THELAZIOIDEA*) –
КИШЕЧНОГО ПАРАЗИТА ВЕРХОГЛЯДОВ РОДА
CHANODICHTHYS ОЗЕРА ХАНКА**

Беляев В.П., Вайнутис К.С......51

**ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ У АМФИПОД КАК
БИОМАРКЕРЫ ВЛИЯНИЯ МИКРОПОЛЛЮТАНТОВ И
НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ**

Березина Н.А., Сухих Н.М., Губелит Ю.И......53

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОДА *CLISTOVOTHRIMUM
DAILEY & VOGELBEIN, 1990* (*EUCESTODA:
PHYLLOVOTHRIPIDAE*) НА ОСНОВЕ ФРАГМЕНТА ГЕНА 28S
РРНК**

Бирюков И.Ю., Вайнутис К.С......55

**ОБНАРУЖЕНА СЛОЖНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ МОЗГА У
ЛИЧИНОК И ВЗРОСЛЫХ ПАРАЗИТОВ АКУЛЫ *NYBELINIA
SURMENICOLA* (*CESTODA: TRYPANORHYNCHA*)**

Бисерова Н.М., Маргарит А.А., Банникова М.А., Гордеев И.И......58

**РАЗВИТИЕ И РЕДУКЦИЯ ФУНИКУЛЯРНЫХ ТЕЛ
БЕЛОМОРСКИХ МШАНОК *BUGULOIDEA* (*BRYOZOA:
CHEILOSTOMATA*)**

Богданов Е.А., Вишняков А.Э., Островский А.Н......61

**ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ МОРФОГЕНЕЗЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ
МЕТАМОРФОЗ ЛИЧИНКИ-ПЛАНУЛЫ ГИДРОИДА *DYNAMENA
PUMILA*, И ВОЗМОЖНАЯ РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ
СЕРОТОНИНА**

Богомолов А.И., Воронежская Е.Е., Краус Ю.А......63

**ПОЛНЫЙ ГЕНОМ НОВОГО ПАЛОЧКОВИДНОГО
НИМОВИРУСА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО СИНДРОМ МОЛОЧНОЙ
ГЕМОЛИМФЫ КРАБА-СТРИГУНА *CHIONOECETES BAIRDI*
(*RATHBUN, 1924*)**

| | |
|---|----|
| <i>Елисейкина М. Г., Бойко А. В., Шамигурина Е. В.</i> | 65 |
| ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В АКВАКУЛЬТУРЕ НА ПРИМЕРЕ КАМЧАТСКОГО КРАБА (<i>PARALITHODES CAMTSCHATICUS</i>) | |
| <i>Бондарь Е.И., Батищева Н.М., Гончаров Н.В.</i> | 67 |
| ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В РЕГЕНЕРАЦИИ ГУБКИ <i>HALISARCA DUJARDINII</i> | |
| <i>Борисенко И.Е., Ересковский А.В.</i> | 68 |
| ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ В РАЦИОН МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА РОСТ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ МОЛОДИ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ТРЕПАНГА <i>AROSTICHOPUS JAPONICUS</i> | |
| <i>Борисова Д.С., Боцун Л.А., Геворгян Т.А., Пахлеванян А.А., Масленников С.И., Козьменко В.Б.</i> | 71 |
| МАССОВОЕ ВЫРАЩИВАНИЕ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛИ <i>THALASSIOSIRA NORDENSKIOELDII</i> (Cleve, 1873) ДЛЯ КОРМОВЫХ ЦЕЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОТКРЫТОЙ ПЛОЩАДКИ | |
| <i>Боцун Л.А., Пахлеванян А.А., Геворгян Т.А., Масленников С.И., Куличкова Л.Д.</i> | 74 |
| 3D-МОДЕЛИРОВАНИЕ АЛЛЕРГЕННЫХ БЕЛКОВ ЗООНОЗНОЙ НЕМАТОДЫ <i>ANISAKIS SIMPLEX</i> (ASCARIDIDA: ANISAKIDAE) | |
| <i>Вайнутис К.С., Воронова А.Н.</i> | 76 |
| СОЗДАНИЕ ИНКЛЮЗИВНОЙ СРЕДЫ В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА | |
| <i>Ващенко И.С., Маслова М.Б.</i> | 79 |
| МОЛЕКУЛЯРНАЯ РАЗМЕТКА ВЕРХУШКИ ПОБЕГА В КОЛОНИИ ТЕКАТНОГО ГИДРОИДА <i>DYNAMENA PUMILA</i> | |
| <i>Ветрова А.А., Лебедева Т.С., Кремнёв С.В.</i> | 81 |
| СООТНОШЕНИЕ МОРФОТИПОВ СПЕРМАТОЗОИДОВ У ГЕНЕТИЧЕСКИ ПОДТВЕРЖДЕННЫХ ОСОБЕЙ <i>MYTILUS TROSSULUS</i> ВАРЬИРУЕТ В РАЗНЫХ РАЙОНАХ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ЯПОНСКОГО МОРЯ | |
| <i>Вехова Е.Е., Киселев К.В., Реунов А.А., Реунова Ю.А., Александрова Я.Н., Ахмадиева А.В., Пименова Е.А.</i> | 84 |
| МИКРОБНЫЕ ТОПЛИВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ДОННОГО ТИПА – ОПЫТ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ЯПОНСКОГО МОРЯ | |
| <i>Масленников С.И., Волченко Н.Н., Лазукин А.А., Пахлеванян А.А., Самков А.А., Худокормов А.А.</i> | 87 |

| | |
|--|-----|
| СЕРОТОНИН И ДОФАМИН В ЖИЗНЕННОМ ЦИКЛЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ: ЧТО МЫ ЗНАЕМ 20 ЛЕТ СПУСТЯ <i>Воронежская Е.Е.</i> | 90 |
| НЕОБЫЧНОЕ СВОЙСТВО МИОЗИНА МЫШЦ-ЗАМЫКАТЕЛЕЙ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ (BIVALVIA) <i>Вятчин И.Г.</i> | 93 |
| КЛИМАТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА РУБЕЖЕ ВЕКОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА МОЛОДЬ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ИЗ ЯПОНСКОГО МОРЯ <i>Гайко Л.А.</i> | 96 |
| ВЛИЯНИЕ ПЛОТНОСТИ ПОСАДКИ НА РОСТ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ МАЛЬКОВ КАМЧАТСКОГО КРАБА PARALITHODES CAMTSCHATICUS ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В КОНТРОЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ <i>Геворгян Т.А., Масленников С.И., Борисова Д.С., Боцун Л.А, Пахлеванян А.А., Козменко В.Б.</i> | 99 |
| ПОИСК ГЕНОВ-АКТИВАТОРОВ РЕГЕНЕРАТОРНОГО ПРОЦЕССА В СТЕНКЕ ТЕЛА ГОЛОТУРИИ EUPENTASTA FRAUDATRIX <i>Гирич А.С., Кравченко Е.В., Калачёва Н.В.</i> | 101 |
| РАЗВИТИЕ ЕСТЕСТВЕННО-НАУЧНОЙ ГРАМОТНОСТИ У ШКОЛЬНИКОВ В РАМКАХ ПРОСВЕТИТЕЛЬСКИХ ПРОГРАММ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА <i>Глизнуца Л.А.</i> | 104 |
| ЗНАЧЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЛИЧИНОК ДЛЯ ТАКСОНОМИИ И ФИЛОГЕНИИ КОРНЕГОЛОВЫХ РАКООБРАЗНЫХ <i>Голубинская Д.Д., Корн О.М.</i> | 106 |
| S1Q-ДОМЕН-СОДЕРЖАЩИЙ БЕЛОК ИЗ ГЕМОЛИМФЫ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА MODIOLUS KURILENSIS КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ОНКОДИАГНОСТИКИ <i>Гринченко А.В.¹, Кумейко В.В.</i> | 108 |
| ВАРИАНТЫ ИСПОЛНЕНИЯ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ ОПТИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В РЫБАХ И РАКООБРАЗНЫХ НА ПРИМЕРЕ PH-СЕНСОРОВ <i>Гурков А.Н., Щапова Е.П., Ржечицкий Я.А., Борвинская Е.В., Дягилева А.А., Тимофеев М.А.</i> | 111 |
| ПРИМЕНЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ДНК ИЗ ВОДНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АРКТИЧЕСКИХ ВИДОВ ВОДОПЛАВАЮЩИХ ПТИЦ | |

Демин А.Г., Галкина С.А., Ильина И.В., Демина И.В., Платонова Е.В., Стариков Д.А...... 113

**ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ И РАКОВИН
ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANADARA KAGOSHIMENSIS*
(ТОKUNAGA, 1906) ИЗ ЧЁРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ**

Дикарева Ю.Д., Капранов С.В., Капранова Л.Л., Рябушко В.И...... 115

**ЭМБРИОНАЛЬНОЕ И ЛИЧИНОЧНОЕ РАЗВИТИЕ
ВОСЬМИЛУЧЕВОГО КОРАЛЛА *CORNULARIA SP.***

Дмитриева Е.В., Краус Ю.А...... 118

**ОРГАНИЗАЦИЯ РОПАЛОИДОВ СИДЯЧЕЙ МЕДУЗЫ
HALICLYSTUS AURICULA – НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ФУНКЦИИ
АДГЕЗИОННЫХ ОРГАНОВ**

Домрачева М.М., Хабибулина В.Р., Салова И.А. 121

БИОМИМЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ СТЕКЛЯННЫХ ГУБОК

Дроздов А.Л...... 124

АНАЛИЗ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ МОРСКИХ ЕЖЕЙ

Дроздов К.А., Султанов Р.М.², Молоствов А.Е., Дроздов А.Л.²..... 126

**К ВОПРОСУ О ВОЗМОЖНОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ
ЛЕЙКЕМИЯ-ПОДОБНОГО РАКА В ПРИМОРСКИХ
ПОПУЛЯЦИЯХ ГРЕБЕШКА *MIZUNOPESTEN YESSOENSIS***

Дягилева М.Н., Дмитриева И.А., Анисимова А.А. 129

**ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ
ЭТАНОЛАМИДОВ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ
КИСЛОТ *IN VITRO* И *IN VIVO*.**

Егораева А.А., Пономаренко А.И., Манжуло И.В. 132

РАЗНООБРАЗИЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ МЕХАНИЗМОВ У ГУБОК

Ересковский А.В., Борисенко И.Е., Большаков Ф.В., Мельников Н.П., Скоренцева К.В., Лавров А.И. 135

**ПРОФИЛЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ВИДОВ ЛИПИДОВ МЫШЦ И
ГЕПАТОПАНКРЕАСА ЯПОНСКОГО МОХНАТОРУКОГО КРАБА
ERIOSCHEIR JAPONICA И КАМЧАТСКОГО КРАБА
*PARALITHODES CAMTSCHATICUS***

Ермоленко Е.В., Сикорская Т.В...... 137

**ЭКСПРЕССИЯ ДАБЛКОРТИНА, ГЛИАЛЬНОГО
ФИБРИЛЛЯРНОГО КИСЛОГО ПРОТЕИНА И ВИМЕНТИНА В
ИНТАКТНОМ ТЕЛЕНЦЕФАЛОНЕ МОЛОДИ СИМЫ
ONCORHYNCHUS MASOU И ПОСЛЕ ТРАВМАТИЧЕСКОГО
ПОВРЕЖДЕНИЯ**

| | |
|---|-----|
| <i>Жарикова Е.И.</i> | 140 |
| БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БЕНТОСНОЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ <i>LEPTOLYNGBYA</i> CF. <i>ECTOCARPI</i> (GOMONT) ANAGNOSTIDIS & KOMÁREK 1988 | |
| <i>Железнова С.Н., Мирошниченко Е.С., Благинина А.А., Наумов И.В., Геворгиз Р.Г.</i> | 142 |
| ПОТРЕБНОСТИ В ОСНОВНЫХ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТАХ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРОСЛИ <i>NANOFRUSTULUM SHILOI</i> ДЛЯ ИНТЕНСИВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ | |
| <i>Железнова С.Н., Благинина А.А., Геворгиз Р.Г., Бобко Н.И., Мирошниченко Е.С., Рябушко Л.И.</i> | 144 |
| АНОМАЛИИ В РАЗВИТИИ ГОНАД СЕВЕРНОГО ОДНОПЕРОГО ТЕРПУГА | |
| <i>Жукова К.А.</i> | 147 |
| ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ ИГЛОКОЖИХ: СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, СОВРЕМЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ | |
| <i>Жукова Н.В.</i> | 150 |
| ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКА P1W1 В ТКАНЯХ СТЕНКИ ТЕЛА ГОЛОТУРИИ <i>EUPENTACTA FRAUDATRIX</i> (D'YAKONOV & BARANOVA, 1958) (HOLOTHUROIDEA, DENDROCHIROTIDA) | |
| <i>Завальная Е.Г.</i> | 153 |
| РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К АМПИЦИЛЛИНУ ПЛАЗМИДНОГО ТИПА В МЕТАГЕНОМЕ ПЛАНКТОННОЙ МИКРОБИОТЫ ТРОПИЧЕСКИХ ВОД МИРОВОГО ОКЕАНА | |
| <i>Зимин А.А., Никулина А.Н., Киселев С.С., Дроздов А.Л.</i> | 155 |
| АНАЛИЗ ДИВЕРГЕНЦИИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ УЧАСТКОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ (<i>COI</i>, <i>16S</i> рРНК) И ЯДЕРНОЙ (<i>28S</i> рРНК, гистон <i>H3</i>) ДНК ДВУХ ВИДОВ ЩЕТИНКООЧЕЛЮСТНЫХ (СНАЕТОГНАТНА) | |
| <i>Золотова А.О., Картавцев Ю.Ф., Касаткина А.П.</i> | 158 |
| ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛАМИДА ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА СИСТЕМНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ ПРИ РАЗВИТИИ АЛИМЕНТАРНО- ИНДУЦИРОВАННОГО ОЖИРЕНИЯ У МЫШЕЙ | |
| <i>Ивашкевич Д.Н., Манжуло И.В., Дюйзен И.В.</i> | 161 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ РНКазНОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ГОЛОТУРИЙ <i>Eupentacta FRAUDATRIX</i> И <i>Paracaudina CHILENSIS</i> | |

| | |
|---|-----|
| <i>Иващенко В.А., Соболева С.Е., Невинский Г.А.</i> | 164 |
| МАКРОЭВОЛЮЦИОННЫЕ ТРАНСФОРМАЦИИ ПЛАНА СТРОЕНИЯ В ОНТОГЕНЕЗЕ И ФИЛОГЕНЕЗЕ <i>VILATERIA</i> | |
| <i>Исаева В.В.</i> ¹² | 166 |
| ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ПОПОЛНЯЕМОСТЬ ЧЕРНОМОРСКОЙ <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ АКВАТОРИЙ МОРЯ ЛИЧИНКАМИ ВИДА НА СТАДИИ ОСЕДАНИЯ | |
| <i>Казанкова И.И.</i> | 169 |
| РОЛЬ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В ПРОЯВЛЕНИИ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ У ЛИЧИНОК МОРСКИХ ЕЖЕЙ | |
| <i>Калачев А.В., Танкович А.Е., Юрченко О.В.</i> | 171 |
| РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ В МЯГКИХ ТКАНЯХ КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В ЧЁРНОМ МОРЕ УСТРИЦЫ <i>MAGALLANA GIGAS</i> (THUNBERG, 1793) | |
| <i>Рябушко В.И., Капранов С.В., Тоичкин А.М., Бобко Н.И.</i> | 173 |
| АНТИОБРАСТАТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА РАКОВИН МОЛЛЮСКОВ | |
| <i>Карпенко А.А., Одинцов В.С., Карпенко М.А.</i> | 176 |
| ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ НЕМАТОФАУНЫ ПЕСЧАНЫХ ГРУНТОВ ЯПОНСКОГО МОРЯ | |
| <i>Карпова А.А., Фадеева Н.П.</i> | 177 |
| ВЛИЯНИЕ РАДИАЦИИ НА МОРФОЛОГИЮ МОРСКИХ ЖИВОТНЫХ | |
| <i>Касаткина А.П., Столярова М.В., Сергеев А.Ф.</i> | 179 |
| НОВЫЕ ДАННЫЕ ОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПОРЯДКА <i>THALASSIOSIRALES</i> (<i>BACILLARIOPHYTA</i>) ИЗ ВОД ЯПОНСКОГО МОРЯ ПРИ ПОМОЩИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ | |
| <i>Качур Д.И., Туранов С.В., Шевченко О.Г., Пономарева А.А., Шульгина М.А.</i> | 182 |
| ВИДОВОЙ СОСТАВ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РАВНОНОГИХ РАКОВ НА ЛИТОРАЛИ ЗАЛИВА ВОСТОК | |
| <i>Кепель А.А.</i> | 184 |
| ВЛИЯНИЕ КРАТКОСРОЧНОГО ИЗМЕНЕНИЯ СОЛЕННОСТИ НА ИММУННЫЕ, АНТИОКСИДАНТНЫЕ И ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ | |

СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819)

Кладченко Е.С., Гостюхина О.Л., Сигачева Т.Б., Гаврюсева Т.В., Челебиева Э.С., Подольская М.С., Ткачук А.А., Кухарева Т.А., Рычкова В.Н., Андреева А.Ю. 186

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИРОДНОГО ХЛОРИНА ЭТРА В КАЧЕСТВЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ *IN VIVO*

Клименко А.М. 189

ВЛИНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДЕПРИВАЦИИ СНА НА ПОВЕДЕНИЕ ЛИЧИНОК РЫБЫ *Danio RERIO*

Князькина М.И., Дячук В.А. 192

НОВАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ – ТЕОРИЯ *CARCINO-EVO-DEVO*, ЕЁ НЕТРИВИАЛЬНЫЕ ПРЕДСКАЗАНИЯ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ С ДРУГИМИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ ТЕОРИЯМИ И МЕДИЦИНОЙ

Козлов А.П. 194

ДИНАМИКА ПОПУЛЯЦИЙ ЧЕРНОМОРСКИХ МОЛЛЮСКОВ В ЭПОХУ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ И ИНТЕНСИФИКАЦИИ ИНВАЗИЙ

Колючкина Г.А., Чикина М.В., Симакова У.В., Данилова Н.А. 196

УЛЬТРАСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕРМАТОГЕННЫХ КЛЕТОК ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CORBICULA JAPONICA PRIME* (1864)

Комкова А.В., Александрова Я.Н., Вехова Е.Е., Реунов А.А. 199

РАКИ-ОТШЕЛЬНИКИ УМЕРЕННЫХ ШИРОТ: СТРАТЕГИЯ И НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ

Корниенко Е.С. 201

УЧАСТИЕ ПАРАНОХ-ГЕНОВ В РАЗНООБРАЗНЫХ СТРАТЕГИЯХ РАЗВИТИЯ АННЕЛИД

Костюченко Р. П., Амосов А. В. 204

ЗАГАДКИ ЭВОЛЮЦИИ ЛИЧИНОК МШАНОК

Котенко О. Н., Островский А. Н. 205

ВИДОВОЙ СОСТАВ ПРОМЫСЛОВОЙ ИХТИОФАУНЫ В ПОДЗОНЕ ПРИМОРЬЕ

Кравченко Д. Г., Асеева Н. Л., Измятинский Д. В. 207

ЛИЧИНКИ CNIDARIA: РАЗНООБРАЗИЕ И ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЭВОЛЮЦИИ

| | |
|--|-----|
| <i>Краус Ю. А.</i> | 210 |
| ТРЕМАТОДЫ МОРСКИХ РЫБ ОТ АТЛАНТИКИ ДО ПАЦИФИКИ: СКРЫТОЕ РАЗНООБРАЗИЕ | |
| <i>Крупенко Д. Ю., Кремнев Г. А., Гончар А. Г., Скобкина О. С.</i> | 212 |
| СЕКРЕТИРУЕМЫЕ ПЕПТИДНЫЕ ТОКСИНЫ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ НЕМЕРТИН <i>CERHALOTHRIX</i> CF. <i>SIMULA</i> И <i>KULIKOVIA ALBOROSTRATA</i> | |
| <i>Кузнецов В. Г., Власенко А. Е., Шабельников С. В., Магарламов Т. Ю.</i> .. | 215 |
| ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ ВО ВРЕМЯ ВСПЫШКИ ВИБРИОЗА НА МОРСКОМ САДКОВОМ ХОЗЯЙСТВЕ | |
| <i>Курпе С. Р., Суховская И. В., Борвинская Е. В., Морозов А. А., Паришуков А. Н., Малышева И. Е., Васильева А. В., Чечкова Н. А., Кучко Т. Ю.</i> | 217 |
| ФОРМИРОВАНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У ГОЛОТУРИИ С ПРЯМЫМ РАЗВИТИЕМ: ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ МАРКИРОВАНИЕ И <i>PCR IN SITU</i> ГИБРИДИЗАЦИЯ | |
| <i>Куртова А. И., Гирич А. С., Долматов И. Ю., Воронежская Е. Е.</i> | 220 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ВРЕМЕННОЙ, ГЕОГРАФИЧЕСКОЙ И МЕЖВИДОВОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИКРОБИОМОВ <i>LITTORINA FABALIS</i> И <i>L. OBTUSATA</i> | |
| <i>Курячий Д. С., Гафарова Е. Р., Гранович А. И., Мальцева А. Л.</i> | 223 |
| КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ИЗВЕСТКОВОЙ ГУБКИ <i>LEUCOSOLENIA CORALLORRHIZA</i> | |
| <i>Лавров А. И., Скоренцева К. В., Мельников Н. П., Большаков Ф. В., Ересковский А. В.</i> | 225 |
| МИКРОВОДОРОСЛИ – ЖИВОЙ КОРМ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МОРСКИХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ В ПИТОМНИКЕ | |
| <i>Ладыгина Л. В., Масленников С. И., Рябушко В. И.</i> | 228 |
| РАК МОЗГА РАКА: К ЧЕМУ ПРИВОДИТ ЗАРАЖЕНИЕ ДЕСЯТИНОГИХ ХОЗЯЕВ КОРНЕГОЛОВЫМИ РАКООБРАЗНЫМИ (МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ) | |
| <i>Лянгузова А. Д., Гафарова Е. Р., Голофеева Д. М., Миролюбов А. А., Нестеренко М. А.</i> | 231 |
| РАЗНЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ МОРСКИХ ДОННЫХ ОСАДКОВ НА ОСНОВЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭМБРИОТЕСТА С МОРСКИМИ ЕЖАМИ | |
| <i>Мазур М. А., Журавель Е. В.</i> | 234 |

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕСКОЛЬКИХ ВИДОВ НЕОПЛАЗИИ У МИДИЙ *MYTILUS TROSSULUS* ИЗ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ

Майорова М. А.¹, Фролова Л. Т.¹, Одинцова Н. А.¹, Сказина М. А.², Стрелков П. П.²..... 237

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИСТЕМ ДЕПОНИРОВАНИЯ И ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ТЕТРОДОТОКСИНА У ЛИЧНОК И ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ НЕМЕРТИН *CERHALOTHRIX* CF. *SIMULA*.

Малькин Г. В., Мельникова Д. И., Веланский П. В., Магарламов Т. Ю. 239

ОКАЗАНИЕ ПРОФОРИЕНТАЦИОННОЙ ПОДДЕРЖКИ, ЧЕРЕЗ МАСТЕР-КЛАСС «Я-ТРЕНЕР» В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА

Маслова М.Б. 241

АНАЭРОКОНТУР ЧЕРНОГО МОРЯ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛОБАЛЬНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Мельников В. В., Белокопытов В. Н. 243

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК КРОВИ БЕЛУХИ *DELPHINAPTERUS LEUCAS* (PALLAS, 1776)

Мищенко П. В., Щербакова Е. А., Ячмень В. А. 246

ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК РАЗНЫХ ТКАНЕЙ АМФИПОД И СРАВНЕНИЕ ИХ ВЫЖИВАЕМОСТИ С РЕАКЦИЕЙ НА ОРГАНИЗМЕННОМ УРОВНЕ

Назарова А. А., Седова С. С., Гурков А. Н., Шатилина Ж. М., Тимофеев М. А. 247

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДВУХ ВИДОВ ФОРОНИД: ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО *RHORONOPSIS HARMERI* И АМЕРИКАНСКОГО *RHORONOPSIS VIRIDIS* И ПРОБЛЕМА ТАКСОНОМИИ ТИПА

Неклюдов Б. В., Темерева Е. Н. 249

ПРОДУКЦИЯ ДИАДИНОКСАНТИНА В ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРЕ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *Cylindrotheca closterium* (EHRENB.) REIMANN ET LEWIN. И ЕГО ПРОАПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Нехорошев М. В., Железнова С. Н., Геворгиз Р. Г. 251

ПОИСК И ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ЭКСПРЕССИИ ТАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ РЕГЕНЕРАЦИЮ ПРОДОЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ ЛЕНТЫ У

| | |
|--|-----|
| ГОЛОТУРИИ <i>EUPENTACTA FRAUDATRIX</i> (D'YAKONOV & BARANOVA IN D'YAKONOV, BARANOVA & SAVEL'EVA, 1958) <i>Нижниченко В. А., Бойко А. В.</i> | 255 |
| СТРОЕНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ <i>TURTONIA MINUTA</i> – ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА С ПРЯМЫМ РАЗВИТИЕМ <i>Никищенко В. Е., Дячук В. А.</i> | 256 |
| ЭВОЛЮЦИОННАЯ МОРФОЛОГИЯ КОНЕЧНОГО МОЗГА ХРЯЩЕВЫХ РЫБ <i>Обухов Д. К.</i> | 258 |
| БАНДИТЫ С ЧУЛКОМ НА ГОЛОВЕ ИЛИ ЗАКРЫТЫЙ ЭПИЦЕЛЛЮЛЯРНЫЙ ПАРАЗИТИЗМ У СПОРОВИКОВ (ARICOMPLEXA) <i>Паскерова Г. Г.¹</i> | 261 |
| РАЗМЕРНО-ВЕСОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ МАЛЬКОВ ЯПОНСКОГО МОХНАТОРУКОГО КРАБА <i>ERIOSCHEIR JAPONICA</i> (DE HAAN, 1835) В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ <i>Пахлеванян А. А., Масленников С. И., Борисова Д. С., Геворгян Т. А., Боцун Л. А.</i> | 263 |
| РАННЕЕ ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ДВУХ МОРСКИХ ПАУКОВ РОДА <i>NUMPHON</i> (PUSNOGONIDA) <i>Петрова М. А., Богомолова Е. В.</i> | 265 |
| ПОЗИЦИОННАЯ ИНФОРМАЦИЯ КАК КЛЮЧ К ПОНИМАНИЮ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ АННЕЛИД <i>Платова С. Е., Старунов В. В., Старунова З. И., Новикова Е. Л.</i> | 268 |
| ПРИЗНАКИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ <i>MAGALLANA GIGAS</i>, ПОРАЖЕННОЙ СВЕРЛЯЩЕЙ ГУБККОЙ <i>PIONE VASTIFICA</i> <i>Подольская М. С., Гостюхина О. Л., Челебиева Э. С., Кладченко Е. С., Лавриченко Д. С., Андреева А. Ю.</i> | 271 |
| ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>ELEGINUS</i> (GADIDAE) И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ЕГО ФОРМИРОВАНИЯ <i>Пономарева Е. В., Строганов А. Н.</i> | 274 |
| СИНАПТАМИД – НЕЙРОТРОПНЫЙ ПРЕПАРАТ ИЗ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ <i>Пономаренко А.И.¹, Манжуло О.С.¹, Манжуло И.В.¹</i> | 276 |

| | |
|---|-----|
| ПРОИСХОЖДЕНИЕ ЗАБОТЫ О ПОТОМСТВЕ У ПОЛИХЕТ СПИОНИД (ANNELIDA: SPIONIDAE) <i>Радашевский В. И.</i> | 278 |
| РАННИЕ СТАДИИ ОНТОГЕНЕЗА РАКОВИНЫ БРАХИОПОДЫ COROTHYRIS GRAYI (RHYNCHONELLIFORMEA: TEREBRATULIDA) <i>Ратновская А. В., Кузьмина Т. В.</i> | 279 |
| ОПЫТ РАЗВЕДЕНИЯ ПИНГВИНОВ ГУМБОЛЬДА (SPHENISCUS GUMBOLDTI) В ПРИМОРСКОМ ОКЕАНАРИУМЕ – ФИЛИАЛЕ ННЦМБ ДВО РАН <i>Сабуцкая М. А., Крещенковская В. А.</i> | 282 |
| ПРИМОРСКИЙ ОКЕАНАРИУМ: ДОСТИЖЕНИЯ, ВЫЗОВЫ, НОВЫЕ УГРОЗЫ <i>Серков В. М.</i> | 285 |
| ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ КОРАЛЛОВ SINULARIA HETEROSPICULATA И ACROPORA SP. В ПРОЦЕССЕ ОБЕСЦВЕЧИВАНИЯ И ПОСЛЕДУЮЩЕГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ <i>Сикорская Т. В., Ермоленко Е. В., Солодий Д. Д.</i> | 287 |
| ВЛИЯНИЕ НЕФТЕУГЛЕВОДОРОДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ГРЕБНЕВИКА MNEMIOPSIS LEIDYI A. AGASSIS, 1865 (STENOPHORA) В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ <i>Силаков М. И., Темных А. В., Чудиновских Е. С.</i> | 290 |
| ИЗМЕНЕНИЯ ПЛОЩАДИ ПОВЕРХНОСТИ И ОБЪЕМА ТЕЛА В ОНТОГЕНЕЗЕ ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА <i>Силина А. В.</i> | 293 |
| ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ МЕТОДА ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ В ОТНОШЕНИИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ГЕМОЦИТОВ BIVALVIA В МОРСКОЙ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ <i>Синенко А. В.*, Христофорова Н. К., Анисимова А. А.</i> | 295 |
| НИТЧАТЫЕ ЭКТОКАРПОВЫЕ ВОДОРОСЛИ (EUSTOCARPALES, RHAEORHUSACEAE) КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ОБЪЕКТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ДОБАВОК К КОРМАМ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ <i>Скрипцова А. В., Маслеников С. И.</i> | 298 |
| СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ МОЛЛЮСКОВ И СРЕДЫ ИХ ОБИТАНИЯ | |

| | |
|---|-----|
| <i>Сокольникова Ю. Н.¹, Гринченко А. В., Кумейко В. В.</i> | 301 |
| МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА АТИПИЧНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ У РЫБ ИЗ АКВАТОРИИ С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ | |
| <i>Спирина А. А., Макеев А. А., Лошенко В. И., Сахаров А. В., Шестопалов А. М.</i> | 304 |
| ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СИНАПТАМИДА ПРИ КОМПРЕССИОННОЙ ТРАВМЕ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА У КРЫС | |
| <i>Старинец А. А., Манжуло И. В.</i> | 306 |
| ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПОВ И ПАРАМЕТРОВ РОСТА МОРСКИХ ЛИЛИЙ <i>HELIOMETRA GLACIALIS</i> (OWEN, 1833 EX LEACH MS) ПО ПОЗВОНКАМ ИХ ЛУЧЕЙ | |
| <i>Стратаненко Е. А.</i> | 309 |
| ГЛОБАЛЬНЫЕ КЛИМАТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАК ФАКТОР ФОРМИРОВАНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ У МОРСКИХ РЫБ | |
| <i>Строганов А.Н., Пономарева Е.В., Беляев В.А., Смирнов А.А., Жукова К.А.</i> | 311 |
| ЦЕСТОДЫ БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ (<i>PUSA SIBIRICA</i> GMELIN, 1788) | |
| <i>Суворова И. В., Белокобыльский И. Ф., Спиридонов С. Э.</i> | 313 |
| ВЫЯВЛЕНИЕ ПРИЗНАКОВ ПРИЛОВА В ОРУДИЯ РЫБОЛОВСТВА ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ КИТООБРАЗНЫХ, ВЫБРОШЕННЫХ НА ПОБЕРЕЖЬЕ ЧЕРНОГО МОРЯ | |
| <i>Суворова И. В., Коростелева А. В., Постникова А. Н.</i> | 315 |
| ВЛИЯНИЕ АЛКИЛГЛИЦЕРИНОВЫХ ЭФИРОВ И ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И УРОВЕНЬ ПЛАЗМАЛОГЕНОВ ПЕЧЕНИ СТАРЫХ КРЫС | |
| <i>Султанов Р. М., Ермоленко Е. В., Полещук Т. С., Денисенко Ю. К.</i> | 318 |
| ПРОИСХОЖДЕНИЕ КОПЕПОДЫ <i>EURYTEMORA</i> (ГРУППА <i>AFFINIS</i>) ИЗ ВОДОЕМОВ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ И ЯПОНИИ | |
| <i>Сухих Н. М., Алексеев В. Р.</i> | 321 |
| ОСОБЕННОСТИ ПИТАНИЯ ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ ТЁМНОГО ГОРБЫЛЯ <i>SCIAENA UMBRA</i> LINNAEUS, 1758 (SCIAENIDAE) У БЕРЕГОВ КРЫМА (ЧЁРНОЕ МОРЕ) | |
| <i>Тамойкин И. Ю., Вдодович И. В., Статкевич С. В.</i> | 322 |

**РАЗВИТИЕ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У
ЛИЧИНОК МОРСКИХ ЕЖЕЙ *STRONGYLOCENTROTUS*
INTERMEDIUS (ECHINOIDEA, ODONTOPHORA) И
SCAPHESCHINUS MIRABILIS (ECHINOIDEA, IRREGULARIA)**

Танкович А. Е......325

**МОРФОЛОГИЯ РАКОВИН ШЕСТИ ВИДОВ СЕКРЕЦИОННЫХ
ФОРАМИНИФЕР ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ЯПОНСКОГО
МОРЯ**

Дроздов А. Л., Катасонова М. С., Тарасова Т. С......327

**СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ ФЛОРОТАННИНОВ АРКТИЧЕСКИХ БУРЫХ
ВОДОРОСЛЕЙ**

*Исламова Р. Т., Замяткина Е. Б., Биркемайер К., Степченкова Е. И.,
Тараховская Е. Р.*330

**УНИКАЛЬНАЯ РЕПРОДУКТИВНАЯ СТРАТЕГИЯ ФОРОНИДЫ
*RHORONIS EMBRYOLABI***

Темерева Е. Н., Островский А. Н.332

**ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА НА МАРКЕРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ
МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

Ткачук А. А., Андреева А. Ю., Кладченко Е. С......334

**ИЗМЕНЕНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА ДВУСТВОРЧАТЫХ
МОЛЛЮСКОВ ПРИ ИНВАЗИИ МИКРОВОДОРОСЛИ
*SOCCOMYXA PARASITICA***

Сокольников Ю. Н., Тумас А. В......336

**МОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ ПОСЕЛЕНИЙ КОММЕРЧЕСКИ
ЦЕННЫХ ВИДОВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ И
ИГЛОКОЖИХ В ПРОЛИВЕ СТАРКА ЯПОНСКОГО МОРЯ**

Турабжанова И. С.¹, Сухин И. Ю.¹.....339

**ЕЩЁ РАЗ О ВИДОВОМ СТАТУСЕ ТРАВЯНОГО ЧИЛИМА
PANDALUS LATIROSTRIS RATHBUN, 1902 (DECARODA:
PANDALIDAE) ИЗ АКВАТОРИИ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ПО
ДАНЫМ МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

Туранов С. В., Кольцова М. А......342

**СИНАПТАМИД ПРЕПЯТСТВУЕТ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ
ГИППОКАМПА И АКТИВАЦИИ ГЛИИ У МЫШЕЙ С ЧЕРЕПНО-
МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ**

Тыртышная А. А., Манжуло О. С., Манжуло И. В.343

**ИССЛЕДОВАНИЕ ДИЕТЫ МОРСКИХ ЛЬВОВ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ КОМПЬЮТЕРНОГО
ЗРЕНИЯ**

Усатов И. А., Бурканов В. Н., 346

**ВИДОВОЙ СОСТАВ ИХТИОПЛАНКТОНА В БУХТЕ
АЛЕКСЕЕВА (ЗАЛИВ ПЕТРА ВЕЛИКОГО, ЯПОНСКОЕ МОРЕ) В
ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2019 И 2020 ГГ.**

*Федорец Ю. В., Еловская О. А., Васильева Л. Е., Косьяненко А. А.,
Жуковская А. Ф. 348*

**ОСОБЕННОСТИ БЕСПОЛОГО РАЗМНОЖЕНИЯ КОРОНАТНЫХ
ПОЛИПОВ *LINUSHE* SP. (CNIDARIA: SCYPHOZOA)**

Хабибулина В. Р., Домрачева М. М., Салова И. А., Нефедова Е. А. 351

**ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ПРОЕКТ "БИОТА РОССИЙСКИХ ВОД
ЯПОНСКОГО МОРЯ": ЧТО ОСТАЛОСЬ ЗА КУЛИСАМИ?**

Чернышев А. В. 353

**ВЛИЯНИЕ ОСНОВНОГО ЧЕРНОМОРСКОГО ТЕЧЕНИЯ НА
БИОЛОГИЮ РАЗВИТИЯ ЧЕРНОМОРСКИХ ЖЕЛЕТЕЛЫХ**

Чудиновских Е. С., Мельников В. В., Силаков М. И. 354

**РОЛЬ FGF-СИГНАЛИНГА В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ
ГЕНОВ РАННЕГО РЕГЕНЕРАТИВНОГО ОТВЕТА У
БЕЛОМОРСКОЙ ПОЛИХЕТЫ *ALITTA VIRENS***

Шалаева А. Ю., Козин В. В. 357

**БЕЛОК ГЕЛЬЗОЛИНОВОГО СЕМЕЙСТВА В ТОНКИХ НИТЯХ
ГЛАДКОЙ МЫШЦЫ МИДИИ ГРЕЯ *CRENOMYTILUS GRAYANUS***

Шевченко У. В. 359

**РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ ERBB В ФОРМИРОВАНИИ ГЛИАЛЬНЫХ
КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И
ХРОМАФИННЫХ КЛЕТОК *DANIO RERIO***

Широков М. П., Дячук В. А. 362

**МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ И ИХ РОЛЬ В
РЕГЕНЕРАЦИИ СТЕНКИ ТЕЛА ГОЛОТУРИИ *EUPENTASTA
FRAUDATRIX***

Шульга А.П., Калачева Н.В., Долматов И.Ю. 364

**СЕРОТОНИН И FMRF-АМИД В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ЛИЧИНОК
ПОЛИХЕТ РОДА *MARENZELLERIA* ИЗ ФИНСКОГО ЗАЛИВА**

Шунькина К. В., Старунова З. И., Старунов В. В. 367

| | |
|---|-----|
| ОСОБЕННОСТИ РАЦИОНОВ КОРМЛЕНИЯ БЕЛУХ <i>DELPHINAPTERUS LEUCAS</i> (PALLAS, 1776) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ СОДЕРЖАНИЯ <i>Щербакова Е.А., Мищенко П.В., Суворова И.В.</i> | 369 |
| ПЕЛАГИЧЕСКИЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ И ПЛОТНОСТЬ ОСЕДАНИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВИДОВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ В ПРИБРЕЖЬЕ ПРИМОРЬЯ <i>Щербакова Н. В.</i> | 371 |
| О «ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ ВРЕМЕНИ» В ЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ КАМБАЛОВЫХ РЫБ С РАЗНОЙ ЭКОЛОГИЕЙ ВОСПРОИЗВОДСТВА <i>Юсупов Р. Р.</i> | 375 |
| НОВОСТИ МОРФОЛОГИИ НЕМАТОД: фолликулярный оогенез и аутономия <i>Юшин В. В., Клайс М., Берг В.</i> | 378 |

МОРФО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШИ В МОДЕЛИ КОНТРОЛИРУЕМОГО КОРТИКАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Августинович Ф.К., Манжуло И.В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, avgustinovich.fk@students.dvfu.ru*

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) представляет комплексную патологию. Морфо-химическая характеристика с использованием методов иммуногистохимии позволяет выявить основные паттерны динамики патологических процессов, лежащих в основе ЧМТ. В работе представлена макроморфологическая и иммуногистохимическая характеристики данной травмы с точки зрения динамики активности клеток нейронального (ATF3), моноцитарно-макрофагального (Iba-1, CD68, MHC II) и астроглиального (GFAP и виментин) рядов.

Работа выполнена на 21 самце мышей линии C57BL/6 3-месячного возраста со средним весом 2830 г. ЧМТ сформирована с помощью специализированного прибора путем нанесения контролируемого кортикального повреждения (ККП). Для гистологической и иммуногистохимической характеристик травматического повреждения головной мозг экспериментальных животных получали на 1, 3, 7, 14, 28 и 56 день после ККП. Для гистологического анализа применяли красители гематоксилин-эозин и толуидиновый синий по стандартной методике (Fischer et al., 2008). Для иммуногистохимического анализа использовали иммунопероксидазный метод окрашивания с анализом маркеров клеток нейронального (ATF3), моноцитарно-макрофагального (Iba-1, CD68, MHC II) и астроглиального (GFAP, виментин) рядов. Полученные в результате световой микроскопии изображения обрабатывали в программе ImageJ (NIH, Bethesda, MD, США). Данные представляли как средние значение \pm SEM. Данные подвергались статистическому анализу (парный t-тест Стьюдента). Значение $p < 0.05$ указывает на статистически значимое различие. Все статистические тесты выполнены с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США). На рисунке 1 представлена макроморфологическая динамика последствий ЧМТ с 1 по 56 день эксперимента.

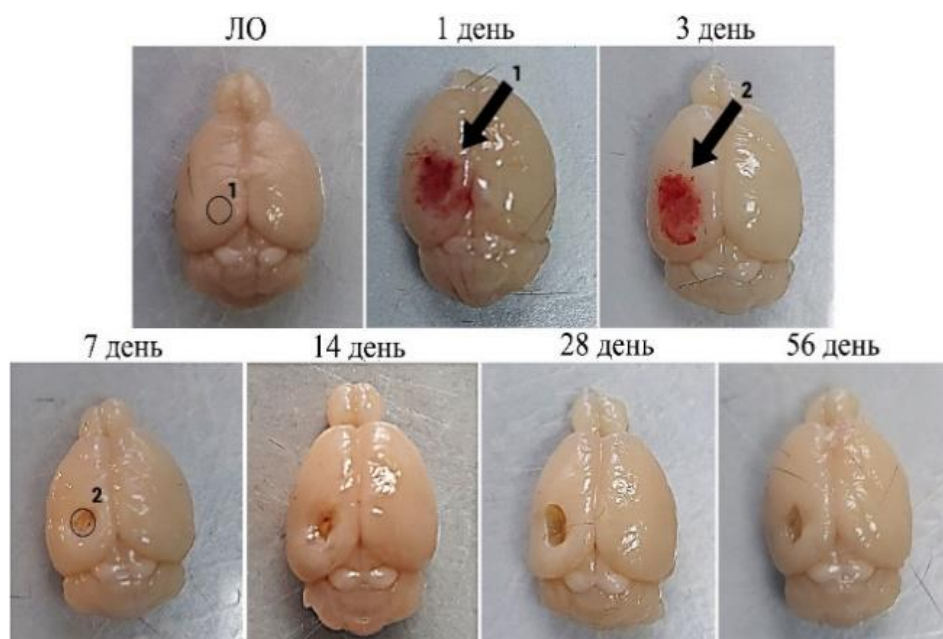


Рис. 1. Макроморфологическая динамика последствий ЧМТ во временном аспекте. Окружность с цифрой 1 – зона ККП, с цифрой 2 – травматическая полость. Стрелочками с цифрами 1 и 2 указаны области гемморагии.

В таблице 1 обобщены численные значения динамики активности использованных иммуногистохимических маркеров.

Таблица 1. Количественная динамика активности маркеров во временном аспекте (данные представлены как среднее значение±SEM, значимые различия с группой ложнооперированных животных (ЛО) при *p<0.5, **p<0.01, ***p<0.001)

| Маркер | ЛО | 1 день | 3 день | 7 день | 14 день | 28 день | 56 день |
|-----------------------------------|----------------|------------------|-------------------|-------------------|---------------|---------------|------------------|
| АТФ3 (клеток/мм ³) | 0 | 3103± 576*** | 3103± 723*** | 1579±553** | 1047±414** | 1065±305** | 0 |
| Iba-1 (%) | 1.16± 0.01 | 2.5± 0.13*** | 9.1± 0.49*** | 9.6±0.86*** | 13.3±1.4*** | 11.7±1.8*** | 5.6±0.86*** |
| CD-68 (%) | 0.09± 0.007 | 0.1±0.77* | 3.01± 0.26*** | 4.79±1.39** | 11.43±2.32*** | 2.88±0.48*** | 0.88±0.21*** |
| МНС II (%) | 0.02± 0.001 | 1.94± 0.37*** | 4.55± 0.89*** | 0.08±0.02** | 0.07±0.02* | 0.03±0.01* | 0.08±0.08* |
| GFAP (%) | 0.07± 0.009 | 11.3± 2.59*** | 22.38± 1.14*** | 5.92± 0.89*** | 7.06±0.94*** | 3.95±0.38*** | 3.26± 0.55*** |
| Виментин (%) | 0.07± 0.009 | 0.44± 0.09*** | 16.86± 0.75*** | 12.39± 1.07*** | 24.06±2.15*** | 15.55±2.79*** | 5.51± 1.23*** |

Полученные данные указывают на постепенное затухание процессов регенерации, отражённых в активности АТФ3, с 1 по 56 день эксперимента, что также совпадает с уменьшением выраженности геморрагии и увеличением травматической полости. Провоспалительная активность, фиксируемая в показателях Iba-1, CD68 и МНС II, демонстрирует постепенное возрастание, с пиком на 3 (МНС II) и 14 (Iba-1, CD68) день, соответственно. Особое внимание обращает на себя почти полное снижение активности МНС II-положительных клеток к концу первой недели после ЧМТ. Астроглиальная активность, свидетельствующая о процессах реактивного астроглиоза, максимальна на 3 (GFAP) и 14 (виментин) день, соответственно. Полученные данные позволяют более точно определить границы терапевтического окна, в течение которого фармакологическая интервенция, влияющая на про- и противовоспалительные аспекты ЧМТ, была бы наиболее обоснована.

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИНТЕГРИН-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ КАК ОДНОГО ИЗ МАРКЕРОВ КОНТРОЛЯ СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК МОЛЛЮСКОВ ПОСЛЕ ЦИКЛА ЗАМОРАЖИВАНИЯ – ОТТАИВАНИЯ

Агеенко Н.В.¹, Киселев К.В.², Одинцова Н.А.¹

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, natkiuprina@mail.ru, nelodin@mail.ru

²Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток, kkv5@mail.ru

Интегрин-подобные белки связаны с цитоскелетом у моллюсков и при нарушении адгезии их клеток, вызванной специфическими и неспецифическими агентами, происходят изменения в уровне экспрессии генов β -интегрин-подобных белков, в количестве и распределении клеток, экспрессирующих эти белки (Bassim et al., 2014; Майорова, 2015).

Оценка таких изменений может быть использована для анализа состояния клеток моллюсков после внешних воздействий. Для получения этой информации необходимо выяснить количество генов, кодирующих интегрин-подобные белки у моллюсков.

Мы секвенировали ранее подготовленные библиотеки кДНК, полученные из личинок различных стадий развития мидии *Mytilus trossulus*, и из некоторых органов и клеток взрослых моллюсков на секвенаторах следующего поколения Miseq и Hiseq (Illumina, США) (Майорова, 2019). В результате в личинках и во взрослых тканях мидии было идентифицировано четыре полноразмерных транскрипта, кодирующих последовательности, гомологичные β -интегрину. Вероятно, эти транскрипты являются изоформами двух генов В-а и В-б.

Изоформы В-а1 и В-а2 отличаются на одну вставку длиной в 24 н.п. в белок-кодирующей области. Вероятно, эти две изоформы представляют собой продукты альтернативного сплайсинга одного гена. Второй ген В-б представлен тоже двумя изоформами В-б1 и В-б2, но они отличаются небольшими вставками в белок-некодирующей области. Возможно, что существование этих двух изоформ является следствием аллельного разнообразия гена В-б.

Для подтверждения результатов секвенирования нами был проведен анализ полученных нуклеотидных последовательностей, а затем разработаны специфические праймеры для оценки экспрессии генов интегрин-подобных белков мидии *M. trossulus* методом ПЦР в режиме реального времени.

Проведено исследование уровня экспрессии генов интегрин-подобных белков в культуре клеток до и после замораживания – оттаивания в присутствии проникающих – диметилсульфоксида (Me_2SO) и этиленгликоля EG, и непроникающих – дисахарида трегалозы (Tr) и поливинилпирролидона (PVP) криопротекторов.

Замораживание в присутствии проникающего криопротектора EG приводило к существенному снижению уровня экспрессии гена B-a и увеличению уровня экспрессии гена B-b. Использование смеси из проникающих криопротекторов – Me_2SO и EG, и непроникающих криопротекторов – Tr и PVP, приводило к незначительному уменьшению уровня экспрессии тестируемых генов B-a и B-b.

Лучшим криопротектором является 5% Me_2SO , поскольку в этом случае уровень экспрессии обоих генов был близок к таковому в незамороженных интактных клетках. Полученные данные аналогичны результатам, полученным ранее цитометрическими и цитологическими методами.

**ТОПОГРАФИЯ ГАНГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК И
ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАЗРЕШЕНИЕ СЕТЧАТКИ У ЖЕЛТОГО
АПОГОНА-БАБОЧКИ *SPHAERAMIA NEMATOPTERA* (BLEEKER,
1856) (PISCES: KURTIFORMES: APOGONIDAE)**

Алескеров Н.Р.о., Пуцин И.И.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,*

г. Владивосток, aleskerovnaig@gmail.com

Нервная система и органы чувств играют важную роль в адаптации животных к окружающей среде. Наиболее значимой является зрительная система. Она оказывает существенное влияние на адаптацию к условиям среды, в частности, во внутри- и межвидовой коммуникации, в реакциях защиты, поисках пищи и половом поведении.

Зрительные системы позвоночных обнаруживают большое структурно-функциональное разнообразие, обусловленное как особенностями зрительной среды, так и особенностями зрительно-обусловленного поведения животного (de Busserolles, Marshall, 2017). В частности, сетчатка глаза позвоночных разных видов отличается по топологии нейронов и ненейрональных элементов, по их морфо-функциональным особенностям и пространственному распределению (Hauser, Chang, 2017).

Изучение особенностей структурно-функциональной организации зрительной системы, в частности топографии нейронов сетчатки, и её взаимосвязи с особенностями биологии конкретного вида представляет большой теоретический и прикладной интерес. Несмотря на большое число работ по топографии ганглиозных клеток (ГК) и остроте зрения у костных рыб, многие группы остаются в этом отношении малоизученными.

Материалом для данной работы послужили взрослые особи *Sphaeramia nematoptera* (сем. Apogonidae). Это ярко окрашенные рыбы с крупными красными глазами, распространённые в западной части тропической зоны Тихого океана. Обитают в защищённых коралловых рифах на глубине от 1 до 14 м. Ведут ночной образ жизни, питаются зоопланктоном, охотясь вблизи дна (Randall et al., 1998).

Тотальные препараты сетчатки были приготовлены и окрашены с помощью красителя DAPI и исследованы с помощью лазерной конфокальной микроскопии. Количество клеток в слое ганглиозных клеток (СГК) и внутреннем сетчатом слое (ВСС) было рассчитано по серии конфокальных изображений, полученных в полях размером 106.5

на 106.5 мкм. Сканировали с использованием длины волны 461 нм. В каждом отсканированном поле количество клеток подсчитывали с помощью программного обеспечения CellProfiler.

Для оценки доли неганглиозных клеток в ВСС и СГК были получены и проанализированы коллекции тотальных препаратов сетчатки, окрашенные по Нисслю. Клетки наблюдали и изучали с помощью инвертированного сканирующего микроскопа. Нами было рассчитано пространственное разрешение (ПР), исходя из значений пространственной плотности (ПП) ГК, задненодального расстояния (ЗНР). Для оценки ЗНР и других параметров глазной оптики использовали компьютерную томографию.

Нами была рассчитана доля неганглиозных элементов, которая составила 23.9%. Количество ГК в сетчатке жёлтого апогона-бабочки, составило от 567445 до 890199 (SN 3R – 595247, SN 7.2R – 567445, SN 4.1R – 890199).

У всех особей *S. nematoptera* наблюдалась умеренно выраженная зрительная полоска (ЗП), расположенная под небольшим углом к экватору сетчатки. У всех трёх особей ПП ГК достигала максимума в области оптического диска и варьировала от 11400 до 12400 кл/мм² (3R – 11400, 7.2R – 11500, 4.1R – 12400 кл/мм²). Минимальная плотность ГК была зарегистрирована в области вентроназальной периферии (3360, 2580, 4220 кл/мм², соответственно). Максимальное пространственное разрешение у апогона-бабочки варьировало от 8.65 до 9.07 циклов на градус.

S. nematoptera – планкто- и бентофаги. Они преимущественно ночные хищники, хотя порой охотятся и в дневное время (Randall et al., 1998). Мы полагаем, что выраженная ЗП с пиками ПП ГК в её центральной части позволяет апогону эффективно обозревать горизонт и обеспечивает раннее обнаружение объектов в латеральной монокулярной зоне без демаскирующих движений глаз или головы, равно как и детекцию объектов в передней бинокулярной зоне зрительного поля, как в случае ряда других видов костных рыб (Caves et al., 2017). Это объясняет отсутствие выраженных специализированных зрительных зон концентрического типа и вариабельность положения пиков ПП ГК в пределах ЗП.

Установленное в данной работе максимальное ПР соответствует горизонту обнаружения добычи миллиметрового размера в 98–102 см. По нашим оценкам, особи своего вида могут быть обнаружены на расстоянии минимум в несколько метров, что вполне отвечает биологии вида и эффективному расстоянию между особями в группе (Rueger et al., 2016). Оно также может обеспечить эффективное распознавание потенциальных хищников (включая рыб), что важно для ассортативного агрегационного поведения апогонов в убежищах (Gardiner, Jones, 2005).

В то же время, необходимо отметить, что реальный горизонт обнаружения добычи может быть несколько меньше, поскольку определяется не только теоретическим пределом анатомического разрешения сетчатки, но и другими факторами (мутность воды, уровень освещённости, сложность зрительной среды, подвижность добычи и т.д.), а также не предполагает обязательное участие всех ГК в пищедобывающем или половом поведении, т.е. распознавании мелких объектов и/или деталей среды.

Полученные нами результаты углубляют наше понимание биологии апогона-бабочки, в частности, его зрительно-обусловленного поведения. Они также могут быть использованы в сравнительно-филогенетических исследованиях для моделирования особенностей топографии нейронов сетчатки и анатомического разрешения у предковых форм костных рыб, а также для выявления роли отдельных факторов среды в их эволюционных преобразованиях в разных группах.

Хотим выразить искреннюю благодарность базе ЦКП "Приморский океанариум" ННЦМБ ДВО РАН за предоставленную возможность выполнить работу на лазерном конфокальном микроскопе.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МАСТЕРСКАЯ «ХРАНИТЕЛИ МОРЯ»: ОПЫТ РАБОТЫ С ДЕТЬМИ 8-9 ЛЕТ НА БАЗЕ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА

Алёшина А.В.

*«Приморский океанариум» – филиал ННЦМБ ДВО РАН, г. Владивосток,
aleshina_av@primoceaan.ru*

Одной из актуальных тем, требующих особого внимания, остаётся проблема взаимоотношения человека с окружающей средой, которая не решается только законами и запретами. Большое значение в решении этой проблемы отводится формированию экологической культуры у населения посредством образования, воспитания и экологического просвещения.

В рамках нашей темы мы остановимся на возрастной категории 8-9 лет (начальная школа). В этом возрасте начинает проявляться не только любовь к природе, но и постепенно приходит понимание бережного отношения к ее богатствам. В рамках воспитания экологической культуры в условиях Приморского океанариума большое значение имеет системное выстраивание встреч с детьми, направленное на поэтапное погружение ребенка в изучение природного мира, в том числе и близлежащего окружения (изучение животного и растительного мира побережья Японского моря).

Для этих целей уже несколько лет реализуется проект «Растём в океанариуме», состоящий из 6 возрастных ступеней. Экологическая мастерская «Хранители моря» – вторая ступень проекта (возраст детей 8-9 лет), начала свою работу в 2018 году. Целью программы является создание условий для понимания ребенком того, как выстраиваются взаимоотношения между человеком и природой. Данный рассматриваемый аспект непосредственно влияет на повышение уровня экологической культуры у детей этой возрастной ступени. Эколого-просветительская программа рассчитана на один год. Воспитанники, которые приходят на вторую ступень после прохождения программы эколого-биологической студии «Белек» (1 ступень проекта – 6-7 лет), уже знакомы с особенностями профессий специалистов-практиков, работающих в Приморском океанариуме, знают об образе жизни многих живых организмов, связанных с разными средами обитания.

В содержание второй ступени включены новые темы, которые раскрывают вопросы влияния различных экологических факторов на живой организм. Сочетая теоретическую часть с практическим опытом, воспитанникам легче осваивать сложный материал. Перед тем как

рассматривать различные формы воздействия человека, которые приводят к изменению природы как среды обитания, сначала воспитанникам предлагается разобраться, как влияют элементы неживой природы на живые организмы и рассмотреть различные типы внутривидовых и межвидовых взаимоотношений.

Формы организации работы с детьми разнообразны: занятия, экскурсии, квесты, лабораторные практикумы и др. Важное место в просветительском процессе занимают дидактические игры, дискуссии между детьми, совместные поездки, экологические акции, встречи со специалистами Приморского океанариума. Согласно отзывам родителей воспитанников экологической мастерской, отмечается интересный, увлекательный и нестандартный творческий подход в изложении материала, что делает занятия живыми и самобытными для детей данного возраста.

Исходя из проделанной работы, мы выявили, что от поэтапного выстраивания процесса подачи познавательного материала, на основе использования ресурсов Приморского океанариума, детей легче заинтересовать и погрузить в тематику занятий. Для проверки знаний лучше использовать не тесты или опросы, а экологические викторины с элементами игр. Это дает педагогам отдела просвещения представление об усвоении воспитанниками пройденного материала. При таком подходе дети чувствуют себя более комфортно и с интересом используют полученные знания.

Важным аспектом в экологическом просвещении играет вовлечение родителей в воспитательный процесс. Для этого был разработан сайт, где дети могут самостоятельно вспомнить пройденный материал, поделиться с родителями впечатлениями от занятия и совместно найти ответы на предложенные вопросы.

Наиболее эффективной формой на очных встречах с детьми были экологические игры. Например, одна из них «Нити жизни» была направлена на понимание воспитанниками взаимосвязи живых систем в природе. Показательной стала дискуссия, на которой разбирали проблему взаимодействия человека со средой обитания. Изначально воспитанники делились своими знаниями, и всё сводилось только к отрицательным последствиям человеческой деятельности. Однако, просматривая совместно видеofilмы, обсуждая разные сценарии экологических ситуаций с детьми, мы наблюдали, как начинают меняться взгляды детей на ситуацию. После эмоциональных высказываний, дети начинали предлагать свои варианты решения экологических проблем, а главное, пришли к выводу, что всё-таки люди предпринимают разные попытки для исправления своих же ошибок. Далее, посредством обсуждений, мы выходили к мерам, которые должен

предпринимать каждый человек для уменьшения вреда окружающей среде и на своем примере вдохновлять других на подобные действия.

Существенное влияние на воспитанников оказало участие их в станционных маршрутах в рамках эколого-просветительских праздников, совместное участие в акциях по уборке прибрежной зоны водозабора и сохранению популяции тихоокеанского лосося во время выпуска мальков кеты в реку Рязановка.

Таким образом, многолетний опыт выстраивания поэтапного процесса включения ребёнка в содержание второй ступени проекта «Растём в океанариуме» показал, что эта ступень является смысловой основой понимания природных взаимосвязей детьми для перехода на третью ступень – «Ихтиоклуб», в рамках которой участники будут учиться создавать собственные искусственные экосистемы.

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ В УСЛОВИЯХ АДАПТАЦИИ К ДЕФИЦИТУ КИСЛОРОДА

Андреева А.Ю., Кладченко Е.С., Кухарева Т.А.

*Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, г.
Севастополь,
andreevaal@gmail.com*

Иммунная система двустворчатых моллюсков основана на врожденных реакциях, реализуемых путем клеточного и гуморального ответов (Song et al., 2010). В последние годы, в вопросах иммунологии беспозвоночных животных особое внимание уделяется вопросам энергетических трат организма на поддержание фоновой активности иммунной системы, а также на реализацию клеточных и гуморальных защитных реакций в ответ на инвазию патогенов. В отношении клеточных иммунных реакций наиболее энергозатратными считаются процессы, связанные с миграцией клеток к месту инвазии патогенов, фагоцитоз и продукция цитотоксических молекул. Хотя гемоциты являются центральным компонентом иммунной системы, в настоящий момент практически не исследованы клеточные механизмы адаптации двустворчатых моллюсков к абиотическому стрессу, а также внутриклеточные перестройки энергетического обмена в период воздействия неблагоприятных условий среды. В особенности это касается факторов, снижающих общий уровень энергетического обмена двустворчатых моллюсков, таких как гипоксия. Недостаток кислорода может косвенно влиять на энергетический обмен организма моллюсков вследствие индукции окислительного стресса (Abele et al., 2007; Diaz, Rosenberg, 2008), а также напрямую воздействовать на клетки, приводя к повышению их энергетических потребностей в период восстановления нормального кислородного режима (Lewis et al., 2007; Kurochkin et al., 2009).

Цель настоящей работы – исследовать влияние гипоксии на интенсивность клеточного дыхания и показатели клеточного иммунитета Средиземноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis*), гигантской устрицы (*Magallana gigas*) и анадары Броутона (*Anadara broughtonii*). Для изучения были выбраны эти три вида двустворчатых моллюсков, характеризующихся различной степенью толерантности к гипоксии, а также имеющих важное промысловое значение в России. По окончании периода акклиматизации к лабораторным условиям, экспериментальную гипоксию создавали в герметичных пластиковых аквариумах. Моллюски каждого вида были случайным образом

разделены на контрольную (нормоксия) и экспериментальные группы (гипоксия 24 ч, гипоксия 72 ч) и размещались в аквариумах с плотностью посадки 3–5 особей на 10 л воды. В экспериментальных аквариумах концентрацию растворенного кислорода поддерживали на уровне менее 2 мг O₂ л⁻¹. По окончании экспериментального периода воздействия гипоксии проводили забор гемолимфы. Уровень спонтанной (нестимулированной) продукции АФК гемоцитами моллюсков анализировали на основании интенсивности флуоресценции клеток, окрашенных красителем диацетат 2'-7'-дихлорофлуоресцеина (2',7'-Dichlorofluorescein Diacetate, DCF-DA). Изменения величины мембранного потенциала митохондрий оценивали на основании уровня флуоресценции гемоцитов, окрашенных флуоресцентным зондом Родамин 123 (Rhodamine 123, Rh123). Rh123 – липофильный катионный флуоресцентный краситель, избирательно накапливающийся в митохондриях и широко применяющийся для оценки величины мембранного потенциала клеток животных (Li et al., 2020).

Для оценки способности гемоцитов фагоцитировать чужеродные частицы применяли флуоресцентный зимозан (Phagocytosis Assay Kit, Abcam), а также флуоресцентные латексные частицы (диаметр частиц 3.95 мкм и 0.5 мкм). Оценку фагоцитарной активности гемоцитов проводили при помощи конфокальной микроскопии и проточной цитометрии согласно протоколу производителя.

В работе установлено, что типы гемоцитов, играющие ведущую роль в реализации иммунных функций двустворчатых моллюсков (гранулоциты мидий и устриц, амeboциты анадар), обладали достоверно более высокой интенсивностью клеточного дыхания. Показано, что величина мембранного потенциала митохондрий была больше в клетках гемолимфы, характеризующихся более интенсивной спонтанной продукцией АФК и фагоцитарной активностью. Гипоксия оказывала существенное воздействие на маркерные показатели клеточного иммунитета всех трех исследованных видов моллюсков, а также интенсивность их клеточного дыхания. Кратковременный недостаток кислорода (24 ч) был ассоциирован с ростом спонтанной продукции АФК в агранулоцитах и гранулоцитах устриц и угнетением ее во всех типах гемоцитов анадар. Длительная экспериментальная гипоксия (72 ч) снижала продукцию АФК в клетках гемолимфы устриц, однако, приводила к восстановлению исходной концентрации АФК в гемоцитах анадары. У мидий не отмечено достоверных изменений в уровне продукции АФК. При этом достоверных различий в фагоцитарной активности гемоцитов устриц не выявлено ни на одном из этапов гипоксии, а у анадар, напротив, происходило угнетение фагоцитоза в период гипоксии.

В период экспериментальной гипоксии изменения маркерных показателей иммунитета сопровождались достоверными колебаниями интенсивности их клеточного дыхания. Так, кратковременный недостаток кислорода стимулировал дыхание в агранулоцитах устриц и достоверно ингибировал его в клетках гемолимфы анадар. Длительная гипоксия приводила к снижению величины мембранного потенциала гемоцитов у всех трех видов моллюсков.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что функциональное состояние гемоцитов двустворчатых моллюсков в значительной степени определяет эффективность их клеточных иммунных реакций. Установлено, что, аналогично позвоночным животным, поддержание базового уровня клеточной иммунной защиты в гемоцитах двустворчатых моллюсков требует высокого уровня продукции АТФ. Об этом свидетельствуют более высокие величины мембранного потенциала митохондрий в специализированных иммунных клетках всех исследованных видов: в гранулоцитах мидий и устриц и амебоцитах анадар. Таким образом, в сравнительно эволюционном аспекте прослежена тонкая взаимосвязь между интенсивностью клеточного дыхания и функционированием иммунной системы у беспозвоночных и позвоночных животных. Установлено также, что реализация иммунных функций организмом в период гипоксии является одной из приоритетных трат для двустворчатых моллюсков.

РАЗВИТИЕ ПАЛЕОАННЕЛИДЫ *GALATHOWENIA OCULATA* ПОМОГАЕТ РЕКОНСТРУИРОВАТЬ ЭВОЛЮЦИЮ ЛИЧИНКИ-МИТРАРИИ

Андропова Е.И.¹, Краус Ю.А.^{1,2}, Римская-Корсакова Н.Н.¹,
Воронежская Е.Е.²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, г. Москва, comatrighandronova@gmail.com (Е.И.), yulia_kraus@mail.ru (Ю.А.), nadezdarkorsakova@gmail.com (Н.Н.)

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва, elena.voronezhskaya@idbras.ru (Е.Е.)

Аннелиды – крайне разнообразная группа с точки зрения как морфологии взрослых животных, так и жизненных циклов и личиночных форм. Очень мало известно о том, как у аннелид происходила эволюция личинок. Много для понимания этой проблемы дает изучение развития представителей палеоаннелид – сестринской группы по отношению ко всем остальным современным аннелидам. К палеоаннелидам относятся группы Magelonidae и Oweniidae (Weigert, Bleidorn, 2016). Для жизненного цикла овениид характерна очень необычная планктонная личинка – митрария, не встречающаяся у других аннелид (Purschke et al., 2019). Митрария представляет собой сильно видоизмененную трохофору. Её эписфера (отдел тела выше прототроха) увеличена и образует "капюшон". При этом гипосфера личинки (отдел тела ниже прототроха) редуцирована. Кроме того, важной чертой митрарии являются пучки длинных щетинок, с помощью которых личинка "парит" в толще воды. Информация о развитии овениид ограничивается данными, полученными всего для двух видов: *Owenia fusiformis* Delle Chiaje, 1844 (Wilson, 1932; Carrillo-Baltodano et al., 2021) и *O. collaris* Hartman, 1955 (Smart, von Dassow, 2009). Чтобы расширить представления о развитии овениид и реконструировать эволюцию их личинки нами было проведено исследование еще одного представителя этой группы – *Galathowenia oculata* (Zachs, 1923).

Сбор материала проводили в окрестностях Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова. Взрослых червей *G. oculata* добывали со дна моря с помощью трала. После извлечения червей из трубок и получения гамет было поставлено искусственное оплодотворение. Культивацию эмбрионов проводили в стерильной морской воде при 10.5°C до стадии ранней митрарии. Более зрелые митрарии были собраны в окрестностях биостанции с помощью планктонной сетки. Таблица нормального развития была составлена на

основе данных световой микроскопии. Детали строения различных стадий были изучены с помощью иммуноцитохимии в сочетании с конфокальной микроскопией, а также гистологии (исследования полутонких срезов), сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии.

Как и для других овениид, для *G. oculata* характерно спиральное гомоквадрантное равномерное дробление (0–20 ч после оплодотворения, ч.п.о.), которое завершается формированием целобластулы. С 29 по 54 ч.п.о. происходит гастрюляция путем инвагинации. К 65 ч.п.о. у эмбриона формируются две мезодермальные полоски и в это же время начинается развитие личиночных щетинок. Со 100 до 120 ч.п.о. происходит выход ранней митрарии из оболочки оплодотворения. К этому моменту у личинки уже развит апикальный султан ресничек, а также прототрох. В состав прототроха *G. oculata*, в отличие от всех остальных овениид, входят полицилиарные клетки.

Нами был детально изучен процесс формирования щетинок, или хетогенез, у митрарии *G. oculata*. На ультраструктурном уровне этот процесс не отличается от формирования капиллярных щетинок у взрослых аннелид. Каждая щетинка формируется одной клеткой-хетобластом с помощью её микроворсинок. В формировании щетинок у митрарии также участвуют фолликулярные клетки. Сама щетинка митрарии *G. oculata* по своему внутреннему и внешнему строению идентична щетинкам взрослого червя *O. fusiformis*. Важнейшим отличием хетогенеза митрарии *G. oculata* от хетогенеза, описанного для остальных аннелид, является природа хетобласта. Согласно полученным нами данным, хетобласт митрарии *G. oculata* имеет мезодермальное происхождение, тогда как хетобласт остальных аннелид дифференцируется из эктодермы (Hausen, 2005).

Управление такими длинными щетинками, какие наблюдаются у зрелой митрарии, было бы невозможно без хорошо развитой мускулатуры. Мускулатура зрелых митрарий очень разнообразна. Нами были обнаружены мускульные клетки щетинконосных мешков, мышца-диварикатор щетинконосных мешков с выраженной поперечной исчерченностью, а также глоточные мышцы. Кроме того, в клетках эктодермы капюшона мы обнаружили мощные тяжи актиновых микрофиламентов, помогающих митрарии менять форму и объем капюшона. Наличие эктодермальной мускулатуры у митрарий овениид ранее не было описано.

Полученные нами данные существенно расширяют сложившиеся представления о развитии овениид. Кроме того, они позволили нам выдвинуть ряд предположений, касающиеся эволюционной трансформации плана строения личинки-трохофоры в план строения личинки-митрарии.

ПЕРВОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ КОПУЛЯТИВНОГО ОРГАНА У САМЦА МОРСКОЙ ТИХОХОДКИ *HALOBIOTUS STENOSTOMUS***Банникова М.А.¹, Бисерова Н.М.^{1,2}**¹*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, bannikova_mariya_96@mail.ru*²*Казанский Приволжский федеральный университет, г. Казань*

Halobiotus stenostomus (тип Tardigrada) вторично морская тихоходка, один из пяти видов рода *Halobiotus*, относится к классу Eutardigrada, отряду Parachela, семейству Halobiotidae (Degma, Guedetti, 2022). Впервые вид был описан немецким зоологом Фердинантом Рихтерсоном в 1908 г. как *Macrobiotus stenostomus* (Richters, 1908). Обитает на литорали и в сублиторали, в песке или водорослях (Ramazzotti, Maucsi, 1983). Встречается в Балтийском, Черном, Северном, Норвежском, Белом морях и в Тихом океане (Kaszmarek, 2015). Откладывает яйца в старую кутикулу.

Известно, что для тихоходок характерны различные типы полового размножения, такие как амфимиксис, самооплодотворение и телитокозный партеногенез (апомиксис и аутомиксис) (Altiero et al., 2018; Nelson et al., 2018). Среди тихоходок встречаются гонохористы (двуполые или однополые) и гермафродиты. Половая система состоит из непарной гонады (яичник, семенник, овотестис) и половых протоков – двух у самцов и одного у самок. Встречаются также гермафродиты. Половые протоки открываются наружу – у Heterotardigrada через гонопор, у Eutardigrada через клоаку. У некоторых видов описаны семеприемники у самок и семенные пузырьки у самцов (Nelson et al., 2018). На основании морфологии сперматозоидов было высказано предположение, что для гетеротардиград характерно наружное оплодотворение, на что также указывает наличие у самок наружных семеприемников в кутикуле на значительном расстоянии от женского гонопора. У эутардиград отмечено специализированное строение сперматозоидов и наличие внутренней эпителиальной сперматеки, связанной с прямой кишкой, что может рассматриваться как приспособление к внутреннему оплодотворению (Altiero et al., 2018; Nelson, et al., 2018).

В современной научной литературе отсутствуют сведения о наличии копулятивных органов у самцов Tardigrada, что не позволяет сделать заключение о наличии у них внутреннего оплодотворения. В литературных источниках присутствует описание клоаки у представителей близкого вида *Halobiotus crispae* на разных стадиях цикломорфоза без указания пола животного (Møbjerg et al., 2007; Halberg et al., 2009).

В этой связи в июне 2022 г. были собраны пробы тихоходок в приливной зоне о-ва Оленевский (Кандалакшский залив Белого моря) на глубине около 10 см из песчаного грунта. Для расслабления животных помещали в пресную воду на 1–2 мин. Для сканирующей электронной микроскопии образцы фиксировали в 4% формалине, нейтрализованном CaCO_3 . После стандартной процедуры промывки и дегидратации, образцы высушивали в критической точке с использованием CO_2 (“HCP-2 Critical Point Dryer”, Hitachi, 1980), напыляли золото-палладиевой смесью (EIKO IB- 3 Ion Coater, 1980) и исследовали с помощью СЭМ Thermo Fisher Scientific Quattro S. Для исследования на конфокальном лазерном флуоресцентном микроскопе (CLSM) и иммуноцитохимического анализа пробы фиксировали в 4% параформе на 0.1 М натрий-фосфатном буфере, при pH 7.4, подвергали воздействию ультразвука в течение 40 и 50 сек, содержали в растворе 7% Triton X100 на 0.1 М натрий-фосфатном буфере с добавлением 0.03% NaN_3 в течение двух суток. Препараты окрашивали DAPI на 0.1 М натрий-фосфатном буфере, в концентрации 1:500, заключали в глицерин с добавлением 2.5% DABCO и просматривали под лазерным сканирующим конфокальным микроскопом Nikon A1.

В пробах были обнаружены взрослые особи *H. stenostomus* размером от 300 до 450 мкм. При разборе проб были обнаружены особи с выступающим придатком на каудальном конце между конечностями 4-й пары.

При исследовании с помощью сканирующего электронного микроскопа у трех особей на вентральной стороне между конечностями 4-й пары был обнаружен выступающий кутикулярный орган цилиндрической формы, оканчивающийся апикальным отверстием. Размеры данного органа составляли около 34 мкм в длину и около 10 мкм в диаметре. Апикальный конец имеет отверстие. У одного из трех особей вокруг апикального отверстия наблюдался выброс секреторного материала.

Также были обнаружены 4 особи с клоакой между 4-й парой конечностей, представленной правильным кругом, внутри которого располагается щелевидное отверстие T-образной формы, окруженное массивными кутикулярными утолщениями.

Две особи были исследованы методом CLSM. Интенсивная окраска DAPI была выявлена в ядрах клеток большинства органов тихоходки. На спинной стороне тела над кишечником была обнаружена мужская гонада мешковидной формы, заполненная мужскими половыми клетками на разных стадиях развития. От каудального конца гонады к заднему концу тела отходят два семявыносящих протока, огибающих задний отдел кишечника и переходящих в семенные пузырьки, также заполненные сперматозоидами.

Таким образом, в июне 2022 г. была обнаружена популяция *H. stenostomus* включающая многочисленных самцов со зрелыми мужскими

гонадами и выступающим копулятивным органом между конечностями 4-й пары. Размеры копулятивного органа (34x10 мкм) позволяют наблюдать его под биноклем. Обнаруженные в гонаде сперматиды и сперматозоиды позволяют сделать вывод о том, что для *H. stenostomus* характерна непрерывная модель (continuous pattern) созревания мужских половых клеток (по: Rebecchi, Bertolani, 1994). Ранее для близкого вида *H. crispae*, исследованного на разных стадиях развития, было дано описание клоаки на разных стадиях цикломорфоза (Møbjerg et al., 2007; Halberg et al., 2009). Пол животных при этом не указан. У особей *H. stenostomus* внешнее строение клоаки не отличалось от клоаки, описанной в литературе для *H. crispae*. Особи с круглой клоакой отнесены нами к самкам. Обнаруженные структуры подтверждают наличие в популяции самцов с цилиндрическими копулятивными органами и самок, что свидетельствует в пользу гипотезы внутреннего оплодотворения у *H. stenostomus*.

Исследования выполнены в рамках гос. темы № 16-1-21 и реализации Программы развития КФУ на 2021–2030 гг. “Приоритет-2030”.

ИСКУССТВЕННОЕ ВОСПРОИЗВОДСТВО ТЕТРЫ КЕРРИ (*INPAICHTHYS KERRI*) В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА

Баранов А.Ю., Суюндуков А.Д.

«Приморский океанариум» – филиал ННЦМБ ДВО РАН, г. Владивосток,
baranoff.art@yandex.ru.

Почти все гидробионты, которых обычно содержат в аквариумах, разводятся и доставляются самолетами из тропических стран – Таиланд, Бразилия, Вьетнам, Индонезия, обладающих особыми климатическими условиями. Большинство привозных видов рыб выращиваются в открытой воде бассейнов или даже в природных водоемах. Условия и параметры воды в аквариуме никогда полностью не приблизятся к параметрам воды в пруду или в другом открытом водоеме.

Очень часто привозная рыба имеет генетические уродства или отклонения. Это связано со слабым контролем производителей, обеспечить который невозможно в условиях свободного скрещивания рыб в открытой воде водоемов в природных условиях. Часто азиатская рыба приходит больной. В Приморском океанариуме вся привозная рыба в обязательном порядке проходит карантинирование и диагностику на различные виды заболеваний. По результатам диагностики сотрудниками отдела ихтиопатологии Приморского океанариума разрабатывается и проводится лечение.

В 2022 – 2023 гг. в условиях затрудненной логистики остро встал вопрос по импортозамещению поставок гидробионтов. Специалистами Приморского океанариума проводятся работы по освоению и поиску новых методов искусственного разведения необходимых видов гидробионтов. Одним из таких видов является тетра Керри *Inpaichthys kerri* Gery et Junk, 1977.

Inpaichthys kerri относится к монотипическому роду, основой которого является аббревиатура названия бразильского института изучения Амазонки. Видовое название *kerri* авторы дали в честь директора этого института, доктора Варвика Э.Керра. В природе этот вид обитает в верховьях р. Арипуана, размеры гидробионтов - до 5 см. Самцы имеют тело интенсивной фиолетовой окраски, вдоль которого проходит полоса темно-фиолетового цвета. Жировой плавник нежно-васильковый; все плавники с чуть заметным голубоватым отливом. Общий фон тела самок – бежевый с темно-коричневой полоской, жировой плавник буровато-красный. В природе живут в проточной воде,

жесткость которой 1–2°, рН 6–6,8, температура 24–28°C. (Рыбаков О.Э., 2007, 2008).

Целью данной работы было определение оптимальных условий и методов для искусственного разведения *I. kerri* в условиях Приморского океанариума. Исследование проводилось на базе «Приморского океанариума» – филиала ННЦМБ ДВО РАН в Научно-адаптационном корпусе с мая по июнь 2023 г. Для стимуляции нереста рыб разделяли по половому признаку в отсадники размером 15x26x15 см, чему способствовал выраженный половой диморфизм у данного вида. В отсадниках производилась имитация сезона тропических дождей путем понижения уровня воды и температуры с последующим повышением. Откорм производителей для ускорения созревания гонад производился высокобелковым (замороженный гребешок) и живым кормом (дафния, артемия). Нерест производился в стеклянных аквариумах размером 13x23x17 см. На дно аквариума клали рамку по размеру аквариума, толщиной 12 мм, обтянутую сепараторной сеткой с размером ячеек 1 мм. Для определения оптимальной продуктивности нереста использовалась разная рассадка гидробионтов в нерестовых аквариумах: 1 самка 1 самец, 1 самка 2 самца, 1 самка 3 самца. Также использовалась разная вода в нерестовых аквариумах: вода, в которой содержались гидробионты (рН-7.3); вода, полученная методом обратного осмоса (рН-7.0), дистиллированная вода (рН-6.5). Температуру воды поддерживали на уровне 26,5°C. Фильтрация воды в нерестовиках не проводилась. Нерест *I. kerri* проходил в течении суток. Производители, икра и малек содержались в затенённых аквариумах, без попадания прямых солнечных лучей. Инкубация икры продолжалась от 1 до 2 суток.

Для определения оптимальных условий и методов искусственного разведения *I. kerri* сотрудники отдела проводили одновременный нерест гидробионтов в трех аквариумах с одинаковыми показателями воды, с разной рассадкой рыб по аквариумам.

В первый раз стимуляцию нереста проводили в воде, в которой содержались гидробионты (рН – 7.3, t°C – 26,5). Через сутки после начала нереста икра была обнаружена в аквариуме с рассадкой 1:1. Количество икры было небольшое, порядка 20 икринок. В двух других аквариумах икра не обнаружена. Вся икра была белесого цвета, что говорит о ее нежизнеспособности.

Через 10 дней провели повторный нерест гидробионтов, с той же рассадкой. В нерестовых аквариумах использовалась вода, в которой содержались гидробионты и осмотическая вода в соотношении 1:1, температура 26,5°C. Через сутки после начала нереста икра *I. kerri* была также обнаружена в аквариуме с рассадкой 1:1. Количество икры небольшое, около 50 штук. В остальных аквариумах икры не было.

После окончания нереста около 70% икры было белесого цвета. На второй день наблюдалась гибель всей отложенной икры (100%).

В третий раз нерест проводили также с той же рассадкой гидробионтов, что и в предыдущих опытах. В нерестовиках использовалась дистиллированная вода с температурой 26,5°С. Через сутки была обнаружена икра в аквариуме с рассадкой 1:1. Обнаружено около 250 икринок. Остальные аквариумы были без икры. В первые сутки погибло 5% икры. На вторые сутки начался выклев. Выклев продолжался около 1 суток. После выклева мальки сохраняли желточный мешок и в питании не нуждались. Мальки с желточным мешком были малоактивны, держались у дна и стенок. Рассасывание желточного мешка у *I. kerri* длилось 2-3 суток. С целью сохранения качества воды в этот период важно избегать нахождения в аквариуме лишней органики, которая является питательной средой для грибов рода сапролегния *Saprolegnia* и при большом количестве может погубить молодь. Для этого осуществлялись ежедневные подмены воды в количестве 10% от объема аквариума. Подмены выполнялись оборотной водой.

Через 3 суток мальки *I. kerri* начали плавать и самостоятельно питаться. В качестве стартового корма использовалась смесь живых кормов – инфузория туфелька *Paramecium caudatum* и коловратка *Philodina roseola*. Стартовым кормом мальки питались 7 дней. По мере роста мальков стартовый корм сменили на науплию артемии *Artemia salina*. Резко менять корм нежелательно, так как мальки могут отказаться от питания, важно чтобы в аквариуме присутствовал в достаточном количестве как более крупный, так и стартовый вид корма. С начала инкубирования икры и при переходе на новые виды корма гибель мальков не зафиксирована. Была получена жизнестойкая молодь тетры Керри *I. kerri* в количестве более 200 особей.

Таким образом, при искусственном разведении тетры Керри *Inpaichthys kerri* наиболее эффективно показал себя парный нерест гидробионтов с рассадкой 1 самец – 1 самка в дистиллированной водой в нерестовых аквариумах. Оптимальные гидрохимические показатели воды в нерестовых аквариумах составляли рН 6.5, температура 26,5°С.

Авторы выражают благодарность отделу ихтиопатологии Приморского океанариума, а также ЦКП «Приморского океанариума» - сектор культивирования.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ МОРСКИХ МАКРОВОДОРΟΣЛЕЙ

Баркина М.Ю.¹, Баркина Д.Ю.², Баркина Н.В.²

¹Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

²Владивостокский государственный университет, г. Владивосток,
marybarkin@yandex.ru

Макроводоросли образуют заросли у морских побережий. Благодаря ценным пищевым и фармакологическим свойствам, а также удобствам культивирования, они представляют перспективный объект марикультуры. В странах Азии макроводоросли с древних времён вошли в народную медицину. Они содержат макро- и микроэлементы, витамины, незаменимые аминокислоты.

Липиды, содержащиеся в морских водорослях, богаты полиненасыщенными, прежде всего, ω -3 жирными кислотами. Отмечаются противодиабетический, антиатеросклеротический и другие полезные эффекты ω -3 полиненасыщенных жирных кислот на здоровье человека. Один из механизмов, благодаря которому ω -3 жирные кислоты оказывают положительный эффект на здоровье человека, связан с биосинтезом оксипиринов, которые являются местными регуляторами воспаления.

Клеточные стенки макроводорослей содержат сульфатированные полисахариды, такие как каррагинан у красных водорослей, фукоидан у бурых водорослей, ульван у зелёных водорослей рода *Ulva*. Предполагается, что их наличие способствует солеустойчивости клеток водорослей, так как сульфогруппы обладают способностью связывать ионы Na. Так, одним из важнейших биологических свойств сульфатированных полисахаридов, как и пектинов, является способность связывать ионы металлов. Благодаря этому их можно использовать для связывания тяжёлых металлов и в качестве радиопротекторных субстанций. Описываются иммуномодулирующее, противомикробное, противоопухолевое, антикоагуляционное и другие действия сульфатированных полисахаридов. Стоит отметить, что они, как и агар, не перевариваются в желудочно-кишечном тракте человека. Из красных, бурых и некоторых зелёных водорослей добывают альгиновую кислоту – полисахарид, обладающий подобным спектром биологических эффектов. Её содержание в бурой водоросли *Saccharina japonica* составляет 15–30% от сухой массы. Альгиновую кислоту используют в пищевой промышленности в качестве загустителя, отмечается её

положительное влияние на функционирование пищеварительной системы.

Важнейшим светособирающим элементом фотосинтетического аппарата у водорослей являются каротиноиды, что связано с тем, что водная среда хорошо пропускает лучи сине-зелёного спектра, которые поглощают каротиноиды. Каротиноиды обладают антиоксидантной активностью. Один из них – фукоксантин у бурых водорослей.

Также макроводоросли синтезируют вторичные метаболиты, являющиеся низкомолекулярными биологически активными соединениями. В бурых водорослях и в меньшем количестве в красных были обнаружены флоротаннины, они содержатся в цитоплазме клеток водорослей и клеточных стенках и обладают способностью обезвреживать активные формы кислорода. Интересными среди вторичных метаболитов являются также галогенированные соединения. Некоторые из них служат для защиты от обрастателей.

В настоящее время макроводоросли стали популярным объектом для биомедицинских исследований и являются полезным пищевым ресурсом.

СВЕТОВОСПРИЯТИЕ ГРЕБНЕВИКОВ В КОНТЕКСТЕ ОБЩЕЙ ЭВОЛЮЦИИ ЗРЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ

Кривенко О. В.¹, Баяндина Ю. С.¹, Кулешиова О. Н.¹

*Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН, г.
Севастополь
sepulturka@mail.ru*

Восприятие света лежит в основе формирования самых разнообразных поведенческих реакций животных, в том числе связанных с пространственной ориентацией, кормлением, избеганием хищников и размножением. В зависимости от сложности решаемых фотосенсорных задач, выделяют четыре класса зрительных реакций, эволюционная последовательность которых начинается с ненаправленной фоторецепции, затем появляются направленная фоторецепция, зрение с низким разрешением и, наконец, зрение с высоким разрешением (Nilsson, 2013). Визуально управляемое поведение – это главная движущая сила в эволюции органов зрения животных. Для решения простейших фотосенсорных задач достаточно присутствия в клетке рецепторов, чувствительных к свету. Появление зрительных реакций более высокого класса совпадает с критическими этапами в эволюции глаз и возникновением инноваций, связанных с повышением светочувствительности, укладкой мембран и появлением экранирующих структур и фокусирующей оптики (Nilsson, 2022). По современным представлениям, сложные глаза могли независимо возникнуть как минимум в 40 филетических линиях Metazoa (Vöcking et al., 2022). Такое многообразие открывает широкие возможности для изучения закономерностей конвергентной эволюции и фундаментальных ограничений в происхождении и параллельной эволюции сложных интегративных систем. На сегодняшний день очевидно, что эволюция зрения и приобретение эволюционно продвинутых зрительных функций не требуют высокоразвитой нервной системы. В эволюции Cnidaria, имеющих простейшую нервную систему, выявлено как минимум 8 событий независимого возникновения глаз. При этом в отдельных линиях стрекающих эволюция дошла до появления глаза со сложными линзами, которые могут обеспечить реализацию зрительных функций, как минимум, третьего класса (Pisicani et al., 2018). Таким образом, общий предок Cnidaria уже обладал первичным набором молекулярных элементов, независимая кооптация которых в клетки, предшественники фоторецепторов, в процессе эволюции привела к возникновению разнообразных светочувствительных органов у современных

стрекающих. Но принципиально важно понять, в какой именно линии Metazoa впервые появилась направленная фоторецепция. Ведь первым шагом к появлению истинного зрения можно считать переход от ненаправленной фоторецепции, для реализации которой не требуется ничего кроме способности клетки воспринимать световой сигнал, к направленной фоторецепции, для которой как минимум необходимы специализированные структуры, связанные с укладкой мембран и экранирующими пигментами.

Пигменты на основе опсина опосредуют восприятие света и реакцию на световые раздражители у большинства многоклеточных животных. Из базальных Metazoa, помимо Cnidaria, функциональные опсины обнаружены только у гребневиков. Но большинство авторов в своих эволюционных реконструкциях исходят из того, что гребневики не способны к направленной фоторецепции. Такие предположения слабо согласуются с морфологическими данными о строении специализированных фоторецепторных клеток гребневиков, расположенных в аборальном органе этих животных. Подробные, но, к сожалению, мало знакомые современному научному сообществу морфофункциональные исследования фотосенсорных структур *Beroe cucumis* еще в 1980-х годах позволили описать комплексы мембран реснитчатого типа, меняющих свои параметры в зависимости от освещения. Было показано, что фоточувствительные комплексы ориентированы в пространстве для восприятия разнонаправленных световых сигналов, а группы фоторецепторных клеток окружены особыми клетками с подвижными гранулами пигмента, которые могут играть роль светотеневых структур (Аронова, 1981). Таким образом, гребневики имеют все морфологические инновации, необходимые для направленной фоторецепции.

Обнаруженные нами ответные реакции взрослых гребневиков *Mnemiopsis leidy* и *Beroe ovata* при точечном воздействии направленного света высокой интенсивности на аборальный орган, также свидетельствуют о способности этих животных к направленной фоторецепции. Аналогичные реакции, очевидно, лежат в основе фототаксиса, обнаруженного в лабораторных экспериментах у *M. leidy* на цидипидной стадии развития (Baiandina, 2020).

Анализируя имеющиеся в международных базах полногеномные и транскриптомные данные, мы обнаружили у планктонных гребневиков родов *Mnemiopsis* (Lobata), *Pleurobrachia* (Cydippida) и *Beroe* (Beroida) только три типа опсинов, которые формируют на общем филогенетическом дереве три независимые клады (Stenopsin1–3). Каждая из клад развивалась независимо в отдельных филетических линиях гребневиков. Клада Stenopsin3 стабильно располагается вне основных ветвей дерева зрительных опсинов животных, группируясь с

невизуальными опсинами Placozoa (плакопсинами). Stenopsin1 и Stenopsin2 – сестринские клады, которые, скорее всего, разошлись после дупликации гена-предшественника, принадлежащего общему предку Lobata, Cydippida и Veroidae. Имеющиеся на сегодняшний день биоинформатические подходы не позволяют достоверно разрешить положение этой группы на общем дереве опсинов, но в любом варианте они являются одной из древнейших линий опсинов животных. Ключевые функциональные остатки и домены, необходимые для связывания с ретиналем и для стабилизации конформационных изменений во время световой активации, присутствуют только в структуре последовательностей Stenopsin 1 и 2. Поэтому эти опсины, очевидно, участвуют в процессах фоторецепции гребневики. В их структуре выявлены особая вставка и консервативные мотивы, которые могут указывать на уникальность связанного с рецептором G-белка и соответствующего ему каскада фототрансдукции в светочувствительных клетках гребневики.

Обобщая имеющиеся данные, можно утверждать, что гребневики обладают направленной фоторецепцией. Очевидно, что эта функция реализуется у них на основе предковых механизмов, эволюция которых привела к появлению истинного зрения в последующих линиях Metazoa. Дальнейшее изучение молекулярно-генетических и функциональных аспектов восприятия света гребневики позволит пролить свет на самые ранние этапы эволюции зрения у животных, понять фундаментальные ограничения развития сложных сенсорных функций в контексте общей эволюции нервной и других интегративных систем.

**СВЯЗЬ ПОПУЛЯЦИЙ ХЕМОСИМБИОТРОФНОГО
ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CALYPTOGENA PACIFICA*
(VESICOMYIDAE: PLIOCARDIINAE) БЕРИНГОВА МОРЯ И
ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ ТИХОГО ОКЕАНА**

Белов Д.А., Кременецкая А.В., Крылова Е.М.

*Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, г. Москва,
belov.da@ocean.ru*

Двустворчатые моллюски подсемейства Pliocardiinae (Vesicomylidae) живут в симбиозе с сульфид-окисляющими хемоавтотрофными бактериями, которые содержатся в эпителиальных клетках жабр моллюсков. Синтезируемое бактериями органическое вещество является главным и, возможно, единственным источником питания моллюсков. Для жизнедеятельности бактерий необходимы сульфиды, доступ к которым на дне океана есть только в специфических, так называемых, восстановительных биотопах, наблюдаемых в районах гидротермальных источников, холодных метановых выходов, скоплений разлагающейся органики, например, скелетов китов. Эти местообитания отличаются от окружающей среды по физико-химическим условиям и отделены друг от друга пространствами, не пригодными для жизни плиокардин, в результате чего распространение моллюсков имеет фрагментированный, или "островной", характер. Информация о генетике локальных популяций необходима для решения многих задач биогеографии, в том числе, для выявления путей становления фаун восстановительных регионов.

Calypptogena pacifica Dall, 1891 (Pliocardiinae) обитает в восстановительных местообитаниях в восточной части Тихого океана на континентальном склоне от пролива Диксон-Энтрэнс на севере до полуострова Калифорния на юге в диапазоне глубин от 361 до 2423 м. В западной Пацифике *C. pacifica* обнаружена на вулкане Пийпа (470–490 м) (Krylova, Sahling, 2006) и на Корякском склоне (400–695 м) Берингова моря (Данилин, 2013; Rybakova et al., 2022). В отличие от восточнотихоокеанских популяций, данные по генетике *C. pacifica* из Берингова моря отсутствуют. Целью нашего исследования явилось определить, отличается ли в генетическом плане популяция калиптогены Корякского склона от пространственно удаленных популяций этого вида из восточной Пацифики. В этой работе мы представляем результаты генетических исследований популяции *C. pacifica* с Корякского склона.

В 2018 г. во время 82-го рейса НИС "Академик М.А. Лаврентьев", организованного ННЦМБ ДВО РАН (г. Владивосток), в районах

метановых выходов на глубинах от 660 до 690 м моллюски были собраны с помощью манипулятора телеуправляемого необитаемого подводного аппарата "Команч-18". Фрагменты аддукторов и ноги моллюсков были зафиксированы в 96% охлажденном этаноле и хранились при -20°C . Для молекулярного анализа мы использовали фрагмент гена цитохром *c*-оксидазы субъединицы 1 (*COI*) (длина анализируемого фрагмента 482 пн) 50 экземпляров калиптоген. Для выделения ДНК применяли набор QuickExtract™ DNA Extraction Solution (Lucigen). Амплификацию методом ПЦР проводили с использованием набора Encyclo Plus PCR kit (Евроген) и праймеров VesHCO и VesLCO (Peek, 1997). Полученные последовательности были отредактированы и выравнены с использованием алгоритма MUSCLE. Филогенетический анализ проводили методом байесовской статистики с использованием MrBayes 3.2.7a; наилучшие модели эволюции нуклеотидов были определены в PartitionFinder2 (Lanfear, 2017). Кроме того, в анализе были использованы 31 последовательность *COI*, опубликованная в Генбанке (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). В результате была построена сеть гаплотипов с использованием алгоритма медианного соединения в POPART (Leigh, 2015).

Предварительные результаты молекулярного анализа указывают на отсутствие генетической изоляции популяции на Корякском склоне от популяций в восточной части Тихого океана. Анализ распространения гаплотипов показал, что на Корякском склоне присутствуют гаплотипы, которые также были обнаружены в восточной части Тихого океана, включая побережье Орегона, залив Монтерей и бассейн Гуаймас. На Корякском склоне анализ выявил семь различных гаплотипов, четыре из которых являются уникальными. Три гаплотипа являются общими с популяциями восточного побережья США (рис.1). Наибольшее генетическое разнообразие было отмечено у моллюсков из залива Монтерей, где было выявлено девять гаплотипов, три из которых являются общими с популяцией калиптоген Корякского склона, а шесть уникальны. Высокий уровень генетического разнообразия может быть связан с большим разнообразием местообитаний калиптоген в заливе Монтерей, обнаруженных в диапазоне глубин от 361 до 959 м, а также с более длительным по времени обитанием моллюсков в этом регионе. Значительное сходство популяции Корякского склона с популяциями восточной части Тихого океана указывает на возможность интенсивного генетического обмена. Предполагается, что обмен может осуществляться через гипотетические популяции, обитающие на склонах Берингова моря к северу от исследованного района.

Исследование финансировалось Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, номер гранта 13.1902.21.0012, номер контракта 075-15-2020-796.

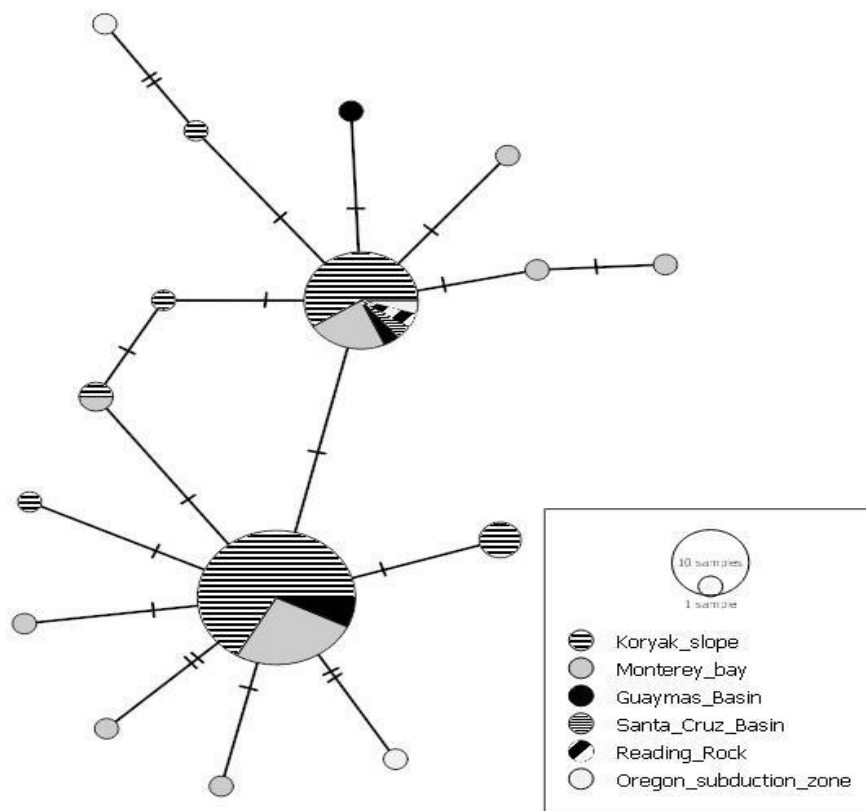


Рис.1. Сеть гаплотипов *Calyptogenia pacifica*, представленных в западной (Корьяк slope) и восточной (все остальные местообитания) частях Тихого океана.

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ НЕМАТОДЫ *RHABDOCHONA*
CORONACAUDA (RHABDITIDA: THELAZIOIDEA) –
КИШЕЧНОГО ПАРАЗИТА ВЕРХОГЛЯДОВ РОДА
CHANODICHTHYS ОЗЕРА ХАНКА**

Беляев В.П.¹, Вайнутис К.С.^{1,2}

¹*Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,*

г. Владивосток,

²*Тихоокеанский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ТИНРО»), г. Владивосток*

Rhabdochona spp. – паразитические нематоды, поражающие пресноводных рыб, демонстрируют генетическую сплочённость и закономерности распространения, на которые влияют экологические и биогеографические барьеры (Omar Lagunas-Calvo et al., 2019). Кладистический анализ выявил различные клады внутри *Rhabdochona*, подтверждённые синапоморфными признаками (Mejía-Madrid et al., 2007). Географическое картирование хозяев не выявило чёткой взаимосвязи между хозяином и кладой, что позволяет предположить генетическую изоляцию в качестве движущей силы. Эволюционная динамика *Rhabdochona* spp. включает в себя импульсы таксонов, смену хозяев и видообразование после расселения. Экологическое приспособление поддерживало видовой стазис, в то время как гетерохрония и расселение хозяев на большие расстояния способствуют видообразованию (Mejía-Madrid, 2012). Понимание генетических, экологических и биогеографических аспектов *Rhabdochona* spp. расширяет наши знания об их разнообразии в системах паразит–хозяин пресноводных рыб.

В работе Соколова с соавторами (2019) было построено филогенетическое древо для 17 видов семейства Rhabdochonidae на основе фрагмента гена 18S длиной 1650 п.н. Наиболее близкое положение к общему предку заняла *Rhabdochona mazeedi* Prasad & Sahay, 1965, в связи с чем в данной работе мы поставили её в корень древа.

Была поставлена цель исследовать уровень генетической дивергенции вида *Rhabdochona coronascauda* по отношению к другим видам семейства Rhabdochonidae, в связи с чем были поставлены задачи получить последовательности гена 18S и на их основании реконструировать филогенетические связи, сопоставить новые данные с литературой и доказать принадлежность вышеупомянутого вида к роду *Rhabdochona* семейства Rhabdochonidae.

В данной работе представлены первые молекулярные данные для *R. coronacauda* Belouss, 1965, извлечённой из кишечника трёх видов верхоглядов *Chanodichthys*, отловленных в озере Ханка в декабре 2022 г. Получены три полные нуклеотидные последовательности гена 18S рибосомальной РНК длиной 1752 п.н. По методу Байесовского вывода построено филогенетическое древо для 17 видов семейства Rhabdochonidae на основе фрагмента гена 18S длиной 1659 п.н. (рис. 1). Ханкайский вид *R. coronacauda* занял обособленное положение по отношению ко всем 16 видам, загруженным из базы данных GenBank. Анализ генетических р-дистанций показал, что *R. coronacauda* отличается от остальных видов Rhabdochonidae на уровне, допустимом для межвидовой дифференциации нематод на основе гена 18S рРНК – 0.79–3.17%.

Стоит отметить, что согласно базе данных WoRMS род *Rhabdochona* включает 86 валидных видов и 20 с неподтверждённым статусом. На основе совокупных генетических данных из числа валидных видов статус подтверждён для 20 видов, включая *R. coronacauda*. В дальнейшем предстоит получить генетические данные для другого ханкайского вида – *R. longispicula*.

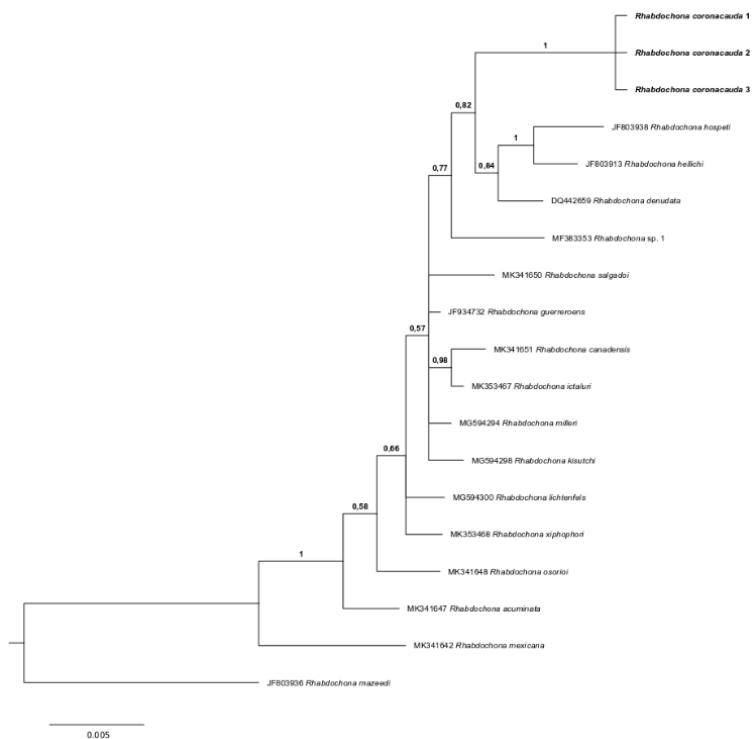


Рис. 1. Филогенетические связи рода *Rhabdochona*, реконструированные на основе фрагмента гена 18S рРНК. Числа на ветвях – значения апостериорной вероятности.

ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ У АМФИПОД КАК БИОМАРКЕРЫ ВЛИЯНИЯ МИКРОПОЛЛЮТАНТОВ И НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ

Березина Н.А., Сухих Н.М., Губелин Ю.И.

*Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург,
nadezhda.berezina@zin.ru*

Амфиподы обладают большим потенциалом для оценки токсичности отложений в эстуарных и морских районах, поскольку они тесно связаны с отложениями либо за счет своей роющей активности, либо за счет проглатывания частиц отложений. Они известны как типичные члены донных сообществ и как первые таксоны, исчезающие из этих сообществ на загрязненных участках или в условиях гипоксии. Эмбриогенез – это наиболее чувствительный к воздействию неблагоприятных факторов период в жизни амфипод. Для Балтийского моря в последнее время активно развивается и внедряется в мониторинг качества морской среды биомаркер, основанный на нарушениях в строении эмбрионов и физиологических показателях состояния амфипод (HELCOM 2018). В частности, выявлено, что типы нарушений развития эмбрионов амфипод различны в разных бассейнах Балтийского моря, при этом задержка развития чаще встречалась в бассейне Западного Готланда, тогда как повреждение мембран и сложные пороки развития тела (конечностей, глаз и средней кишки) были более распространены в Ботническом заливе и в собственно северной части моря. Было обнаружено, что эти типы пороков развития специфичны и для определенных групп загрязняющих веществ (Löf et al., 2015). Так, в популяциях *Monoporeia affinis*, подвергшихся влиянию загрязненных отложений, частота появления самок с пороками развития конечностей у эмбрионов было связано с повышенными концентрациями кадмия и ПХБ, в то время как самки с эмбрионами с поврежденной оболочкой встречались при высоких концентрациях ПАУ. Кроме того, частота эмбрионов с задержкой и остановкой развития положительно коррелировала с уровнями тяжелых металлов в донных отложениях.

В представленной работе обсуждаются результаты экспериментального воздействия повышенных концентраций различных опасных веществ (оловосодержащих соединений, алкилфенолов, диклофенака, дизельного топлива), меди и токсинов цианобактерий на состояние эмбрионов, успех размножения и метаболическую активность (оцениваемую по интенсивности дыхания и экскреции фосфатов) у различных видов амфипод (*Gmelinoides fasciatus*, *Gammarus oceanicus*,

Hyalella azteca и *Monoporeia affinis*). В серии экспериментов выявлены диапазоны влияния перечисленных веществ и их наименьший порог воздействия, приводящий к значимым изменениям репродуктивных и физиологических показателей амфипод и появлению значительного количества морфологических aberrаций. Как правило, рассчитывали два показателя: доля (%) встречаемости в популяции аномально сформированных эмбрионов на стадии органогенеза (стадии 4–8) и относительное количество самок (%) с более чем двумя эмбрионами с нарушениями развития. Отдельно учитывалась смертность эмбрионов. При влиянии высоких концентраций ТБТ (осадки из порта) обнаружено наибольшее количество нарушений развития внутренних органов эмбрионов амфипод. Фармпрепарат диклофенак в диапазоне 0.1–2 мкг/л оказывал влияние на скорость метаболизма амфипод, количество и состояние эмбрионов. Самая низкая эффективная концентрация диклофенака (0.1 мкг/л) приводила к повышению энергетических потребностей животных, а при уровне, близком к 1 мкг/л, возникали нарушения репродуктивной функции (повышенная смертность эмбрионов). После 20-суточного пребывания самок в воде с цианобактериальной массой и наличием микроцистинов (0.17 мкг/мл) также наблюдали повышенное количество эмбрионов амфипод с нарушениями развития (в среднем более 5% от общего числа на одну самку). Прекопулятивное поведение амфипод отсутствовало или было снижено при воздействии токсичного 4-трет-октилфенола (0.5 мкг/л). В условиях такого загрязнения смертность эмбрионов возросла за счет резкого увеличения процента aberrаций эмбрионов. Полученные результаты могут найти применение при разработке методов биоиндикации, в частности, уровень aberrаций у эмбрионов и другие репродуктивные показатели амфипод можно использовать для выявления биологических эффектов микрополлютантов и оценки состояния окружающей среды в прибрежных районах морей.

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОДА *CLISTOBOTHRIMUM*
DAILEY & VOGELBEIN, 1990 (EUCESTODA:
PHYLLOBOTHRIIDAE) НА ОСНОВЕ ФРАГМЕНТА ГЕНА 28S
РРНК**

Бирюков И.Ю.¹, Вайнутис К.С.^{1,2}

¹Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, г. Владивосток, ivanbirgukov@gmail.com

²Тихоокеанский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ТИНРО»), г. Владивосток

Цестоды семейства Phyllobothriidae, входящие в отряд Phyllobothriidea, относятся к кишечным паразитам и заражают таких представителей фауны как морские и околоморские млекопитающие (Agusti et al., 2005; Klotz et al., 2018) – окончательные хозяева; кальмары (Guardone et al., 2020) и лососевые (Sokolov et al., 2023) – промежуточные хозяева. В семейство входят 28 родов, из которых 22 валидные, а шесть имеют неподтверждённый таксономический статус. За всё время были отсекуены виды из 24 родов Phyllobothriidae, включая неподтверждённых *Pentaloculum* и *Zuxibothrium* (Caira et al., 2013, 2020, 2021).

Нами был собран паразитологический материал из кишечника кеты *Oncorhynchus keta* из трёх рек на юге Приморья – Сандуга (Надеждинский район), Пойма (Хасанский район) и Аввакумовка (Ольгинский район). Материал представлен цестодами из семейства Phyllobothriidae. Для уточнения родового статуса мы применили методы молекулярно-генетического анализа. Для установления границ межвидовых дистанций внутри одного рода рассчитаны р-дистанции для родов *Clistobothrium*, *Scyphophyllidium* и *Calliobothrium* (табл. 1) на основе фрагмента гена 28S рРНК. Филогенетическое древо было построено по методу Байесовского Вывода для 53 видов, входящих в состав 24 родов семейства Phyllobothriidae. На рисунке 1 представлен фрагмент древа с разрешением всех доступных в базе данных GenBank 11 видов *Clistobothrium*, включая материал, собранный нами из кеты.

Таблица 1. Межвидовые дистанции трёх родов семейства Phyllobothriidae

| Род | D* | Значение p |
|-------------------------|-----------|------------|
| | Min–max % | |
| <i>Clistobothrium</i> | 0.08–3.49 | <0.05 |
| <i>Scyphophyllidium</i> | 0.17–5.81 | |
| <i>Calliobothrium</i> | 0.24–7.19 | |

D* – межвидовые дистанции

Диапазоны межвидовых дистанций рода *Clistobothrium* перекрываются с таковыми родов *Scyphophyllidium* и *Calliobothrium*, и, как следствие, соответствуют внутривидовым пределам. Все три выборки цестод из рек Приморья были идентичны друг другу и выборке *Clistobothrium* sp. 3 из нерки *Onchorhynchus nerka* Аляски. Можно предположить, что кета и нерка являются типичными хозяевами вида *Clistobothrium* sp. 3 и обеспечивают этому паразиту более широкое распространение в южных и северных частях Тихого океана. Вид *Pelichnibothrium speciosum* отличался от всех видов *Clistobothrium* на 0.42–3.49% – значения межвидовых дистанций. В свою очередь найденный нами *Clistobothrium* sp. 3 отличался от *P. speciosum* всего на 0.42%. Полученные данные указывают на принадлежность *P. speciosum* и *Clistobothrium* spp. к одному роду.

На филогенетическом древе каждый род сформировал независимую монофилетическую группу с высокой статистической поддержкой (апостериорные вероятности 1.0), однако три крупные ветви образовали политомию с апостериорной вероятностью 0.9. Первая ветвь была разделена на две группы: 1 – *Chimaerocestos*, *Phyllobothrium*, *Crossobothrium*, *Caulopatera*, *Trilocularia*, *Calliobothrium* и 2 – *Guidus*, *Calyptrbothrium*, *Bilocularia*, *Yamaguticestus*, *Monorygma*, *Rockacestus*. Вторая ветвь включала роды *Ruhnkebothrium*, *Orygmatobothrium* и неизвестный род (new genus 10); третья ветвь включала только род *Clistobothrium*. Из 24 родов, использованных в анализе, род *Pelichnibothrium* занял положение внутри рода *Clistobothrium*, тем самым создав парафилию.

Многие авторы реконструировали филогенетические связи между видами семейства Phyllobothriidae, в частности, *Pelichnibothrium* расположен внутри рода *Clistobothrium* (Caira et al., 2021), но авторы не уделили этой проблеме внимания. Учитывая, что генетические дистанции между *Pelichnibothrium speciosum* и *Clistobothrium* spp. находятся в межвидовом диапазоне последнего, ставится вопрос о валидности рода *Pelichnibothrium*. Однако согласно зоологическому кодексу по принципу приоритета, род *Clistobothrium* должен быть синонимизирован с родом *Pelichnibothrium*, так как последний был описан Монтичелли на 100 лет раньше (Monticelli, 1889). Таким образом, мы предлагаем перенести все виды *Clistobothrium* (младший синоним) в род *Pelichnibothrium* (старший синоним) с сохранением у последнего статуса валидного рода семейства Phyllobothriidae.

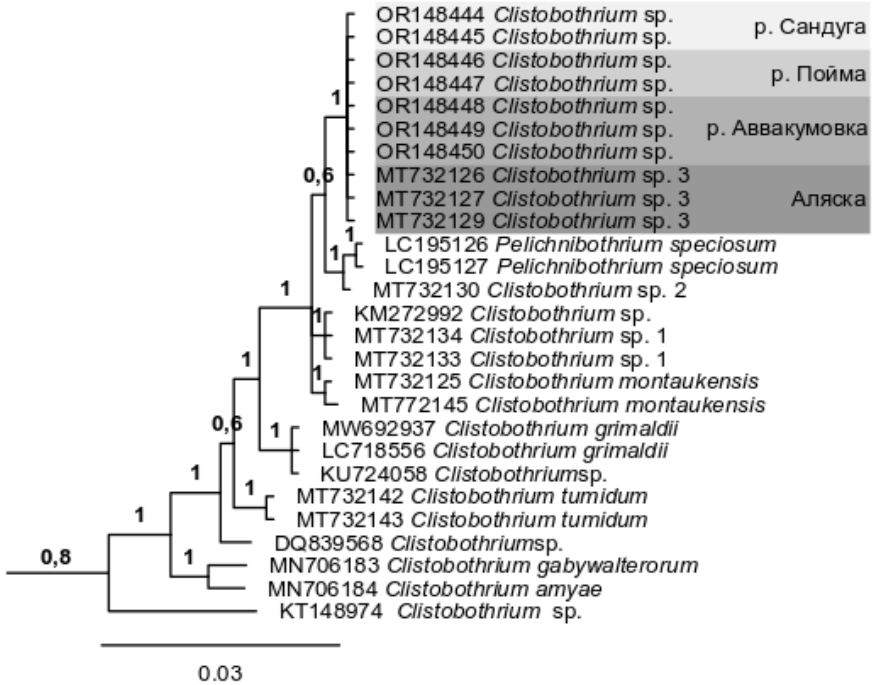


Рис. 1. Фрагмент филогенетического дерева, отображающего внутреннюю топологию рода *Clistobothrium*.

Виды, включённые в состав рода *Pelichnibothrium*: *P. speciosum* Monticelli, 1889 (типовой вид), *P. caudatum* Zschokke & Heitz, 1914, *P. delphini* (Bosc, 1802) comb. nov., *P. grimaldii* (Moniez, 1899) comb. nov., *P. amyae* (Caira, Hayes & Jensen in Caira, Jensen, Hayes & Ruhnke, 2020) comb. nov., *P. carcharodoni* (Dailey & Vogelbein, 1990) comb. nov., *P. gabywalterorum* (Caira, Hayes & Jensen in Caira, Jensen, Hayes & Ruhnke, 2020) comb. nov., *P. montaukense* (Ruhnke, 1993) comb. nov., *P. tumidum* (Linton, 1922) comb. nov.

ОБНАРУЖЕНА СЛОЖНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ МОЗГА У ЛИЧИНОК И ВЗРОСЛЫХ ПАРАЗИТОВ АКУЛЫ *NYBELINIA SURMENICOLA* (CESTODA: TRYPANORHYNCHA)

Бисерова Н.М., Маргарит А.А., Банникова М.А., Гордеев И.И.
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.
Москва, nbiserova@yandex.ru

Изучение ультраструктуры цестод на разных стадиях развития позволяет понять их адаптации к различным условиям обитания в разных хозяева, а также проследить пути эволюции различных групп. Исследования нейронов и нервной системы цестод находится в тренде современной клеточной биологии благодаря революционным открытиям сложной организации мозга и структурному разнообразию нейронов у ленточных червей (Biserova et al., 2020). Цестоды из отряда Трупанорхynchа обладают вооруженным 4-мя хоботками сколексом и сложно организованным мозгом, что было показано на представителях нескольких семейств (Rees, 1941 a, b; 1950; 1988; Бисерова, Корнева, 2012). Внутри отряда Трупанорхynchа, представители сем. Tentaculariidae обладают существенными отличиями в строении как хоботкового аппарата (Jones, Beveridge, 1998) и покровов (Biserova et al, 2016), так и нервной системы (Гордеев, 2016). Кроме того, у плероцеркоидов *Nybelinia surmenicola* установлено наличие сложной двигательной активности (Гордеев, Бисерова, 2016а, б), что в первую очередь должно коррелировать с архитектурой мозга и ультраструктурной организацией нервной системы, поскольку мозг участвует в обработке поступающей информации, координирует согласованные движения сколекса и хоботков процессе прикрепления к тканям хозяина.

В этой связи, в задачу данного исследования входило изучение и описание тонкого строения мозга и ультраструктуры нейронов у личинок и взрослых *N. surmenicola* Okada in Dollfus, 1929 (Трупанорхynchа: Tentaculariidae). Черви были собраны из желудка и спирального клапана акулы *Lamna ditropis*, зафиксированы 2.5% глутаровым альдегидом на 0.1М натрий-фосфатном буфере, при pH 7.4, и 1% раствором OsO₄ на том же буфере, залиты в аралдит или эпон. Серии полутонких и ультратонких срезов получали на ультрамикротоме Leica UC7. Окрашенные полутонкие срезы просматривали на световом микроскопе Leica DM5000; ультратонкие срезы изучали на электронном микроскопе JEOL JEM-1011или JEOL JEM-1400.

Центральная нервная система взрослой *N. surmenicola* представлена мозгом и выходящими к заднему концу сколекса

центральный нервом и парными латеральными стволами. Мозг расположен в центре сколекса на уровне ботрий и занимает медианно-центральное положение; снаружи долей мозга, дорсально и вентрально, расположены две пары влагалищ хоботков. В верхней части сколекса над мозгом расположены крестообразные мышцы, связанные с мускулатурой стенок хоботковых влагалищ. Крестообразные мышцы стабилизируют положение хоботковых влагалищ относительно друг друга и поддерживают пространство, в котором расположен мозг. По сериям срезов установлено, что мозг состоит из 9 долей: двух пар передних, одной непарной центральной и двух пар латеральных долей, которые соединены передними полукольцевыми, медианной и крестовой комиссурами. Центральная непарная доля формирует центральный нерв, проходящий в середине сколекса до начала мышечных бульбусов, латеральные доли образуют главные латеральные нервные стволы, продолжающиеся в стробилу.

Четыре передние доли образуют дорсальную и вентральную пары, плотно прилегая к внутренней стороне каждого хоботкового влагалища. Вдоль стенки влагалищ проходят передние нервы, выходящие из передних долей мозга. Передние доли объединены массивными полукольцевыми комиссурами, дорсальной и вентральной. Каждая доля содержит нейропилль, снаружи которого расположены тела нейронов. Основной объём передних долей представлен нейритами нейропиллей; нейроны образуют скопления в каждой доле выше полукольцевых комиссур. Из нейропиллей передних долей выходят вентральные и дорсальные корешки мозга, которые отходят к хоботковым железам и участвуют в их иннервации, а также латеральные корешки, огибающие хоботковые влагалища латерально с внешней стороны. Помимо этого, от передних долей отходят две пары передних нервов, уходящих в апикальную часть сколекса. Передние нервы проходят вдоль хоботковых влагалищ и иннервируют радиальные мышцы мышечного корсета, стабилизирующего положение хоботкового аппарата внутри сколекса. Корешки передних долей мозга иннервируют мышцы ботрий и связаны с сенсорными органами в тегументе сколекса.

Центральная непарная доля мозга начинается под полукольцевыми комиссурами передних долей. Она включает крупные нейроны с хорошо заметными ядрами и множество нервных волокон. В центральной части этой доли проходит крестовая (X-shape) комиссура, сформированная крупными светлыми волокнами и соединяющая 4 нейропиля передних долей с нейропилями латеральных долей мозга. Нейроны X-крестовой комиссуры лежат в центральной зоне самой комиссуры. Чуть ниже, каудальнее, проходит ещё одна комиссура – медианная, которая соединяет левую и правую пары латеральных долей. Медианная комиссура состоит из тонких волокон и со всех сторон

окружена крупными нейронами центральной доли. Центральная доля включает 4 нейропиля, которые дают начало центральному нерву. Нейропили располагаются плотной группой в середине центральной доли, образуя дорсальную и вентральную пары. Группы нейритов объединены общей оболочкой и не содержат тел нейронов. Центральный нерв представляет собой мощный тяж, состоящий из 4 пучков нервных отростков, выходящих из нейропилей центральной доли к мышечным бульбусам хоботков. Пучки объединены в дорсальную и вентральную пары, которые ближе к бульбусам расходятся, формируя 4 бульбарных нерва.

Четыре латеральные доли начинаются на уровне центральной доли мозга. Медианная комиссура, проходя сквозь центральную долю, объединяет латеральные нейропили. В состав латеральных долей входят аксоны Х-крестовой комиссуры и многочисленные тела нейронов. Размеры нейронов латеральных долей значительно меньше, чем нейроны центральной доли. Ниже медианной комиссуры парные доли сливаются в единые правую и левую латеральные доли, простирающиеся почти до конца ботрий. Постепенно они становятся тоньше, а потом переходят в парные латеральные нервные стволы. От латеральных долей отходят дорсальные и вентральные корешки, они огибают хоботковые влагалища и иннервируют мышцы ботрий. Главные стволы располагаются на медианной линии, без смещения к дорсальной или вентральной стороне.

Таким образом, изучено тонкое строение нервной системы у первого представителя сем. *Tentaculariidae*. Установлено, что мозг четко дифференцирован на 9 долей, включает полукольцевые передние, медианную и Х-крестовую комиссуры. В составе центральной доли мозга обнаружены очень крупные нейроны, в несколько раз превышающие размер нейронов в других долях и главных стволах, что не отмечено для ранее изученных представителей отряда *Трипаноринха*. Архитектура мозга *N. surmenicola* очень сложна по сравнению с представителями базальных отрядов цестод, у которых мозг состоит из двух долей и медианной комиссуры. Мозг трипаноринх представляет пример прогрессивной морфофункциональной дифференциации и усложнения в ответ на возникновение высоко специализированного прикрепительного аппарата на сколексе.

Исследования поддержаны грантом РФФ № 23-24-00118.

РАЗВИТИЕ И РЕДУКЦИЯ ФУНИКУЛЯРНЫХ ТЕЛ БЕЛОМОРСКИХ МШАНОК BUGULOIDEA (BRYOZOA: CHEILOSTOMATA)

Богданов Е.А., Вишняков А.Э., Островский А.Н.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, OdFael@gmail.com

Эндосимбиотические бактерии широко распространены у представителей типа Bryozoa (Lutaud, 1965, 1969, 1986; Zimmer, Woollacott, 1981). Заселяющие разные структуры или клетки хозяина (Lutaud, 1986; Karagodina et al., 2018; Bogdanov et al., 2023), эти бактерии могут являться источником химических соединений (Pettit et al., 1982; Jeong et al., 2002), защищающих колонии и личинок (Lindquist, Hay, 1996; Loranik et al., 2004).

Фуникулярные тела мшанок Buguloidea (Lutaud, 1969; Dyrzynda, King 1982; Mathew et al., 2016; Karagodina et al., 2018; Bogdanov et al., 2023) – наиболее изученные симбионт-содержащие структуры у Bryozoa, хотя даже для этой группы данные все еще поверхностны и фрагментарны. Все известные органы этого типа интегрированы в распределительную фуникулярную систему колонии и состоят из двух слоев клеток. Внешний слой, образованный уплощенными клетками, формирует наружную часть стенки органа, к которой прилегают призматические клетки внутреннего слоя, изолирующие симбионт-содержащую область. Клетки внутреннего слоя обладают активным синтетическим аппаратом, а от их апикальных мембран в полость с симбионтами вдается множество микровиллярных выростов.

О развитии фуникулярных тел до сих пор известно не так много. Имеющиеся данные по *Bugulina turbinata* (Lutaud, 1969) и *Dendrobeatia fruticosa* (Bogdanov et al., 2023) свидетельствуют о наличии схожих между собой паттернов развития и последующей редукции этих органов, причем в случае с *D. fruticosa* этапы развития тесно связаны с сезонной активностью колонии, в частности с ее ростом и развитием пищедобывающего аппарата в зооидах.

В рамках данного исследования приводится сравнительный анализ динамики развития фуникулярных тел беломорских видов мшанок *Aquiloniella scabra*, *Bugulopsis peachii* и *D. fruticosa*. Колонии, собранные в акватории губы Чупа Кандалакшского залива, исследовали с использованием трансмиссионной электронной микроскопии, что позволило изучить ультраструктуру разных этапов развития и редукции симбионт-содержащих органов у представленных видов.

Хотя структура фуникулярных тел у изученных видов, в целом, однотипна, их размеры и форма уникальны для каждого вида. Развитие фуникулярных тел, в целом, также следует общей тенденции: после краткого этапа эти органы достигают зрелости и функционируют в течение некоторого времени. Далее начинаются процессы редукции, сопровождаемые утратой симбионтов, а также изменением формы, микроанатомии тел и ультраструктуры их клеточных слоев. Более того, в процессе деградации симбионтов могут быть задействованы и вирусные компоненты (Vishnyakov et al., 2021; Bogdanov et al., 2023). При этом, у каждого изученного вида подобные процессы обладают собственными уникальными чертами.

Полученные данные являются основой для изучения симбиотических ассоциаций между группой Bryozoa и разнообразными микроорганизмами, расширяя наше понимание структурной сложности и значимости симбиозов в разных живых системах, а также формируя фундамент для будущих прикладных исследований по данной теме.

Исследования поддержаны грантом РФФ № 23-14-00351.

**ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ МОРФОГЕНЕЗЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ
МЕТАМОРФОЗ ЛИЧИНКИ-ПЛАНУЛЫ ГИДРОИДА *DYNAMENA*
PUMILA, И ВОЗМОЖНАЯ РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ
СЕРОТОНИНА**

Богомолов А.И.¹, Воронежская Е.Е.¹, Краус Ю.А.^{1,2}

¹*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва,
bogomolov.anton2000@gmail.com (А.И.Б.), elena.voronezhskaya@idbras.ru
(Е.Е.В.), yuliakraus2@gmail.com (Ю.А.К.)*

²*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.
Москва, yuliakraus2@gmail.com*

Эпителиальные морфогенезы выполняют важную функцию в развитии, интегрируя формообразование в масштабах всего эмбриона или личинки. У животных со сложным жизненным циклом важнейшим событием является метаморфоз, связанный с оседанием личинки и её трансформацией в другую жизненную форму. На примере *Dynamena pumila* (L., 1758), морского колониального гидроида, мы исследовали эпителиальные морфогенезы при метаморфозе личинки – её оседании на субстрат и превращении в первичный полип. Используя методы конфокальной и электронной микроскопии, а также фармакологического воздействия, мы охарактеризовали на клеточном и субклеточном уровнях морфогенетические основы метаморфоза *Dynamena*, показали возможное участие серотонина (5-НТ) в регуляции этого процесса.

Развитие *Dynamena* происходит в редуцированных медузах, прикрепленных к материнской колонии. В окружающую среду выходят личинки-планулы, передвигающиеся за счёт биения ресничек аборальным концом вперёд. Признаком готовности к метаморфозу является формирование множественных кольцевых складок на теле личинки, а также глубокой “прикрепительной” складки вблизи переднего (аборального) конца. Клетки эктодермы *D. pumila*, находящиеся на дне формирующейся складки, сокращают апексы и расширяют базальные поверхности. Напротив, клетки, находящиеся на вершинах складок, расширяют апексы и сокращают базальные поверхности. Благодаря этому обеспечивается инвагинация эктодермы, а кривизна складки усиливается, и она становится более устойчивой. Мощные актиновые пучки на дне каждой складки указывают на активный характер эпителиального морфогенеза. Таким образом, формирование складок у готовящейся к оседанию планулы связано с акто-миозиновым сокращением субапикальных пучков микрофиламентов в клетках, сокращающих апексы. При оседании число

складок латеральной эктодермы увеличивается. За оседанием следует распластывание личинки по субстрату, которое обеспечивается миграцией клеток переднего конца тела. Эти клетки образуют миграционный фронт и тянут за собой более оральные (задние) клетки.

Инкубация личинок в предшественнике серотонина (5-НТР) приводит к повышению уровня 5-НТ в эпителиальных клетках и базальной мембране. Долговременная инкубация в 5-НТР (до 36 ч), оказывает влияние на морфологию планулы, в том числе на формирование складок латеральной эктодермы. Кратковременная инкубация (2–12 ч) не влияет на морфологию личинки.

Обнаруженные в метаморфозе *Dynamena* эпителиальные морфогенезы, основанные на изменении формы клеток, сходны с формированием эпителиальных складок у высших Metazoa (Lecuit, Lenne, 2007; Sawyer et al., 2010; Sui et al., 2018). На уровне поведения клеток механизм распластывания личинки при оседании, основанный на клеточной миграции, аналогичен механизму заживления ран в эпителиях (Shaw, Martin, 2009; Brugués et al., 2014; Tetley et al., 2019). Это делает *Dynamena* удобной моделью для изучения эволюционно-первичных механизмов эпителиальных морфогенезов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ № 22–24-01166.

**ПОЛНЫЙ ГЕНОМ НОВОГО ПАЛОЧКОВИДНОГО
НИМОВИРУСА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО СИНДРОМ МОЛОЧНОЙ
ГЕМОЛИМФЫ КРАБА-СТРИГУНА *CHIONOECETES BAIRDI*
(RATHBUN, 1924)**

Елисейкина М. Г.¹, Бойко А. В.¹, Шамишурина Е. В.¹

¹*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, meliseikina@yandex.ru, Alteroldis@gmail.com, shamsh_gavrik@mail.ru*

В настоящее время в состав семейства Nimaviridae, объединяющего большие палочковидные ДНК-вирусы ракообразных, входят эндогенные не классифицируемые вирусы, принадлежащие одному роду *Whispovirus* и вызывающие синдром белых пятен (WSS) у культивируемых ракообразных. Единственный «дикий» представитель семейства – *Chionoecetes opilio* bacilliform virus (*CoBV*), который вызывает синдром молочной гемолимфы (MHS) у краба-стригуна *Chionoecetes opilio* в естественной среде. В связи с большим вредом, причиняемым аквакультурам ракообразных вирусом синдрома белых пятен (WSSV), патогенез заболевания, а также геном, строение и морфогенез вирионов WSSV детально изучены (Yang et al., 2001; Marks et al., 2004; 2005; Rodriguez-Anaya et al., 2016; Vinaya Kumar et al., 2018). Неплохо изучены патогенность и инфективность *CoBV*, исследована его структура и секвенирован геном (Kon et al., 2011; Matobayashi et al., 2018). Схожее с MHS вирусное заболевание найдено у краба-стригуна *Chionoecetes bairdi*, охарактеризовано строение вируса и патогенез, но осталось неизвестным систематическое положение этого патогена (Ryzanova et al., 2023). Мы всесторонне проанализировали геном *Chionoecetes bairdi* bacilliform virus (*CbBV*), вызывающий MHS у краба-стригуна *C. bairdi* в популяциях тихоокеанского побережья Камчатки. Вирус *CbBV* является вторым после вируса *CoBV* «диким» представителем реплицирующихся нимавирусов, геном которого охарактеризован.

Установлено, что геном *CbBV* представлен двухцепочечной ДНК длиной 245 567 нуклеотидов, содержащей 120 предсказанных генов. Из них 85 гомологичны известным генам нимавирусов и нудивирусов. Большая часть (57 генов) кодируют белки капсида, оболочки и тегумента, а также неструктурные белки, представленные различными ферментами. Сравнительный анализ геномов *CbBV* и ряда представителей сем. Nimaviridae и сем. Nudiviridae, позволил выделить 49 эволюционно-консервативных генов. Анализ ортологических

отношений этих генов показал, что в двух группах семейства *Nimaviridae*, одна из которых представлена *WSSV*, а другая – *CoBV* и *CbBV*, происходила дупликация генов, отвечающих за разные аспекты инфекционного процесса. Так, *WSSV* имеют белки VP24, VP26 и VP28, локализованные в оболочке и отвечающие за взаимодействие с клетками хозяина (Sun et al. 2016), в то время как у *CbBV* и *CoBV* есть только один ортолог этих белков, наиболее схожий с VP26. Также Е3-лигаза, необходимая для репликации *WSSV* и модифицирующая убиквитин-зависимый каскад (Chen et al., 2011), представлена четырьмя генами, в то время как у *CbBV* и *CoBV* только одним геном. С другой стороны, *CbBV* и *CoBV* имеют три гена VP38B и отсутствующий у *WSSV* IAP3, которые блокируют апоптоз за счет подмены субстрата для Pm-каспазы (Leu et al., 2010; Rohmann, 2019).

Филогенетический анализ представителей сем. *Nimaviridae* показал, что вирусы *CbBV* и *CoBV* образуют самостоятельную кладу в пределах семейства, отдельную от содержащей штаммы *WSSV*. Это подтверждается данными о порядке и расположении генов в геномах нимавирусов, которые были идентичными в пределах каждой клады, но различались между ними. Кроме того показана высокая идентичность геномов и протеомов *CbBV* и *CoBV* (около 99%), тогда как их идентичность со штаммами *WSSV* составляла не более 33%.

Обнаружение нами нового вируса, вызывающего MHS у *C. bairdi* является свидетельством распространенности нимавирусов у десятиногих ракообразных в морских экосистемах. Сравнительно-генетический анализ с использованием данных о геноме нового представителя семейства *CbBV* показал, что мишенями эволюционного процесса у нимавирусов являются белки оболочки и белки, отвечающие за вирус-опосредованную трансформацию процессов апоптоза клеток хозяина. Полученные в результате исследования данные указывают на необходимость выделения в составе сем. *Nimaviridae* двух видов (либо родов) вирусов *WSSV* и вируса синдрома молочной гемолимфы MHSV.

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В АКВАКУЛЬТУРЕ НА ПРИМЕРЕ КАМЧАТСКОГО КРАБА (*PARALITHODES CAMTSCHATICUS*)

Бондарь Е.И., Батищева Н.М., Гончаров Н.В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, jaja@list.ru*

Перед началом программ селекции видов в аквакультуре необходимы фундаментальные знания о том, как процесс искусственного разведения повлияет на генетическое разнообразие как самого вида, так и разводимой группы особей. На сегодняшний день главными задачами становятся не только сохранение, контроль, восстановление и мониторинг состояния естественных популяций, но и анализ последствий искусственного воспроизводства на природные популяции. Генетический мониторинг, проводимый параллельно с искусственным разведением, позволит оценить вклад принимаемых мер на восстановление природной популяции.

Paralithodes camtschaticus – ценный промысловый вид, природные запасы которого значительно снизились в результате бесконтрольного промысла. В аквакультуре рекомендуется генетическое отслеживание маточного стада и потомства, чтобы избежать снижения генетического разнообразия в популяциях-основателях.

Было проведено исследование генетического разнообразия двадцати самок, содержащих оплодотворенную икру и использовавшихся в качестве маточного стада в ходе экспериментов по искусственному воспроизведению *P. camtschaticus*. Был проведен сравнительный генетический анализ самок и икры с использованием восьми микросателлитных локусов. В дальнейшем это поможет оценить продуктивность каждой самки, участвовавшей в размножении, и позволит установить принадлежность потомства, искусственно выращенных особей, к определенной самке.

Также было проведено генетическое исследование молодежи, получившейся в результате искусственного воспроизведения и оценить вклад каждой самки в популяцию, выпущенную в акваторию залива Петра Великого. Микросателлитные локусы показали себя оптимальным видом маркера для идентификации родительских особей, что в дальнейшем позволит провести мониторинг выживаемости особей при искусственном воспроизведении. Также результаты могут быть использованы для оптимального распределения промысловой нагрузки при оценке влияния искусственного выращивания на природные популяции камчатского краба.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-74-30004 и ООО “Антей”.

ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В РЕГЕНЕРАЦИИ ГУБКИ *HALISARCA DUJARDINII*

Борисенко И.Е.¹, Ересковский А.В.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, ilja.borisenko@gmail.com

²Средиземноморский институт морской и континентальной экологии и биоразнообразия, г. Марсель, aereskovsky@mail.ru

Регенерация широко распространена в животном царстве, при этом регенеративные способности представителей разных групп животных сильно различаются. Низшие Metazoa способны развиваться из небольшой группы клеток. Причины столь обширных потенций у них остаются неясными, хотя наборы “молекулярных инструментов”, задействованных в регенерации, сходны у многих описанных таксонов и универсальны.

Описывая клеточные механизмы репаративной регенерации у губок из Demospongiae, Calcarea и Homoscleromorpha, ранее мы показали, что при сходных регенерационных способностях поведение клеток сильно отличается у представителей разных классов. Так, у *Halisarca dujardinii* (Demospongiae) после удаления фрагмента тела в прилегающей к ране зоне мезохила хоаноцитные камеры распадаются на отдельные хоаноциты, подвергающиеся дедифференцировке. Дедифференцированные клетки (хоаноциты, эндопинакоциты, клетки мезохила) формируют под раневой поверхностью бластемоподобную структуру, из материала которой строится новая водоносная система и покровы. У *Leucosolenia variabilis* (Calcarea) и *Oscarella lobularis* (Homoscleromorpha) не происходит дедифференцировки и формирования бластемы: клетки, прилегающие к ране, претерпевают трансдифференцировку и замещают утраченные структуры.

Под контролем стереомикроскопа удаляли небольшой фрагмент тела губки, затем через разные промежутки времени были препарированы участки тканей, прилежащих к раневой поверхности, из них выделена РНК и приготовлены библиотеки кДНК. Методом RNA-seq были изучены изменения в экспрессии генов в 6 временных точках при регенерации: 30 мин после операции (мпо), 1 ч после операции (чпо), 3 чпо, 6 чпо, 12 чпо и 24 чпо. Уже через 30 мпо происходит сильное изменение в наборе транскриптов. Число сверхэкспрессированных генов варьирует от 522 (стадия 6 чпо) до 3257 (стадия 3 чпо). При этом большинство из транскриптов уникально для каждой из стадий, и лишь небольшое число встречается на 2–3 стадиях

регенерации одновременно. Это свидетельствует о скорости и объеме изменений, происходящих в ответ на повреждение на уровне транскрипции. Так, через 30 мпо оверэкспрессировано 1019 транскриптов, а еще через полчаса (стадия 1 чпо) – 1279; при этом общих транскриптов у этих множеств всего семь.

На стадиях 30 мпо среди категорий GO (онтологии генов) с большим отрывом лидируют транскрипты белков, отвечающих за фосфорилирование. В первой десятке обнаруживаются позитивные регуляторы ERK-киназных каскадов. Недавно было описано участие киназ Erk в регенерации некоторых животных как молекул, обеспечивающих в том числе быструю передачу сигнала о повреждении на расстояние. Полученные данные позволяют предположить, что у *H. dujardinii* на ранних стадиях регенерации происходит активация Erk.

На стадии 1 чпо при анализе по категории “биологический процесс” лидируют также киназы и фосфатазы, указывая на важность регуляции киназных рецепторов и внутриклеточных каскадов. При обогащении по категории “молекулярная функция” доминируют молекулы клеточной адгезии. Представлены тенаascin, фибронектин, коллаген, а также белки, связывающие трансмембранные рецепторы с цитоскелетом (талин, DSCAM, кадгеринины, интегрины). Любопытно, что присутствуют гомологи рецепторов, отвечающих за направленную миграцию клеток (в том числе направленный рост аксона) у позвоночных: белок Rounabout и рецептор эфрина.

На стадии 3 чпо наиболее представленными являются транскрипты генов, отвечающих за фосфорилирование белков (более 150 транскриптов). В эту группу входят циклин-зависимые киназы, рецепторы ростовых факторов (TGF, EGF, FGF, инсулиноподобного фактора), рецепторы эфрина, киназы MAP-киназного каскада, казеинкиназы, киназы легкой цепи миозина и другие. На этой же стадии впервые появляется небольшая группа транскриптов, кодирующих компоненты Wnt-каскада. Активация экспрессии компонентов Wnt-каскада происходит через 3 и 6 ч после операции и затем затухает.

На стадии 6 чпо два наиболее представленных термина GO – клеточная адгезия и миграция клеток. В этих группах представлены преимущественно белки внеклеточного матрикса и трансмембранные рецепторы к нему. Это указывает на активацию миграционной активности клеток на стадии 6 чпо. Из тепловой карты адгезионных белков видно, что большинство из них динамически меняет экспрессию от стадии к стадии с максимумом в основном на 24 чпо. Также в топ-10 присутствует позитивная регуляция Erk-киназного каскада, что свидетельствует о существенной роли киназ в регенерации не только на первых этапах процесса.

На стадии 12 чпо наиболее представленной группой оказались РНК-зависимые ДНК-полимеразы, т.е. обратные транскриптазы. При детальном рассмотрении все они относятся к полимеразам ретротранспозонов разных классов, в том числе LINE. Другой группой, активно транскрибирующейся на стадии 12 чпо, являются белки с металлоэндопептидазной активностью. В эту группу входят матриксные металлопротеазы, обеспечивающие разборку внеклеточного матрикса, в том числе при регенерации. Их гомологи обнаружены среди оверэкспрессированных транскриптов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-74-00042, <https://rscf.ru/project/22-74-00042/>.

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ В РАЦИОН МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА РОСТ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ МОЛОДИ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ТРЕПАНГА *APOSTICHOPUS JAPONICUS*

**Борисова Д.С.¹, Боцун Л.А.¹, Геворгян Т.А.¹, Пахлеванян А.А.¹,
Масленников С.И.^{1,2}, Козьменко В.Б.¹**

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток

²Дальневосточный федеральный университет, Передовая инженерная
школа «Институт биотехнологий, биоинженерии и пищевых систем»,
г. Владивосток,
mouse-ka@list.ru

Дальневосточный трепанг *Apostichopus japonicus* (Selenka, 1867) обитает в морях России, Китая, Кореи, Японии и является ценным продуктом на мировом рынке (Левин, 1981). Данный вид голотурий успешно культивируется, однако до сих пор идет поиск наиболее эффективных кормов для выращивания посадочного материала.

Цель эксперимента – оценить эффективность добавления микроводорослей к базовому корму малька трепанга. Одноклеточные водоросли находятся в начале пищевой цепи большинства морских гидробионтов и содержат жизненно важные питательные веществ, такие как незаменимые аминокислоты, витамины и минеральные вещества (Паньков и др., 1988). Культивируемые виды микроводорослей могут быть использованы в качестве компонентов кормов для гидробионтов в аквакультуре. В ходе данной работы отслеживали выживаемость и весовой рост дальневосточного трепанга при добавлении в корм микроводорослей родов *Tetraselmis* и *Skeletonema*.

Эксперимент проводили в условиях аквариальной ННЦМБ ДВО РАН. Молодь дальневосточного трепанга привезена с завода, расположенного в Козьмино. Трепанги посажены в аквариумы в ноябре 2022 г. по 50 экземпляров в каждый. На начало эксперимента возраст голотурий достиг 2 месяца. Длительность эксперимента составила 3 месяца. Промеры (подсчет количества особей и взвешивание) производили 2 раза в месяц. В эксперименте было задействовано 3 аквариума, объем каждого составлял 300 л, площадь дна 0.48 м². Ежедневно в аквариумах отслеживали температуру, соленость и pH. Температура воды во время эксперимента в среднем составляла 17±0.1°C, соленость – 34±0.1 ‰, водородный показатель – 8.05±0.05.

Кормление молоди производили ежедневно с перерывом на выходные. Рецептатура основного корма включала ил, рыбную муку,

макроводоросли, дрожжи, глюкозу. Микроводоросли были получены по стандартной методике (Орлова и др., 2011) на МБС “Запад”. В дальнейшем с помощью сепаратора Сокол MS из зрелой культуры микроводорослей была произведена концентрированная паста, которая хранилась при -18°C . Доля микроводорослевой добавки в виде пасты составляла 3.6%.

Эксперимент проводили на трех группах. В первой группе добавкой к основному корму служила паста из микроводорослей *Tetraselmis* sp., во второй – паста из микроводорослей *Skeletonema costatum*. Третья группа – контрольная. Эффективность кормовой добавки оценивали по привесу массы трепангов.

В эксперименте использовали разноразмерные особи трепанга. На момент посадки минимальный вес был 0.04 г, максимальный – 1.18 г, в среднем масса одной особи составляла 0.12 ± 0.01 г.

Максимальный прирост массы наблюдался в группе трепангов, в корм которых добавляли пасту из *Tetraselmis* sp. За время наблюдений вес голотурий в этой экспериментальной группе увеличился в 6.8 раза. Масса особей трепангов, в рационе которых присутствовала *S. costatum*, увеличилась в 4.8 раза. Наименьший весовой рост отмечен в контрольной группе, к окончанию эксперимента он увеличился лишь в 1.8 раза. Динамика прироста массы трепанга отображена в таблице 1. Стоит отметить, что трепанги, которым не добавляли микроводоросли в корм, заметно хуже прибавляли в массе по сравнению с опытными партиями, за исключением последнего месяца, когда вес вырос на 89.5%. Данный случай связан с тем, что к этому времени выживаемость голотурий составила 40% и наибольшая доля умерших пришлась на мелких особей.

Выживаемость трепангов, получавших добавку одноклеточных водорослей, была выше, нежели тех особей, из рациона которых она были исключена (табл. 1). Наибольшая выживаемость трепангов отмечена для корма, обогащенного микроводорослью *S. costatum*. При добавлении водоросли *Tetraselmis* sp. выживаемость была немного ниже и составила 62%.

Таблица 1. Выживаемость и весовой прирост молоди дальневосточного трепанга при кормлении микроводорослями родов *Tetraselmis* и *Skeletonema*

| Номер промера | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|-----------------------------|-----|------|------|------|------|------|------|
| <i>Tetraselmis</i> sp. | | | | | | | |
| Выживаемость общая, % | 100 | 76 | 68 | 64 | 62 | 62 | 62 |
| Прирост веса, % | - | -7.5 | 85.6 | 21.8 | 80.9 | 46.5 | 21.8 |
| <i>Skeletonema costatum</i> | | | | | | | |
| Выживаемость общая, % | 100 | 100 | 100 | 94 | 92 | 88 | 74 |
| Прирост веса, % | - | -1.5 | 59.5 | 8.8 | 32.9 | 48.1 | 44.2 |

| Контроль | | | | | | | |
|-----------------------|-----|-----|------|-----|----|----|------|
| Выживаемость общая, % | 100 | 68 | 68 | 66 | 60 | 58 | 40 |
| Прирост веса, % | - | -10 | 11.1 | -30 | -6 | 20 | 89.5 |

Обобщённое заключение по результатам эксперимента состоит в следующем: а) добавка пасты из микроводорослей родов *Tetraselmis* и *Skeletonema* к корму положительно влияет на весовой рост дальневосточного трепанга; б) прирост массы трепанга выше при обогащении рациона водорослью *Tetraselmis* sp.; в) выживаемость трепанга составила 74% при использовании пасты из *S. costatum*, 62% из *Tetraselmis* sp.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФ № 21-74-30004 "Разработка современных подходов к созданию технологий устойчивого культивирования и воспроизводства ценных морских гидробионтов" (рук. Елисейкина М.Г.) и при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках достижения результатов федерального проекта "Передовые инженерные школы", Соглашение № 075-15-2022-1143 от 07.07.2022.

**МАССОВОЕ ВЫРАЩИВАНИЕ КУЛЬТУРЫ
МИКРОВОДОРОСЛИ *THALASSIOSIRA NORDENSKIOELDII*
(CLEVE, 1873) ДЛЯ КОРМОВЫХ ЦЕЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ОТКРЫТОЙ ПЛОЩАДКИ**

***Боцун Л.А., Пахлеванян А.А., Геворгян Т.А., Масленников С.И.,
Куличкова Л.Д.***

*Национальный научный центр морской биологии им А. В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, 3615-х@mail.ru*

В 1910 г., ученые из Британии Э. Аллен и Э. Нельсон внесли существенный вклад в развитие культивирования микроводорослей, включая самые ранние попытки выращивать их в качестве корма для морских животных. Они выделяли и выращивали микроводоросли родов *Chaetoceros*, *Skeletonema*, а также *Thalassiosira* в качестве корма для морских беспозвоночных. При добавлении в среду обитания культивируемых гидробионтов микроводоросли поглощают их метаболиты и выделяют кислород. Кроме того, было отмечено, что некоторые культуры микроводорослей обладают пробиотическим (антимикробным и фунгицидным) эффектом.

Большинство применяемых культур микроводорослей выращиваются при температуре в среднем 20°C, что применимо в качестве корма к строго ограниченному числу культивируемых гидробионтов.

Целью данной работы была отработка методики массового выращивания холодноводной культуры *Thalassiosira nordenskioeldii* для кормовых целей с использованием открытой площадки.

Работы проводили на МБС Запад. Маточную культуру *T. nordenskioeldii*, которая была выделена из фитопланктона залива Восток в 2020 г., содержали на питательной среде *f/2* в холодильной витрине в двух колбах Эрленмейера суммарным объемом 400 мл. Средняя температура составляла 4°C, свето-темновой режим 12/12. Пересеивание микроводорослей в летний период осуществляли 1 раз в две недели.

Для проведения исследования в октябре 2022 г. в холодильной витрине начали наращивать культуру до объема 20 л в течение 15 сут. Зрелость культуры оценивали визуально по увеличению плотности и приобретению темно-бурого цвета.

На следующем этапе культуру перенесли в экспериментальный цех, где поддерживали температуру в среднем 3.4°C, освещенность в среднем 6762 Lux. Использовали последовательно четыре емкости: две 100-литровые прозрачные в течение 8 сут, одна 500-литровая прозрачная

в течение 11 сут, одна ванна 1.4 т в течение 16 сут. Объем культуры из предыдущей емкости использовали как стартовую культуру для следующей.

Для наблюдения за ростом культуры использовали емкость объемом 1.4 т. Из этой емкости в течении 16 сут брали пробы объемом 10 мл, фиксировали раствором Утермеля для последующего подсчета клеток под световым микроскопом. Также измеряли оптическую плотность с помощью спектрофотометра ПЭ-5400ВИ в стеклянных кюветах с оптическим путем 10 мм. С 6 сут выращивания ежедневно отбирали из емкости по 100 литров культуры для получения концентрата в виде пасты с помощью проточной центрифуги (Сокол MS СЦМ 100 (80), 100 л/ч.). Из 1100 литров культуры всего получили 151.7 г. пасты микроводорослей. Максимальная численность клеток, зафиксированная на 15 сут выращивания, составляла 36210 кл/мл. Максимальная плотность, зафиксированная на 16 сут выращивания, составляла 0.0373 у.е.

В феврале 2023 г. на этапе уличного выращивания использовали три пластиковые емкости объемом 1.4, 1.4 и 2.4 т и разборный бассейн 30 т. В качестве стартовой использовали культуру, полученную в цеху. Одновременно все ванны заполняли стартовой культурой по 500 л и питательной средой по 900, 900 и 1900 л, соответственно. Бассейн заполняли культурой микроводорослей из уличных емкостей, объемом 5 т через 7 сут выращивания. Через 9 сут было получено 20 т зрелой культуры микроводорослей *T. nordenskioldii*, которые в дальнейшем использовали для биотехнологических целей.

В период уличного выращивания из емкостей брали пробы для измерения оптической плотности, температуры и освещения, ежедневно в 15:00 ч. Плотность в уличных пластиковых емкостях варьировала от 0.014 до 0.020 у.е. при температуре 3.8–5.7°C. В бассейне максимальная плотность была отмечена на уровне 0.020 у.е. при средней температуре 4.5°C. Освещенность в среднем составила 74081 Lux.

Таким образом, показана возможность массового выращивания холодноводной культуры *T. nordenskioldii* под открытым небом при температурах от 1.6 до 11.2°C.

Выражаем благодарность Нине Александровне Айздайчер за помощь в выделении и содержании стартовой культуры микроводоросли *T. nordenskioldii*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-30004).

3D-МОДЕЛИРОВАНИЕ АЛЛЕРГЕННЫХ БЕЛКОВ ЗООНОЗНОЙ НЕМАТОДЫ *ANISAKIS SIMPLEX* (ASCARIDIDA: ANISAKIDAE)

Вайнутис К.С.^{1,2}, Воронова А.Н.¹

¹Тихоокеанский филиал ФГБНУ "ВНИРО" ("ТИНРО"), г. Владивосток

²Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, г. Владивосток, konstantin.vainutis@tinro.ru;
anastasiya.voronova@tinro.ru

Методы компьютерного моделирования применяются в химии, биологии, биохимии и биоинформатике при описании новых молекул, конструировании молекул с заданными свойствами, создании наноматериалов, дизайне лекарственных средств. Целью данной работы являлась реконструкция третичных структур и выявление особенностей строения основных аллергенных белков зоонозной нематоды *Anisakis simplex* с применением методов компьютерного моделирования. В основу анализа положены 12 кодирующих нуклеотидных последовательностей шести аллергенных белков *A. simplex*, загруженных из GenBank и обработанных с помощью широкого спектра биоинформатических программ.

Всего известно 14 основных аллергенных белков нематоды *A. simplex*, вызывающих аллергические реакции у людей: Ani s 1 (ингибитор сериновой протеазы типа Кунитца) (Moneo et al., 2000; Shimakura et al., 2004), Ani s 2 (парамиозин) (Pérez-Pérez et al., 2000), Ani s 3 (тропомиозин) (Asturias et al., 2000), Ani s 4 (ингибитор цистеиновой протеазы) (Moneo et al., 2005; Rodríguez-Mahillo et al., 2007), Ani s 5 (белок семейства SXP/RAL-2) (Kobayashi et al., 2007), Ani s 6 (ингибитор сериновой протеазы, или серпин) (Kobayashi et al., 2007a), Ani s 7 (функции неизвестны) (Rodríguez et al., 2008), Ani s 8 (белок семейства SXP/RAL-2) (Kobayashi et al., 2007b), Ani s 9 (белок семейства SXP/RAL-2) (Rodríguez-Perez et al., 2008), Ani s 10 (функции неизвестны) (Caballero et al., 2011), Ani s 11 (функции неизвестны) (Kobayashi et al., 2011), Ani s 12 (функции неизвестны) (Kobayashi et al., 2011), Ani s 13 (гемоглобин) (González-Fernández et al., 2015) и Ani s 14 (функции неизвестны) (Kobayashi et al., 2015). Принята классификация этих белков по трём основным группам: экскреторные/секреторные (Ani s 1, Ani s 4, Ani s 5, Ani s 6, Ani s 7, Ani s 8, Ani s 9, Ani s 13), соматические (Ani s 2 и Ani s 3) и кутикулярные белки. На данный момент известна трёхмерная структура первых пяти, из которых четыре были реконструированы в программном обеспечении Phyre2 (Kochanowski et al., 2020). На основе последовательности белка Ani s 4 из базы данных Protein Data Bank

(PDB) была построена его третичная структура с применением программного обеспечения SWISS-MODEL (Rodriguez-Mahillo et al., 2007).

Ani s 1. Входит в семейство белков-ингибиторов сериновых протеаз типа Кунитца – бычий панкреатический ингибитор трипсина. Устойчив к термической обработке. Участвует в экскреторной функции, локализован в теле червя в выделительных железах (Gómez-Aguado et al., 2003).

Ani s 2. Парамиозин – соматический антиген. Не считая самого крупного из известных аллергена Ani s 7, белок Ani s 2 отличается наибольшей длиной, а по своей структуре представляет свёрнутую α -спираль. Молекулярная масса парамиозина наибольшая среди прочих аллергенных белков – 97 кДа (Pérez-Pérez et al., 2000).

Ani s 3. Аналогично парамиозину, тропомиозин является соматическим антигеном и входит в группу паналлергенов. Устойчив к термической обработке. Как и парамиозин, тропомиозин может участвовать в кросс-иммунных реакциях с антигенами некоторых беспозвоночных и имеет большое количество гомологов в природе (Guarneri et al., 2007).

Ani s 4. Входит в семейство белков цистатинов, основное свойство которых – ингибирование сериновых протеаз, или эндопептидаз, однако цистатин *A. simplex* ингибирует цистеиновые протеазы. Устойчив к термической обработке. Вступает в кросс-иммунные реакции с бытовыми аллергенами.

Ani s 5. Семейство белков SXP/RAL-2, куда также входят и некоторые другие аллергенные белки *A. simplex*. Устойчив к термической обработке. В теле червя локализован в выделительных железах, желудке, эпителии кишечника (Caballero et al., 2008).

Ani s 6. Входит в группу белков-ингибиторов сериновых протеаз. Имеет высокую идентичность аминокислотной последовательности с ингибиторами сериновой протеазы различных животных. Например, на 30% сходен с иммунореактивным предполагаемым ингибитором протеазы PrInh6 мухи цеце *Glossina morsitans morsitans* и на 29% – с медовым аллергеном Api m 6 медоносной пчелы *Apis mellifera* (Kobayashi et al., 2007).

В данной работе в соответствии с принципом моделирования по гомологии были реконструированы несколько десятков моделей наиболее изученных белков: ингибитор сериновой протеазы типа Кунитца Ani s 1, парамиозин Ani s 2, тропомиозин Ani s 3, цистатин Ani s 4, белок семейства SXP/RAL-2 Ani s 5, серпин Ani s 6. Модели вышеперечисленных белков были получены в программе PHYRE2 (Protein Homology/analogY Recognition Engine) (рис. 1).

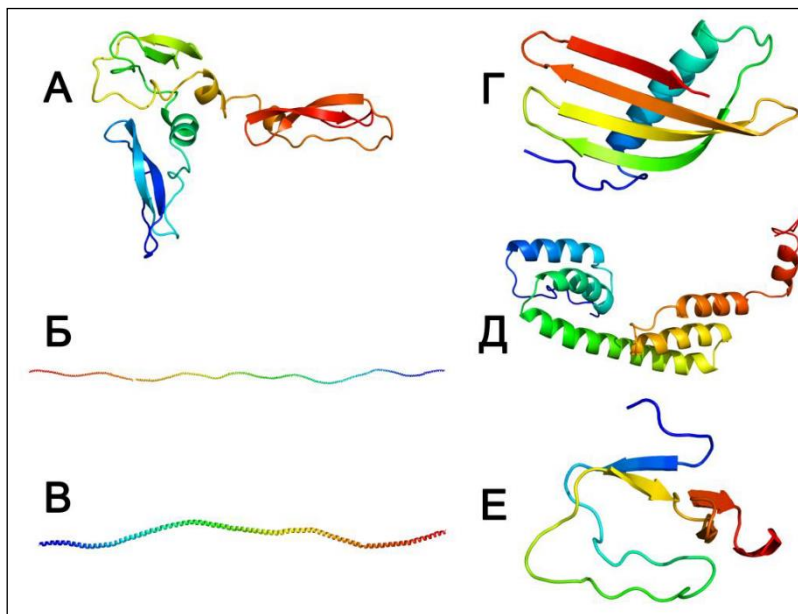


Рис. 1. Трёхмерная структура шести аллергенных белков *Anisakis simplex*. А – Ani s 1; Б – парамиозин Ani s 2; В – тропомиозин Ani s 3; Г – цистатин Ani s 4; Д – Ani s 5; Е – серпин Ani s 6.

Длина каждого из генов, кодирующих аллергенные белки вида *A. simplex*, значительно отличается. SNP-замены не влияют на результирующий фолдинг и локализуются в местах, не затрагивающих функционально важные области. Поэтому мы полагаем, что исследования в этой области должны быть продолжены в направлении поиска лекарственных препаратов естественного происхождения, способных вступать в реакцию с антигенами нематод *A. simplex* для прогнозирования связывания лиганда и рецептора посредством молекулярного докинга.

СОЗДАНИЕ ИНКЛЮЗИВНОЙ СРЕДЫ В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА

Ващенко И.С., Маслова М.Б.

*«Приморский океанариум» – филиал ННЦМБ ДВО РАН, г. Владивосток,
irishka_vashenko@mail.ru*

Последние годы российские учреждения социокультурного профиля всё больше обращаются к вопросам благоустройства с позиции инклюзии. Сегодня во многих музеях, галереях, зоопарках и океанариумах есть отделы инклюзивных программ или программы, направленные на создание доступной среды и комфортных условий для всех посетителей.

Приморский океанариум – одно из крупнейших предприятий социально-культурной сферы в Дальневосточном регионе, это площадка с богатым разнообразием аттрактивных ресурсов. Это позволило нам с октября 2019 года начать реализацию проекта «Океанариум для всех», направленного на посетителей с особыми потребностями. Целью проекта является создание инклюзивных условий для этих посетителей при осуществлении культурно-досуговой и просветительской деятельности в Приморском океанариуме.

Под понятием инклюзии мы понимаем процесс включения людей с особыми потребностями в активную общественную жизнь через создание для них адаптированной среды и оказание поддерживающих услуг. В основу инклюзии положена идеология, которая исключает любую дискриминацию и обеспечивает равное отношение ко всем людям.

Проект включает в себя работу в двух разных направлениях: познавательное и развивающее, с применением групповых и индивидуальных форм организации деятельности. Реализация групповой формы деятельности в проекте происходит через проведение адаптированных тематических занятий для организованных групп детей с особыми потребностями «Море в ладонях», а также адаптированной тематической экскурсии для посетителей всех возрастов с нарушением зрения «Знакомьтесь: лаконогие».

Желающим принять участие в программе «Море в ладонях» предлагается одно из двух тематических занятий на выбор: «Двое на лежбище, не считая моржа», которое рекомендуется группам людей с ментальными особенностями, и занятие «Море на кончиках пальцев» – эффективное для детей с нарушением зрения. Занятия проводятся в учебной аудитории и включают в себя посещение одной экспозиции.

Адаптированная тематическая экскурсия для посетителей всех возрастов с нарушением зрения, рассказывающая об особенностях сивучей, морских котиков и моржей, проходит в экспозиции «Ластоногие млекопитающие».

Для качественного восприятия информации и получения визуального контекста участникам экскурсии доступны тактильные и звуковые ресурсы экспозиции: модели морских млекопитающих, интерактивные стойки, звуки, издаваемые животными, и текстовый материал, составленный с учётом возможностей и потребностей данной категории посетителей.

Реализация индивидуальной формы деятельности в проекте осуществляется через проведение познавательно-развивающих маршрутов для детей с особыми потребностями «Хрустальный мост». В рамках данной программы используются различные методы, приемы и формы работы: элементы арт-терапии, упражнения творческого и подражательно-исполнительского характера, элементы коррекционно-развивающей работы. На первом этапе участия в программе дети проходят адаптацию к пространствам океанариума и педагогу. Для этого создаётся эмоционально благоприятная атмосфера в тематически оснащённых аудиториях. Идёт работа с большим количеством природного материала и средств альтернативной коммуникации. На втором этапе ребёнок погружается в деятельность, которая проходит в экспозициях океанариума, что даёт ему возможность наблюдать за живыми обитателями, а также использовать визуальные и аудиовизуальные технические средства. Параллельно со вторым этапом программы, идёт включение в процесс взаимодействия с морскими млекопитающими для бесконтактного и «малоконтактного» «общения» с участниками программы. Моделируются ситуации для пробуждения у ребёнка мотивации к выполнению игровых элементов в «партнёрстве» с животным и тренером.

Анализ полученных отзывов и наблюдения специалистов проекта, даёт возможность говорить о повышении уровня познавательной активности, улучшении общего эмоционального состояния, развитии наблюдательности и снятию психоэмоционального напряжения у участников проекта.

Регулярное информирование сотрудников Приморского океанариума о специфике коммуникации с посетителями, имеющими особые потребности и повышение квалификации специалистов, занимающихся инклюзивными услугами, позволяет открывать дальнейшие перспективы для развития проекта «Океанариум для всех».

МОЛЕКУЛЯРНАЯ РАЗМЕТКА ВЕРХУШКИ ПОБЕГА В КОЛОНИИ ТЕКАТНОГО ГИДРОИДА *DYNAMENA PUMILA*

Ветрова А.А.¹, Лебедева Т.С.², Кремнёв С.В.^{1,3}

¹Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, г. Москва,
lalavetrova@gmail.com

²Венский университет, г. Вена

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва,
s.kremnyov@gmail.com

Установление молекулярной разметки плана строения является одним из ключевых процессов, определяющих план строения животного. Особенно многообещающими для изучения закономерностей молекулярной разметки тела являются представители типа Cnidaria, занимающие сестринское филогенетическое положение по отношению к Bilateria. Отличительной особенностью колониальных книдарий является непрерывный рост и морфогенез на протяжении всей жизни колонии, что делает их удобными модельными объектами для сравнительных исследований эволюции механизмов, определяющих разметку тела.

Наиболее широкий спектр морфологического разнообразия среди книдарий демонстрируют колониальные гидроидные полипы (Cnidaria, Hydrozoa). Их колонии состоят из прикрепленных к субстрату столонов, на которых через определённые промежутки расположены отдельные радиально симметричные зооиды колонии или побеги, несущие большое число зооидов. Побег заканчивается особым специализированным органом, верхушкой роста, в котором происходят циклические морфогенетические процессы, приводящие к формированию новых междоузлий и узлов колонии. Именно морфогенетическая активность верхушки роста определяет архитектуру колонии гидроидов, которая, в зависимости от вида, может иметь различные уровни сложности и типы симметрии.

Большинство исследований в области Evo-Devo, использующих книдарий в качестве объекта, посвящено одиночным полипам (*Nematostella*, *Hydra*), либо видам с просто устроенной колониальной колонией (*Hydractinia*). Наш объект исследования, беломорский гидроид *Dynamena pumila*, обладает архитектурно сложной колонией. У этого гидроида морфогенетические процессы приводят к разделению верхушки роста септами на три зачатка: центральный становится новой верхушкой роста, а два боковых – зачатками гидрантов. В своей работе мы исследовали пространственные паттерны экспрессии генов

компонентов канонического Wnt каскада (рис. 1) и гена *Nodal* в верхушке роста колонии *D. pumila*, а также исследовали влияние активности этих каскадов на разметку верхушки роста с помощью фармакологических модуляций.

С помощью метода гибридизации *in situ* мы показали равномерную апикальную экспрессию *Wnt3* в верхушке роста побега. Экспрессия *Wnt8* была нами обнаружена на латеральных поверхностях верхушки роста с самого начала её формирования. Именно на латеральных поверхностях верхушки происходят морфогенетические процессы, обеспечивающие её рост. В области, где произойдёт закладка септ, которые отделят латеральные поверхности новой верхушки роста от гидрантов, мы также обнаружили экспрессию генов *Wnt*, β -катенина и TCF, компонентов канонического сигнального пути. Вероятно, пространственная предразметка верхушки роста происходит перед или сразу после начала её формирования. Так, экспрессия *Wnt7* с самого начала формирования верхушки роста наблюдается только в зачатках гидрантов и отсутствует в зачатке верхушки роста побега. Интересно, что также только в зачатках гидрантов мы обнаружили экспрессию гена *Wnt*, *Brachyury2*, мишени канонического сигнального пути. Таким образом, экспрессия *Wnt7* и *Brachyury2* маркирует зачатки гидрантов. В то же время под будущими гидрантами в эктодерме латеральных поверхностей верхушки роста побега наблюдается экспрессия *Wnt2*. Паттерн экспрессии *Wnt2* напоминает полукольца. Вероятно, его экспрессия определяет границу между телом гидранта и остальным ценосарком колонии.

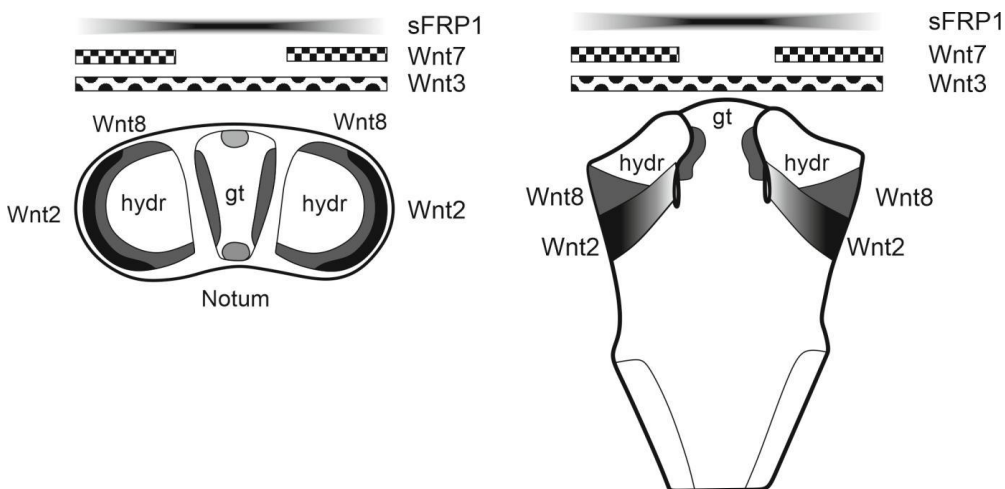


Рис. 1. Экспрессия некоторых генов-компонентов канонического сигнального пути Wnt в верхушке побега *Dynamena pumila*. hydr - зачаток гидранта, gt - зачаток верхушки роста.

Экспрессия антагониста сигнального пути *cWnt*, *sFRP1* была обнаружена нами в апикальной эктодерме с максимумом в зачатке будущей верхушки роста побега. Экспрессию другого эндогенного ингибитора *Wnt*, *Notum* мы обнаружили в эктодерме фронтальных сторон побега на ранней стадии формирования верхушки роста. Вероятно, *Notum* обеспечивает билатерально-симметричную молекулярную разметку верхушки роста побега на ранних стадиях её развития.

Таким образом, мы можем сделать вывод, что *Wnt2*, вероятно, отвечает за формирование границы ценосарка и высоко специализированных органов колонии, *Wnt3* и *Wnt8* отвечают за индукцию формирования верхушки роста побега, а *Wnt7* – самый ранний маркер спецификации гидрантов. Эндогенные ингибиторы сигнального пути *Wnt*, вероятно, блокируют дифференцировку центрального зачатка в гидрант, что позволяет ему продолжить функционировать как верхушка роста. Данные по паттернам экспрессии совпадают с результатами, полученными в ходе модуляции активности сигнального пути *cWnt*. Так, гиперактивация приводит к превращению всей верхушки роста побега в гидрант.

Экспрессию *Nodal* у *D. pumila* мы выявили только в зачатке верхушки роста побега, в регионах между формирующимися гидрантами. Фармакологическое подавление сигнального пути *Nodal* вызывает полную остановку роста верхушки побега при высоких концентрациях ингибитора. При низких концентрациях в ходе морфогенеза верхушки роста побега первичной колонии формируется дополнительная септа перисарка. Закладка дополнительной септы происходит как раз в области экспрессии *Nodal* в верхушке роста побега колонии *D. pumila*. Таким образом, верхушка роста побега разделяется не на три зачатка, как происходит в норме, а на четыре, что в итоге приводит к формированию двух гидрантов и двух новых верхушек роста побега.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-04-00978а.

СООТНОШЕНИЕ МОРФОТИПОВ СПЕРМАТОЗОИДОВ У ГЕНЕТИЧЕСКИ ПОДТВЕРЖДЕННЫХ ОСОБЕЙ *MYTILUS* *TROSSULUS* ВАРЬИРУЕТ В РАЗНЫХ РАЙОНАХ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ЯПОНСКОГО МОРЯ

Вехова Е.Е.¹, Киселев К.В.², Реунов А.А.¹, Реунова Ю.А.¹, Александрова
Я.Н.¹, Ахмадиева А.В.¹, Пименова Е.А.¹

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, vechova@gmail.com

²Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты
Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток

Двустворчатый моллюск мидия тихоокеанская *Mytilus trossulus* Gould, 1850 является обычным компонентом донных сообществ Японского моря. *M. trossulus* – промысловый объект, который успешно культивируется на Дальнем Востоке России. Создание марикультурных хозяйств для разведения данного вида – весьма перспективное направление развития российской экономики в Приморье. В 2018 г. нами разработан метод, который позволяет установить географическую принадлежность объектов марикультуры, что может быть использовано для выявления подмен на рынке морепродуктов. Метод основан на подсчете внутривидовых морфотипов сперматозоидов у двустворчатых моллюсков, обитающих в естественной среде тестируемых районов.

Целью настоящей работы было провести сравнительный анализ внутривидового разнообразия строения мужских гамет у *M. trossulus* из разных акваторий зал. Петра Великого под контролем митохондриального гена цитохром *c* оксидазы субъединицы I (*COI*).

Материалом для исследования послужили половозрелые самцы *M. trossulus*, собранные на глубине 0.5–2 м в мае–июне 2019–2020 гг. с помощью водолазной службы ННЦМБ ДВО РАН в Амурском заливе (43°10'07.05" с.ш., 131°53'49.33" в.д. – точка 1), в Уссурийском заливе (43°18'83.65" с.ш., 132°11'23.44" в.д. – точка 2), в проливе Босфор Восточный (43°04'39.9" с.ш., 131°51'10.74" в.д. – точка 3) и в зал. Восток (42°53'37.22" с.ш., 132°43'33.14" в.д. – точка 4). *COI* ДНК-баркодинг проведен в лаборатории биотехнологии Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН. В лабораторных условиях у экземпляров *M. trossulus* фотографировали раковины. Для исследования ультраструктурной морфологии сперматозоидов методами трансмиссионной (ТЭМ) и сканирующей (СЭМ) электронной микроскопии кусочки зрелых гонад (1–2 мм²) фиксировали в 2.5% растворе глютаральдегида, приготовленном на 0.1

М какодилатном буфере (pH 7.4). Всего у *M. trossulus* было проанализировано 1200 сперматозоидов. У каждой особи рассчитывали частоту встречаемости каждого морфотипа в программе Microsoft Excel с использованием t-критерия Стьюдента, при уровне значимости $p < 0.05$. Полученные данные выражены как среднее арифметическое значение и стандартная ошибка.

- Сравнительный молекулярный анализ нуклеотидной последовательности митохондриального гена COI показал, что все исследованные экземпляры генетически стабильны и принадлежат одному и тому же виду двустворчатого моллюска – *M. trossulus*.
- Наряду с другими морфологическими признаками раковины, у всех экземпляров *M. trossulus* из исследованных акваторий зал. Петра Великого под лигаментом обнаружена непрерывная полоска призматического слоя.
- Результаты ТЭМ и СЭМ показали, что для *M. trossulus* из Амурского и Уссурийского заливов, пролива Босфор Восточный и зал. Восток характерен гетероморфный набор сперматозоидов: морфотип с прямой, укороченной акросомой с хорошо выраженным базальным кольцом и овальным ядром (1); морфотип с прямой, удлиненной акросомой с хорошо выраженным базальным кольцом и овальным ядром (2); морфотип с прямой, укороченной акросомой с расширенным основанием, без базального кольца и с овальным ядром (3); морфотип с прямой, удлиненной акросомой с асимметричным базальным кольцом и овальным ядром (4); морфотип с прямой, удлиненной акросомой с расширенным основанием, без базального кольца и овальным ядром (5); морфотип с изогнутой акросомой с расширенным основанием, без базального кольца и с овальным ядром (6); морфотип с изогнутой акросомой с хорошо выраженным базальным кольцом и овальным ядром (7); морфотип с прямой, удлиненной акросомой с хорошо выраженным базальным кольцом и трапециевидным ядром (8). В первых трех акваториях зал. Петра Великого у *M. trossulus* обнаружено 6 морфотипов сперматозоидов. Наиболее выраженным гетероморфизмом сперматозоидов характеризуются особи этого вида из зал. Восток, где было обнаружено 8 морфотипов сперматозоидов.
- У двух разных видов митилид мидии тихоокеанской *M. trossulus* и мидии Грея *Crenomytilus grayanus* из зал. Восток Японского моря обнаружен общий морфотип сперматозоида с прямой, удлиненной акросомой с хорошо выраженным базальным кольцом и трапециевидным ядром (8).
- Количественный анализ показал, что у *M. trossulus* из Амурского залива доля 1, 2, 3, 4, 5, 6 морфотипов в популяции сперматозоидов

составляет 49, 19, 13, 2, 2 и 15% соответственно. У моллюсков из Уссурийского залива доля 1, 2, 3, 4, 5, 6 морфотипов в популяции сперматозоидов составляет 47, 27, 10, 4, 2 и 10% соответственно. У мидий из пролива Босфор Восточный доля 1, 2, 3, 4, 5, 6 морфотипов в популяции сперматозоидов составляет 45, 23, 12, 4, 4 и 12% соответственно. У *M. trossulus* из зал. Восток доля 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 морфотипов в популяции сперматозоидов составляет 33, 13, 11, 5, 5, 4, 27 и 2% соответственно.

- В основе внутривидового гетероморфизма сперматозоидов, выявленного у *M. trossulus* в разных акваториях зал. Петра Великого, лежат эпигенетические факторы.
- В Амурском и Уссурийском заливах, в проливе Босфор Восточный, стабильно доминируют одни и те же морфотипы сперматозоидов (1 и 2). В зал. Восток образуется большее количество морфотипов сперматозоидов с преобладанием морфотипов 1 и 7. Таким образом, с помощью обнаруженного маркерного признака возможна географическая идентификация *M. trossulus*.

МИКРОБНЫЕ ТОПЛИВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ДОННОГО ТИПА – ОПЫТ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ЯПОНСКОГО МОРЯ

*Масленников С.И.¹, Волченко Н.Н.², Лазукин А.А.³, Пахлеваян А.А.¹,
Самков А.А.², Худокормов А.А.²*

*¹Национальный научный центр морской биологии имени А.В.
Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, 721606@mail.ru*

*²Кубанский государственный университет, г. Краснодар,
volchenko.n@mail.ru*

*³Национальный исследовательский университет ИТМО, г. Санкт-
Петербург, lazukin1996@mail.ru*

Актуальной проблемой исследования морских экосистем является автоматизация их мониторинга, возможность получения данных о параметрах среды в непрерывном и дистанционном режиме. Наиболее сложной задачей считается оценка биологической активности донных осадков. Известно, что входящая в их состав микрофлора играет большую роль в биогеохимических процессах морской среды, участвуя в редуционном цикле биогенных элементов. Однако исследование её активности традиционно основывается на ручном отборе образцов донных осадков с последующим анализом в лабораторных или полевых условиях. С одной стороны, это даёт исчерпывающую картину состояния донной микробиоты по искомым параметрам, с другой – ограничивает возможность дистанционного мониторинга, в том числе в непрерывном режиме. С этой точки зрения перспективным представляется биоэлектрохимический подход, реализуемый посредством технологии микробных топливных элементов (МТЭ), когда в качестве суммарного показателя метаболических процессов используется величина потока электронов, собираемая размещенным в бентосном слое электродом. В МТЭ такого типа разность потенциалов задаётся размещённым на границе с водной средой катодом, в донном грунте – анодом, с которым взаимодействует аборигенная анодофильная микрофлора, осуществляющая процессы анаэробного дыхания с электродом как конечным акцептором электронов для своих дыхательных цепей.

Нами были сконструированы несколько вариантов донных биотопливных элементов, установленных в бухте “Тихая Заводь” на базе биостанций “Восток” и “Запад” ННЦМБ ДВО РАН. В рамках изучения основ биоэлектрогенеза были проанализированы соотношения электрического напряжения, создаваемого микробными топливными

элементами и количества белка биоплёнок, смытых с их биоанодов. А также проанализированы скорость выделения углекислого газа и уровень биоэлектrogenеза у различных образцов донных грунтов – свежего нативного ила, высушенного ила, применяемого для кормления трепангов и песчано-ракушечного грунта из прибойной зоны. На основании полученных данных можно отметить зависимость между биоэлектrogenезом устройств и количеством белка анодофильных бактерий, присутствующих на углеродном электроде. На рисунке 1 приведен пример замеров уровня электрического напряжения, создаваемого в бентосных микробных топливных элементах различными образцами донных грунтов. Он был максимален у свежего нативного ила (более 500 мВ), имел меньшую величину у ила, хранившегося в сухом виде (200–350 мВ), и минимальную у бедного органическими соединениями грунта прибойной зоны (менее 50 мВ). Образцы, обладающие большим электrogenезом, обладали и более высоким уровнем продукции углекислого газа – соответственно 1.29, 1.04 и 0.02 мкг/г*ч. Таким образом, электrogenная активность донного микробного сообщества может быть использована как показатель его метаболической активности, отличающийся возможностью автоматического непрерывного мониторинга с дистанционной передачей данных.

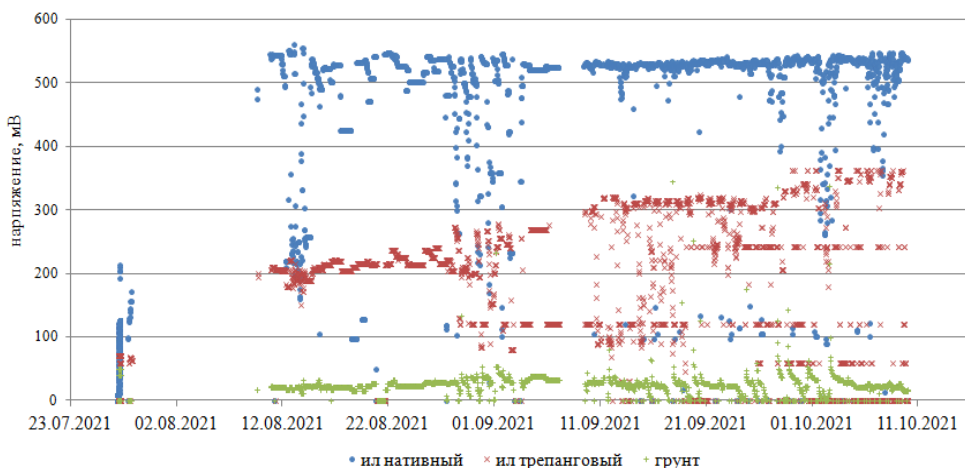


Рис. 1. Электрическое напряжение, создаваемое в бентосных микробных топливных элементах различными образцами донных грунтов

Также был изучен характер распределения ионов аммония и фосфата в слое грунта между электродами (на примере нативного ила). Аммоний и фосфат количественно доминировали в верхней части толщи грунта, наиболее удаленной от биоанода. В прианодной зоне их

количество было минимально, как и в самом углеродном материале анода.

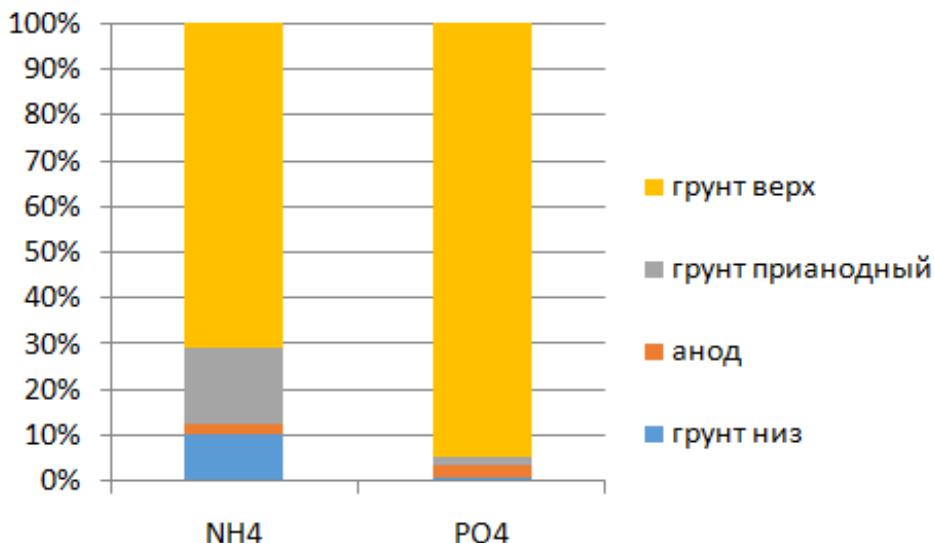


Рис. 2. Нормированная диаграмма вертикального распределения ионов NH₄⁺ и PO₄³⁻ в бентосном МТЭ

Пониженные содержания азота и фосфора могут свидетельствовать об их активной метаболизации анодофильной микрофлорой в качестве биогенных соединений. Таким образом, биоэлектрохимические процессы могут служить основой для активизации превращения биогенных элементов.

Разработанные варианты подводных устройств, включающих микробные топливные элементы бентосного типа, датчики мониторинга водной среды, системы сбора и передачи информации осуществляли автоматическую регистрацию температуры, освещенности и солёности воды с периодичностью 48 раз в сутки на протяжении более 13 мес. Электрогенная активность донной микробиоты потенциально может стать новым возобновляемым источником энергии для маломощной морской электроники в марикультуре, основой для биосенсорных технологий и технологий биоремедиации.

СЕРОТОНИН И ДОФАМИН В ЖИЗНЕННОМ ЦИКЛЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ: ЧТО МЫ ЗНАЕМ 20 ЛЕТ СПУСТЯ

Воронежская Е.Е.

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва,
elena.voronezhskaya@idbras.ru*

В своем развитии большинство беспозвоночных животных проходит через несколько последовательных фаз жизненного цикла. В теле половозрелого организма формируется яйцеклетка, оплодотворенное яйцо проходит дробление, вслед за стадиями бластулы и гастролы происходит органогенез и формируется личинка. Личиночных стадий может быть одна или несколько, в зависимости от конкретного вида животного. И, наконец, личинка становится компетентной, проходит метаморфоз и приобретает все черты и функции ювенильного животного. Разнообразие беспозвоночных животных, особенно морских беспозвоночных, настолько велико, что для каждой группы или даже разных видов внутри одной группы, существует множество специфических форм, характерных для каждой фазы жизненного цикла. Часто различные формы существуют в окружающей среде, значительно различающейся по своим характеристикам. Наиболее ярко это выражено в случае паразитических форм, когда разные личинки существуют в разных организмах-хозяевах. Распространенным также является бифазный жизненный цикл с бентосной взрослой формой и свободноплавающей пелагической личинкой, которая претерпевает метаморфоз (часто катастрофический) и затем оседает. Существует также и большое количество вариаций жизненного цикла. Считается, что такое разнообразие позволяет каждой форме в определенной фазе жизненного цикла наилучшим образом адаптироваться к конкретным условиям, что обеспечивает лучшую выживаемость и дает эволюционное преимущество для всего вида в целом.

На каждой фазе жизненного цикла личинки имеют механизмы тонкой регуляторной подстройки к окружающим условиям. С одной стороны, зародыши претерпевают последовательные изменения в соответствии с разворачивающейся генетической программой развития. Последовательность этих изменений регулируется молекулярно-генетическими факторами. С другой стороны, эта программа не является жесткой, на каждом этапе возможна модуляция со стороны окружающих факторов или низкомолекулярных регуляторов. В нашей группе на протяжении более 20 лет исследуется регуляторная роль моноаминов –

серотонина и дофамина – на разных стадиях жизненного цикла беспозвоночных.

Основные экспериментальные исследования выполнены на модельных пресноводных брюхоногих моллюсках – большом прудовике (*Lymnaea stagnalis*) и катушке (*Helisoma trivolvis*). Часть данных также получена на морских полихетах (*Platynereis dumerilii*) и личинках морских ежей (*Mesocentrotus nudus* и *Paracentrotus levis*).

Мы показали, что сезонные изменения уровня серотонина в материнском организме пресноводных моллюсков определяют циклические вариации темпов развития зародышей, локомоторную активность личинок и ювенильных особей, пищевые предпочтения, обеспечивая общую стратегию развития потомков. Впервые доказано, что серотонилирование (посттрансляционная модификация) белков в бластомерах на стадиях дробления задействовано в реализации таких долговременных отложенных эффектов серотонина в развитии. На стадии трохофоры и велигера у личинок появляются апикальные нейроны, содержащие серотонин (5-НТ) и дофамин (ДА). Эти клетки являются аналогом апикального органа (АО), характерного для большинства личинок трохофорных животных. Эти сенсорные нейроны реагируют на химические сигналы, выделяемые ювенильными и взрослыми особями в неблагоприятных условиях скученности и голода. Нам удалось выделить это вещество (RED-фактор) и установить его химическую структуру. В ответ на RED-фактор нейроны АО увеличивают синтез и выброс моноамина, который по гуморальному принципу действует в объеме развивающегося зародыша. В результате, на стадиях развития до метаморфоза личинки замедляют свое развитие, а после метаморфоза, наоборот, ускоряют. Эти процессы обусловлены разным соотношением рецепторов к 5-НТ и соответствующих G-белков. Активация внутриклеточных путей приводит к суммарному разнонаправленному результату: ускорению или замедлению темпов развития. Мы предполагаем, что именно изменение экспрессии рецепторов к серотонину определяет компетентность личинки и ее готовность к метаморфозу. Баланс 5-НТ и ДА в апикальных нейронах личинки меняется в зависимости от уровня серотонина в материнском организме. В совокупности вся система обеспечивает тонкую подстройку процесса развития и формирования поведения к конкретным внешним условиям, с которыми встретится личинка после вылупления и оседания. А серотонин является одним из связующих звеньев в этой цепочке регуляций, действуя как через мембранные рецепторы, так и через модификацию внутриклеточных белков.

Подобные регуляции темпов развития в ответ на внешний химический сигнал обнаружены нами также и у морской полихеты, и у личинок морских ежей. У личинок полихет замедляется развитие, а в

случае переизбытка 5-НТ происходит сбой в формировании нервной системы. У личинок морских ежей химические сигналы вызывают изменение в длине рук, что существенно для захвата пищи. Мы обнаружили, что у личинок ежей одного и того же возраста число 5-НТ клеток постоянно, а число ДА клеток существенно варьирует. Соотношение 5-НТ и ДА нейронов определяет перемещение личинки в водном столбе. По всей видимости, такой механизм обеспечивает вариабельность миграций личинок в толще воды, что также способствует успешности расселения.

Таким образом, за двадцать лет исследований нами были выявлены ключевые клеточные мишени и молекулярные механизмы, лежащие в основе регуляторной функции серотонина и дофамина на разных стадиях жизненного цикла у нескольких модельных водных беспозвоночных. Сходство выявленных феноменов позволяет говорить о консервативности моноамин-опосредованных регуляторных процессов, обеспечивающих адаптивные подстройки развития и поведения.

Оригинальные исследования выполнены при финансовой поддержке грантов РФФИ № 15-04-07573, № 18-04-01213 и РФФ № 17-14-01353. Модуляция медиаторной специфичности нейронов выполнена в рамках проекта РФФ № 22-14-00375.

НЕОБЫЧНОЕ СВОЙСТВО МИОЗИНА МЫШЦ-ЗАМЫКАТЕЛЕЙ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ (BIVALVIA)

Вятчин И.Г.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, vyatchin@live.ru*

Миозин – один из ключевых белков в биологической подвижности, формирующий моторную основу сократительного аппарата любой мышцы (Vale et al., 1984). В данной работе изучали свойства миозина мышц-замыкателей двустворчатых моллюсков. Эти мышцы, известные также под названием запирательных, обладают способностью к формированию запирательного тонуса – уникального состояния, в котором они способны поддерживать развитое усилие продолжительное время без затрат АТФ (Parnas et al., 1910). Уникальность реализуемой этими мышцами функции, очевидно, находит отражение в устройстве их сократительного аппарата, а также свойствах белков, его составляющих. Не является исключением и миозин. Так, в отличие от миозина, например, скелетных мышц позвоночных, он обладает собственной кальций-чувствительностью, то есть способен самостоятельно регулировать свое взаимодействие с актином в зависимости от концентрации кальция в среде (Vale et al., 1984). Другим, необычным свойством этого миозина является неожиданно высокое сродство к актину: диссоциировать этот миозин от актина, добавляя избыток АТФ, как оказалось, невозможно (Vyatchin et al., 2020). Оба эти свойства миозина необычайно важны при изучении запирательной мышцы, так как играют определяющую роль в регуляции перехода ее сократительного аппарата из одного функционального состояния в другое. Поэтому в данной работе мы предприняли попытку изучить причины того, почему “расслабления” сократительного аппарата запирательной мышцы мидии Грея (*Crenomytilus grayanus*) не удается достичь, насыщая миозин АТФ.

Ранее нами было показано, что введение АТФ в реконструированный сократительный аппарат запирательной мышцы, вплоть до концентрации 1 мМ, не приводит к разделению тонких и толстых нитей, как это бывает в случае других мышц. Увеличение же концентрации АТФ выше 1 мМ ведет к постепенному растворению миозинового полимера. Изучая в данной работе механизм оказываемого АТФ действия, мы предприняли попытку воздействия на миозин с помощью АДФ. Это соединение близко по структуре к АТФ, оно обладает одной макроэргической связью, но его сродство к АТФ-чувствительному сайту миозина значительно ниже, чем у АТФ. Поэтому,

используя АДФ, мы надеялись достичь концентрации нуклеозидфосфатов, достаточной для преодоления сродства миозина к актину, но еще не приводящих к разрушению полимерной структуры толстой нити.

Первые эксперименты по изучению воздействия АДФ на сократительную модель действительно показали, что влияние небольших количеств АТФ и АДФ существенно отличается. Введение в сократительную модель 0.5 мМ АТФ ожидаемо (Shelud`ko et al., 1994) приводило к резкому росту ее оптической плотности (ОП), свидетельствующему о происходившем в ней активном “сокращении”. В то же время введение 0.5 мМ АДФ существенно не сказывалось на ОП. Однако дальнейшее увеличение концентрации АДФ в модели (которое по аналогии с АТФ могло привести к растворению миозинового полимера) неожиданно приводило к заметному росту ОП, свидетельствующему об активации актин-миозинового взаимодействия. Несмотря на убедительно доказанную ранее взаимосвязь между изменением уровня ОП модели и ее функциональными состояниями (Shelud`ko, Kropacheva, 1996), а также устойчивую воспроизводимость результатов (в том числе с реактивом другого производителя), интерпретировать наблюдаемое явление как совершение миозином функциональной работы было трудно. Однако определение в растворе неорганического фосфата, образующегося при расщеплении макроэргических связей, проведенное по методу Херса (Tausky, Shorr, 1953), действительно показало, что миозин запирательной мышцы способен к АДФазированию. При этом эффективность расщепления им АДФ всего вдвое уступает уровню его АТФазной активности (рис. 1).

Следует отметить, что характер зависимости уровня АТФазной/АДФазной активности миозина от содержания в среде АТФ/АДФ одинаков: вплоть до 1 мМ уровень активности пропорционален количеству введенного нуклеозидфосфата.

Как показал анализ литературы, данные о подобной способности миозина получены нами впервые. Ранее собственное влияние АДФ на актомиозин, в отрыве от влияния АТФ, не изучали (De La Cruz et al., 2000; Kobayashi et al., 2019). Поэтому на следующем этапе мы проверили на этот предмет миозины других мышц: гладкой и поперечнополосатой частей аддуктора гребешка (*Patinopecten yessoensis*) и скелетных (спинных) мышц кролика (*Oryctolagus cuniculus*), как главного модельного объекта в исследованиях мышечной подвижности. Оказалось, что способность к АДФазированию характерна не только для миозина запирательной мышцы мидии, но и для остальных, протестированных нами. Тем не менее, уровень АДФазной активности зависит от типа организации мышц – являются ли они гладкими, или поперечнополосатыми. Так, миозины поперечнополосатых мышц

гребешка и скелетных мышц позвоночных демонстрируют чрезвычайно низкий (7–10%) уровень АДФазной активности, по сравнению с характерным для этих мышц высоким уровнем АТФазной. В то же время, значения, полученные для миозинов гладких мышц мидии и гребешка, фактически совпадают, и составляют около 50% от максимально достижимого ими уровня АТФазной активности.

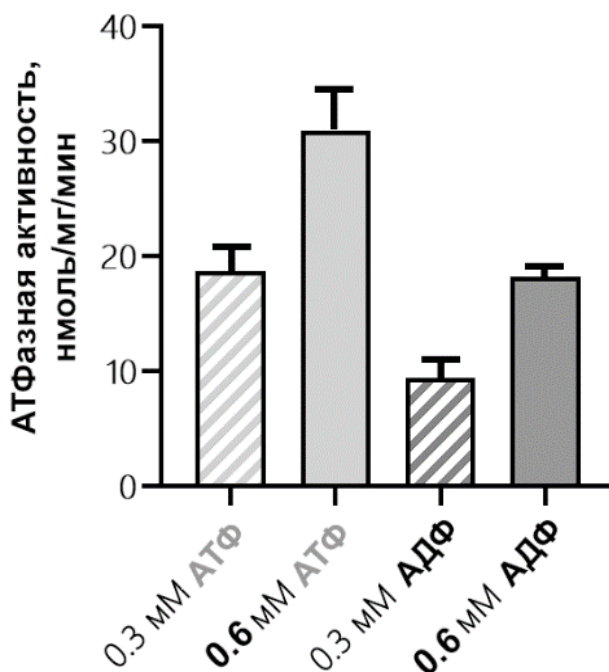


Рис. 1. Зависимость показателя АТФазной и АДФазной активности актомиозинового комплекса мидии Грея от количества добавленного АТФ и АДФ. Условия: миозин – 0.1 мг/мл; актин 0.1 мг/мл; АТФ, АДФ, 0.3–0.6 мМ.

Полученные нами данные заставляют пересмотреть устоявшиеся представления о роли АДФ в функционировании сократительных аппаратов. Как минимум это касается гладких мышц-замыкателей двустворчатых моллюсков. Вероятно, способность этих мышц к более эффективному АДФазированию может быть связана с их защитной функцией и необходимостью, несмотря на условия стресса и дефицита энергии, поддерживать развитое ими напряжение в течение очень длительного времени.

КЛИМАТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА РУБЕЖЕ ВЕКОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА МОЛОДЬ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ИЗ ЯПОНСКОГО МОРЯ

Гайко Л.А.

*Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева, ДВО
РАН, г. Владивосток*

*Дальневосточный технический рыбохозяйственный университет,
г. Владивосток,
gayko@yandex.ru*

В продолжение исследований климатической изменчивости в прибрежной зоне Приморского края в данной работе рассматриваются особенности термического режима в южной части Приморья – в зал. Посъета (зал. Петра Великого, Японское море) за период 1960–2020 гг. по данным гидрометеорологической станции (ГМС) Посъет. Выбор района обусловлен тем, что в заливе с 1970 по 2012 гг. в хозяйстве марикультуры в естественной среде проводилось выращивание приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* (Jay) (Белогрудов, 1986). Исследовали влияние термических ресурсов на различные стадии годового цикла развития гребешка, так как температура воды является фактором, значение которого неизменно велико на любой стадии развития моллюсков (Касьянов и др., 1983).

По результатам мировых исследований последнее десятилетие прошлого века было самым тёплым десятилетием столетия (IPCC, 2007 4; Climate Change, 2013). Для прибрежных районов Приморья данное утверждение подтверждается работами автора (Гайко, 2005, 2006, 2022; Gayko, 2011, 2012). Автором также отмечено, что начало нового века подхватило эстафету высоких температур. Муссонный климат умеренных широт, к которому относится и климат Приморского края, характеризуется четко выраженной сезонностью распределения температуры (Климат..., 1983). В прибрежной зоне годовой ход температуры воды и воздуха имеют один минимум (в январе) и один максимум (в августе). За период исследования среднегодовая температура воздуха на ГМС Посъет составила 6.4°C, воды – 9.1°C; среднемесячная температура в январе – воздуха -9.5°C, воды -1.6°C, в августе 21.1°C и 23.3°C, соответственно. Исследуя динамику среднегодовых температур воды и воздуха с 1960 по 2020 г. был выявлен положительный линейный тренд, значимый на 5% уровне (рис. 1). В 70-е годы, когда начали выращивать гребешок, в районе преобладали отрицательные аномалии температуры, а с 1989 по 2012 г.

наблюдались практически только положительные. Можно отметить, что 1989 г. явился переломным как для температуры воздуха, так и для температуры воды, произошёл её резкий скачок, который был отмечен автором на всём побережье юга Приморья (Гайко, 2005).

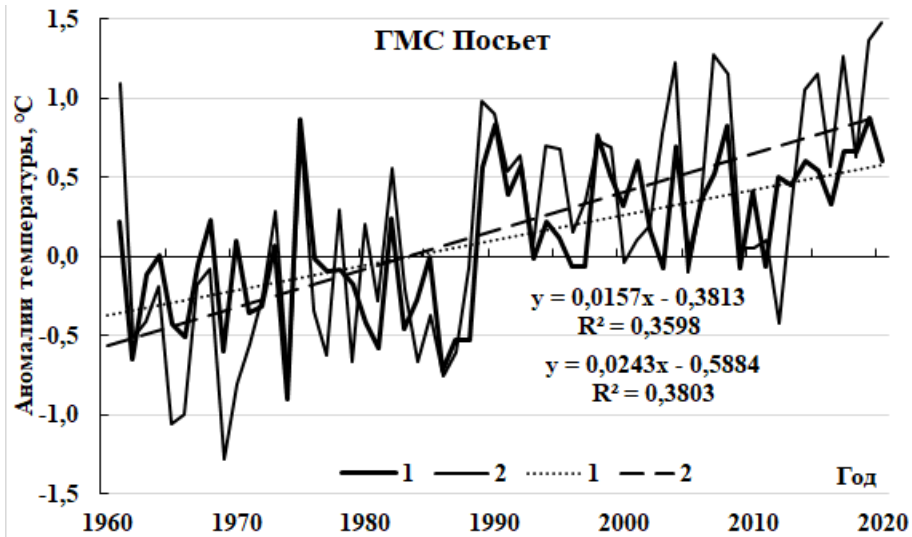


Рис. 1. Отклонение от нормы средней годовой температуры воды (ГВ) и температуры воздуха (ГА) на ГМС Посыет.

Повышение температуры воды на ГМС Посыет в среднем происходило со скоростью $0.16^{\circ}\text{C}/10$ лет, а воздуха – $0.24^{\circ}\text{C}/10$ лет. Если проанализировать ход температуры воды и воздуха по ключевым месяцам, то её прирост для обеих сред в августе и для температуры воздуха в январе составлял $0.21\text{--}0.30^{\circ}\text{C}/10$ лет, а в январе прирост температуры воды – всего $0.02^{\circ}\text{C}/10$ лет. Размах колебаний среднегодовой температуры воздуха за рассматриваемый период составил 2.8°C , а воды – 1.8°C .

Для оценки влияния климатических изменений на развитие моллюсков рассматривали четыре важных периода в годовом жизненном цикле приморского гребешка: I период – преднерестовый, II период – планктонное развитие, III период – оседания личинок, IV период – начало гаметогенеза. Так как ряд наблюдений в 90-х годах был прерван, вычисления были проведены отдельно для временных интервалов 1970–1990 и 1996–2012 гг., практически на рубеже веков. Сравнение средних температур показало, что температура I и II периодов для временного интервала 1996–2012 гг., по сравнению с 1970–1990 гг., незначительно повысилась, а температура IV периода – незначительно (на 0.1°C) понизилась, в то время как температура III

периода (период оседания) выросла на градус (1.0°C). При сравнении экстремальных температур можно отметить, что размах колебаний средней температуры для I и II периодов увеличился, а для III и IV периодов – уменьшился, т.е. температурные условия для III и IV периодов стали стабильнее. Сумма градусодней, определяющая суммы тепла, накопленного в течение вегетационного периода, уменьшилась для всех периодов, за исключением II периода, для которого теплосодержание несколько увеличилось.

Средняя длительность периодов за последние годы изменилась в небольших пределах, но уменьшился разброс крайних значений, т.е. максимальные и минимальные границы периодов сблизились. Длительности II, III и IV периодов находятся в квазипротивофазе к длительности I периода, т.е. чем длительнее преднерестовый период, тем короче периоды нереста и оседания. В то же время, чем короче период начальной стадии гаметогенеза (осенний), тем длиннее завершающей (весенний).

Сравнение графиков длительности каждого из четырех периодов с 1970 по 2012 г. и изменчивости температуры воды соответствующего сопряженного месяца (март, май, июнь и октябрь) показало, что для I и II периодов тренд не выявлен, но идёт тенденция к уменьшению их продолжительности, причём для личиночного (II) периода с 1970 по 1990 г. выявлена значимая на 5% уровне тенденция его сокращения. Только для периода оседания (III) выявлен значимый отрицательный тренд, т.е. продолжительность периода уменьшилась. В ходе температуры воды в марте, мае и июне за рассматриваемый промежуток времени выявлен значимый положительный тренд. Продолжительность IV периода подвержена наименьшей изменчивости, и также для температуры воды в октябре тренд не выявлен.

Таким образом, за последние 60 лет вдоль побережья зал. Посыета температура воды выросла на 0.9°C , а воздуха на 1.4°C , что свидетельствует об общем увеличении температурного фона на изучаемой территории. Прослеживается тенденция сокращения длительности I, II и III периодов, но значимый на 5% уровне отрицательный тренд выявлен только для III периода (оседания личинок). Продолжительность IV периода подвержена наименьшей изменчивости. Температурные характеристики периодов стали более стабильными.

**ВЛИЯНИЕ ПЛОТНОСТИ ПОСАДКИ НА РОСТ И
ВЫЖИВАЕМОСТЬ МАЛЬКОВ КАМЧАТСКОГО КРАБА
PARALITHODES CAMTSCHATICUS ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В
КОНТРОЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ**

**Геворгян Т.А.^{1,2}, Масленников С.И.¹, Борисова Д.С.¹, Боцун Л.А.¹,
Пахлеванян А.А.¹, Козменко В.Б.¹**

¹Национальный научный центр морской биологии им А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток

²Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток,
tagevorgyan90@gmail.com

Для отработки технологии искусственного воспроизводства камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) необходимо исследование оптимальной плотности посадки для содержания мальков краба на ранних стадиях развития (до одного года). Именно в этом возрасте отмечается максимальная смертность. Мальков краба получали на МБС “Запад” ННЦМБ ДВО РАН. Мальки были перевезены в аквариальную ННЦМБ ДВО РАН в декабре месяце 2022 г. и помещены в 6 емкостей объёмом 400 л, с площадью дна 0.59 м² каждая, с охлаждаемой водой. Эксперимент продолжался с 10 января по 3 мая 2023 г. (114 сут). В эксперименте использовали 2 плотности посадки, по 7 и 14 экземпляров мальков камчатского краба. Для каждой группы использовали серию из 3 аквариумов с субстратом из раковин моллюсков, смену воды (20% от общего объёма) проводили ежедневно. Крабов кормили молотым мясом мидии (*Crenomytilus grayanus*). Подсчет и взвешивание мальков проводили ежемесячно, замеры температуры и солёности регулярно (всего было сделано 115 измерений).

Солёность воды во всех ёмкостях составляла 32.6±0.1‰. Температура колебалась от 4.1 до 6.0°C, в среднем 4.8±0.02°C. В первой серии емкостей средняя температура воды составляла с января по апрель 4.8±0.05°C, 4.9±0.04°C, 5.09±0.07°C и 4.9±0.03°C, соответственно. Во второй серии емкостей средняя температура воды составляла с января по апрель 4.7±0.05°C, 4.8±0.06°C, 4.9±0.08°C и 4.5±0.03°C, соответственно.

В первой серии аквариумов, в январе выживаемость составляла 80.9±9.5%. В феврале выживаемость составляла 76.1±4.7%, в марте 76.1±4.7%, в апреле 76.1±4.7%. Во второй серии аквариумов, в январе выживаемость составляла 83.3±8.5%, в феврале 83.3±8.5%, в марте 69.0±2.3%, в апреле 59.5±8.5%.

В первой серии аквариумов, в январе вес малька составлял 0.964±0.08 г, в феврале 0.914±0.129 г., в марте 1.231±0.159 г., в апреле

1.310±0.178 г. Во второй серии аквариумов, в январе средний вес малька составлял 0.703±0.03 г, в феврале 0.837±0.06 г, в марте 1.263±0.08 г, в апреле 1.389±0.113 г.

В первой серии аквариумов, в январе средняя ширина карапакса малька составлял 8.1±0.44 мм, в феврале 9.2±0.66 мм, в марте 10.7±0.72 мм, в апреле 12.0±0.69 мм. Во второй серии аквариумов, в январе средняя ширина карапакса малька составлял 8.1±0.26 мм, в феврале 8.9±0.33 мм, в марте 10.8±0.32 мм, в апреле 12.5±0.42 мм.

В результате эксперимента можно сделать вывод, что при плотности посадки 24 и менее экземпляров на 1 м² конкуренция за место при исследованных условиях отсутствует. Параметры весового и размерного роста особей регулируются физиологическими свойствами организма. То есть данные параметры роста мальков камчатского краба являются максимальными для исследуемого возраста и температуры среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 21–74–30004).

**ПОИСК ГЕНОВ-АКТИВАТОРОВ РЕГЕНЕРАТОРНОГО
ПРОЦЕССА В СТЕНКЕ ТЕЛА ГОЛОТУРИИ *EUPENTACTA
FRAUDATRIX***

Гирич А.С.¹, Кравченко Е.В.², Калачёва Н.В.¹

¹ *Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, atromoon@mail.ru*

² *Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток*

Исследования молекулярных механизмов регенерации направлены на выявление механизмов, лежащих в основе движения клеток и восстановления тканей/органов. Для таких работ чаще используются модельные объекты, в том числе голотурии. В то время как большинство исследований сконцентрировано на регенерирующих органах, источник клеток для регенерации – стенка тела, остаётся малоизученной. Стенка тела голотурий состоит из 5 слоёв: однослойного кутикулярного эпителия, наружной сетчатой дермы, пластинчатого слоя дермы, соединительной ткани – гиподермы и целомического эпителия. Также имеются радиальные структуры: мышца, амбулакральный канал, гемальный сосуд, радиальный нерв, эпинеуральный канал и система амбулакральных ножек.

При регенераторных процессах именно стенка тела является источником морфогенов и клеток для восстановительных процессов. Поэтому методами ПЦР в реальном времени и с помощью поликлональных антител у голотурии *Eupentacta fraudatrix* была исследована экспрессия интересующих генов и локализация соответствующих белков. В первую очередь нас интересовали лиганды различных сигнальных путей, их рецепторы, а также транскрипционные факторы, которые могут быть связаны с активацией миграции, дедифференцировки и сопутствующих процессов.

Произведя поиск интересующих генов, получив на них праймеры, провели ПЦР в реальном времени. Экспрессия некоторых генов не изменялась при регенерации, либо даже уменьшалась. Также было обнаружено увеличение экспрессии: на 1 сут после эвисцерации у генов *univin*, *bmp2/4*, *wnt5*, *sox 9/10*, *fz4* (в 3–6 раз выше нормы). На 5–7 сут увеличивалась экспрессия *wnt4*, *wnt6*, *pax*, *fz 1/2/7*, *tcf21* (до 10-кратного увеличения относительно нормы).

Наибольшее увеличение экспрессии показал ген нейротропного фактора *neurotrophin* – в 20 раз выше нормы на 1 сут после эвисцерации. Дальнейшее исследование с помощью специфических антител показало наличие белка Neurotrophin в радиальных нервах, отростках нервных

клеток под целомическим эпителием, а также гранулы с белком были найдены в гиподерме (рис. 1).

Последние были исследованы более подробно. Так, на полутонких срезах стенки тела были обнаружены вытянутые структуры с гранулами. Они располагались в гиподерме, среди фибробластов и морулярных клеток (рис. 2). Электронная микроскопия показала, что эти структуры представляют из себя нервный канал, где имеются глиальные клетки и нервные отростки, окруженные базальной мембраной (рис. 3). Эти структуры отделены от соединительной ткани и, по-видимому, направлены от радиальных нервов к эпидермису, либо соединяют разные радиальные нервы.

При регенерации количество детектируемого белка Neurotrophin в гиподерме увеличивается. Можно предположить, что после эвисцерации АК, голотурия теряет нормальную связь между радиальными нервами через нервное кольцо, поэтому формируются дополнительные связи. Однако, чтобы установить, откуда и куда идут эти нервные каналы, необходимо сделать 3Д реконструкцию на основе серийных срезов, либо ввести флюоресцентную метку в нерв.

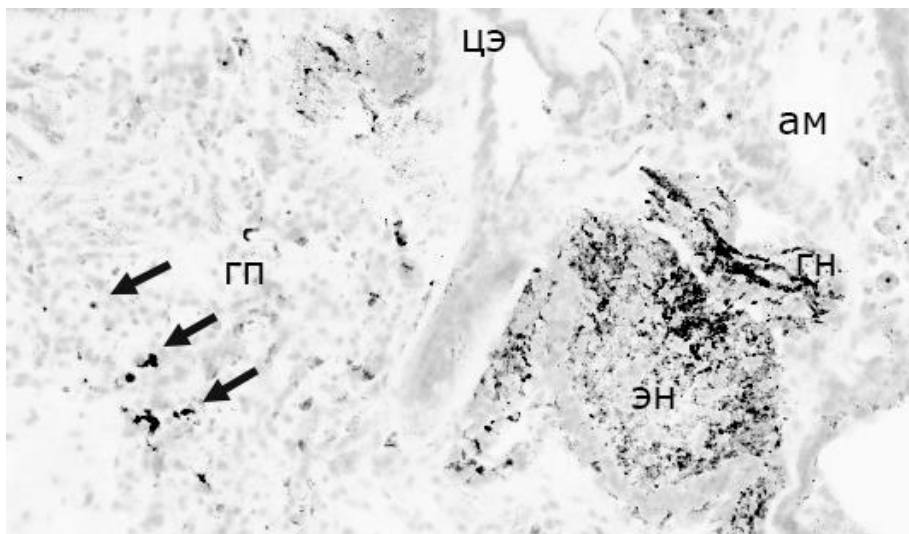


Рис. 1. Белок Neurotrophin в стенке тела голотурии *Eupentacta fraudatrix*. ам – амбулакральный канал, гн – гипонейральный нервный тяж, гп – гиподерма, цэ – целомический эпителий, эн – эпинеуральный нервный тяж.

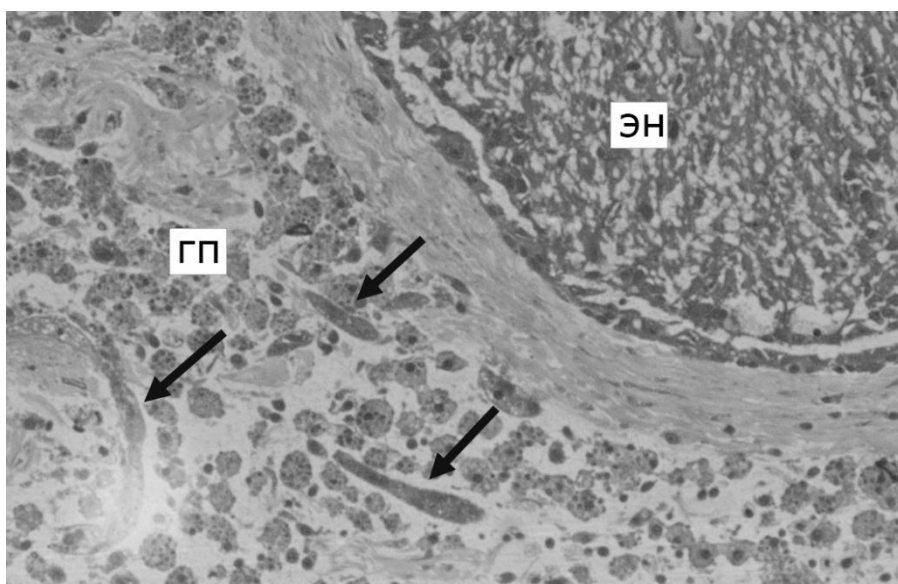


Рис. 2. Вытянутые структуры в гиподерме стенки тела *Eupentacta fraudatrix*. гп – гиподерма, эн – эpineуральный нервный тяж.

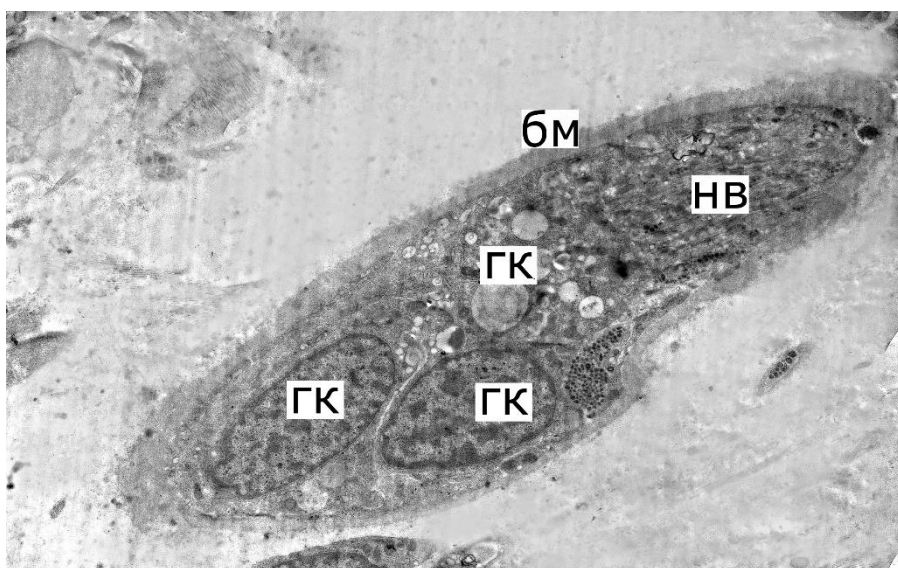


Рис. 3. Нервный канал в гиподерме стенке тела *Eupentacta fraudatrix*. бм – базальная мембрана, гк – глиальная клетка, нв – нервные волокна.

РАЗВИТИЕ ЕСТЕСТВЕННО-НАУЧНОЙ ГРАМОТНОСТИ У ШКОЛЬНИКОВ В РАМКАХ ПРОСВЕТИТЕЛЬСКИХ ПРОГРАММ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА

Глизнуца Л.А.

*«Приморский океанариум» – филиал ННЦМБ ДВО РАН, г. Владивосток,
gliznutsa_la@primoceaan.ru*

В современном мире качество общего образования оценивают не количеством полученных знаний, а наличием у обучаемых функциональной грамотности – совокупности активных знаний, умений и навыков, необходимых для полноценного участия человека в жизни общества. В качестве основных составляющих функциональной грамотности выделяют: математическую грамотность, читательскую грамотность, естественно-научную грамотность, финансовую грамотность, глобальные компетенции и креативное мышление. В связи с этим в образовательный процесс внедряются новые информационные ресурсы, методики и технологии, позволяющие мотивировать молодое поколение к учёбе и подготовить к жизни в условиях новых вызовов.

Естественно-научная грамотность как элемент функциональной отражает способность человека применять естественно-научные знания и умения в реальных жизненных ситуациях, а также занимать активную гражданскую позицию по вопросам, связанным с естествознанием. Для формирования естественно-научной грамотности необходимо развивать у учащихся следующие компетенции: умение научно объяснять явления окружающего мира; понимание естественно-научных исследований и методов научного познания мира; умение интерпретировать данные и делать выводы.

В настоящее время дополнительным информационным и методологическим ресурсом для современной школы в развитии естественно-научной грамотности становятся музейные пространства, экопарки, зоопарки и океанариумы, эколого-просветительские проекты которых помогают расширить соответствующие знания и компетенции школьников.

Приморский океанариум предлагает широкий спектр программ в области экопросвещения: уроки в экспозициях, познавательные и творческие мастер-классы, лабораторные занятия, семинары для учителей. Внушительные ресурсы океанариума, включающие экспозицию с актуальным научным концептом и живой коллекцией гидробионтов разных климатических зон, а также научные и учебные лаборатории, позволяют проводить практико-ориентированные занятия, активизирующие познавательную деятельность учащихся.

Учебные лаборатории Приморского океанариума укомплектованы современной исследовательской микроскопической техникой, оборудованием для пробоподготовки, анатомирования и изучения биологических объектов. В учебных лабораториях организуются занятия и практики, помогающие школьникам понять методику естественно-научных исследований и познакомиться с научными методами на примере изучения биологических объектов и явлений. Каждое занятие включает этап актуализации знаний учащихся, далее наблюдение или эксперимент, в заключение анализ и интерпретацию данных. Все занятия разработаны с учётом возрастных и психологических особенностей детей, поэтому для младших школьников занятия проходят в формате наблюдения и дополняются художественным конструированием.

На данный момент сотрудниками отдела просвещения Приморского океанариума разработано 6 лабораторных занятий: работа по изучению строения и жизнедеятельности клеток (бактерий, растений, грибов и животных); практика по анализу живых планктонных проб из залива Петра Великого (Японское море); два занятия по изучению одноклеточных простейших (амёб, инфузорий, фораминифер, радиолярий); работа по выделению ДНК из плодов растений; работа по гидрохимии океана. На занятиях учащиеся получают практические навыки работы с научным оборудованием, отрабатывают методики подготовки биологических объектов для исследования и анализа, учатся ставить задачи и делать выводы.

С учётом востребованности практико-ориентированных занятий у учащихся и педагогов, перечень таких занятий в Приморском океанариуме необходимо дополнять и расширять в будущем.

ЗНАЧЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЛИЧИНОК ДЛЯ ТАКСОНОМИИ И ФИЛОГЕНИИ КОРНЕГОЛОВЫХ РАКООБРАЗНЫХ

Голубинская Д.Д., Корн О.М.

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток, dddetchuk@mail.ru

Корнеголовые ракообразные (Thecostraca: Cirripedia: Rhizocephala) являются паразитами других ракообразных, главным образом декапод. В связи с паразитическим образом жизни Rhizocephala претерпели столь значительную редукцию взрослых стадий, что потеряли практически все признаки членистоногих и лишь наличие в их личиночном развитии науплиусов указывает на принадлежность этой уникальной группы к ракообразным. Морфология личинок корнеголовых ракообразных часто представляет более важную информацию для таксономии и филогении Rhizocephala, чем морфология и анатомия взрослого организма.

В заливе Петра Великого нами описаны личинки 9 видов корнеголовых ракообразных, принадлежащих к 7 родам – *Peltogaster*, *Peltogasterella*, *Lernaeodiscus*, *Briarosaccus*, *Polyascus*, *Sacculina* и *Parasacculina*. Все они имеют кентрогонидный тип развития, включающий 5 науплиальных стадий, и при температуре 19–23°C достигают циприсовидной стадии в течение 3–5 суток. Морфология личинок исследована с помощью сканирующего электронного микроскопа.

Личинки первых четырех родов принадлежат к пельтогастридному типу. Главным отличием таких науплиусов является наличие плавательного воротничка, крупного сетчатого у родов *Peltogaster* и *Briarosaccus*, но тонкого прозрачного у представителей *Peltogasterella* и *Lernaeodiscus*. У личинок родов *Polyascus*, *Sacculina* и *Parasacculina* плавательный воротничок всегда отсутствует. Кроме того, науплиусы пельтогастридного типа имеют длинные фронтолатеральные рожки с двумя субтерминальными щетинками, U-образную вторую щетинку на головном щитке и длинную щетинку на антеннальном базисе, отсутствующую у личинок саккулинидного типа. У науплиусов саккулинидного типа рожки более короткие с парой терминальных отростков, прямая щетинка на головном щитке и небольшой вентральный вырост между ветвями фурки, отсутствующий у личинок пельтогастридного типа. У науплиусов саккулинидного типа, а также у родов *Peltogasterella* и *Lernaeodiscus* имеется науплиальный глаз. Ранее

считалось, что науплиальный глаз отсутствует у личинок родов *Peltogaster* и *Briarosaccus*, что в какой-то мере компенсируется наличием плавательного воротничка. Однако наши данные показали, что у личинок *Peltogaster lineata* и *Briarosaccus tenellus* науплиальный глаз имеется, и они обладают положительным фототаксисом. Отсутствие щетинок 1 и 2а на головном щитке, вероятно, является отличительным признаком науплиусов семейства Polyascidae.

Циприсовидные личинок пельтогастринного типа имеют серповидные решетчатые органы второй пары, у личинок саккулинидного типа они прямые. Антеннулярный диск циприсов разных родов и даже видов *Rhizocephala* имеет характерные особенности. Крупный мужской эстетаск личинок рода *Peltogaster* разделяется на две лопасти, в то же время у циприсов других только одна лопасть. Циприсовидные личинки рода *Peltogaster* имеют на антеннулярном диске дополнительную аксиальную сенсорную щетинку, а субтерминальный эстетаск женских личинок этого рода заканчивается двумя нитчатыми отростками. Постаксиальная сенсорная щетинка на третьем антеннулярном сегменте у личинок *Peltogaster reticulata* слегка раздвоена.

Таким образом, несмотря на то что личинки корнеголовых ракообразных живут и эволюционируют в пелагиали – в другой среде, чем взрослые особи, их строение в значительной степени определяется таксономическим положением. Описание личиночного развития является обязательной составляющей комплексного исследования *Rhizocephala*.

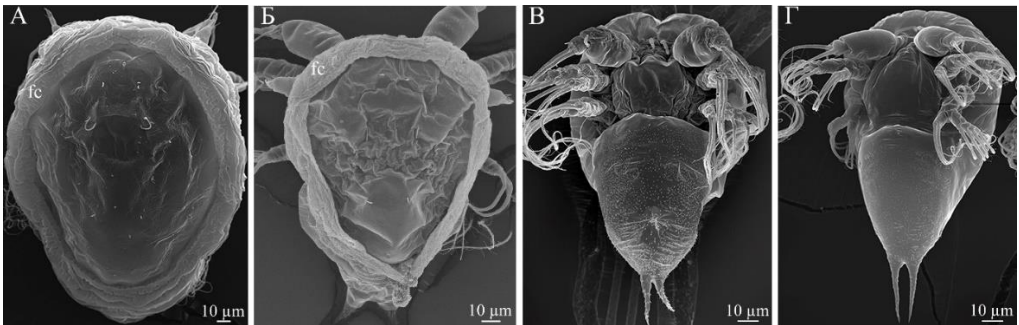


Рис. 1. Науплиусы. А – *Peltogaster reticulata*, Б – *Lernaeodiscus rybakovi*, В – *Sacculina pugettiae*, Г – *Parasacculina pilosella*. fc – плавательный воротничок.

C1Q-ДОМЕН-СОДЕРЖАЩИЙ БЕЛОК ИЗ ГЕМОЛИМФЫ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *MODIOLUS KURILENSIS* КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ОНКОДИАГНОСТИКИ

Гринченко А.В.¹, Кумейко В.В.^{1,2}

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, grishagrין@mail.ru

²Дальневосточный федеральный университет, Институт наук о жизни и биомедицины (Школа), г. Владивосток, vkumeiko@yandex.ru

Аберрантное гликозилирование поверхности опухолевых клеток является одним из характерных признаков злокачественной трансформации. При этом специфические гликоконъюгаты опухолевых клеток могут быть использованы в качестве онкомаркеров. В этой связи особый интерес представляют крайне разнообразные углевод-распознающие белки-агглютинины морских беспозвоночных, к которым относятся C1q-домен-содержащие белки (C1qDC), обладающие выраженными антимикробными свойствами и вероятным, но пока еще плохо изученным, противоопухолевым потенциалом. При этом, несмотря на обнаруженную недавно широкую представленность в геномах двустворчатых моллюсков соответствующих генов, выделенных в чистом виде и охарактеризованных C1qDC-белков на данный момент крайне мало. В данной работе исследовано взаимодействие ранее выделенного и описанного нами белка-агглютинина MkC1qDC (Grinchenko et al., 2021) с различными клетками млекопитающих.

Оценку концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) MkC1qDC проводили с помощью МТТ-теста. Для этого в 96-луночные планшеты рассеивали клеточные линии HeLa CCL-2, MDA-MB-231, U87 MG и hTERT RPE-1. После 18 ч предварительного культивирования в среду вносили MkC1qDC до конечных концентраций 1 мкМ, 2 мкМ, 3 мкМ, 4 мкМ, 5 мкМ и 0 мкМ в качестве контроля (по 8 лунок). Через 48 ч культивирования проводили окраску и измерение оптической плотности (OD). IC₅₀ рассчитывали на основании регрессионной прямой, построенной по полученным средним значениям OD для каждой использованной концентрации MkC1qDC.

Оценку механизма клеточной гибели при воздействии MkC1qDC проводили с использованием витальной окраски комбинацией йодистого пропидия и аннексина V в 96-луночных планшетах на тех же клеточных линиях HeLa CCL-2, MDA-MB-231, U87 MG и hTERT RPE-1, используя конечные концентрации MkC1qDC 5 мкМ и 0 мкМ (контроль). Клетки

окрашивали в лунках по протоколу производителя с небольшими модификациями и проводили съемку на планшетном спектрофотометре-спектрофлуориметре с системой визуализации клеток Cyation 5 (BioTek, США).

Для оценки сродства MkC1qDC к углеводным детерминантам клеток указанных выше линий белок предварительно конъюгировали с флуоресцентным красителем FITC. Клетки высевали в 8-луночные камеры Ibidi и после 36 ч культивирования окрашивали 2 мкМ раствором MkC1qDC-FITC (30 мин, 23°C). Ядра докрашивали Hoechst 33342. Для дополнительной визуализации морфологии клеток проводили окраску по описанной выше методике, а также родамин-фаллоидином, выявляющим актин, на фиксированных 4% ПФА (2 ч, 23°C) клетках линий HeLa CCL-2, RKO CRL-2577, HCT 116, Neuro-2a CCL-131 вторичной культуры из глиальной опухоли (G1) и мышинных перитонеальных макрофагах. Кроме того, проводили окраску криосрезов нормального мозга мыши и опухоли (глиобластомы) мозга человека 2 мкМ раствором MkC1qDC-FITC (2 ч, 23°C) с докрасшиванием ядер йодистым пропидием. Анализ проводили на конфокальном микроскопе «Olimpus FV10i».

Анализ влияния белка MkC1qDC на пролиферативную активность проводили с использованием системы непрерывного высокоэффективного *in vivo* имиджинга Cell-iQ MLF (CM Technologies, Финляндия) на клетках линий HCT 116, Neuro-2a CCL-131, G1, hTERT MSC, HEK-293 и вторичной культуре фибробластов человека. Клетки высевали в 24-луночные планшеты и после 18 ч культивирования в среду добавляли растворы MkC1qDC до конечных концентраций 2 мкМ, 4 мкМ, 8 мкМ и 0 мкМ в качестве контроля (по 6 лунок для каждой концентрации). Съемку проводили в течение последующих 96 ч культивирования с использованием фазового контраста и построением кривых роста на основе анализа полученных изображений.

Результаты МТТ-теста показали чувствительность всех трех использованных опухолевых линий, особенно аденокарцином HeLa CCL-2 и MDA-MB-231, а глиобластома U87 MG была несколько устойчивее. При этом исследуемый белок не оказывал воздействия на неопухолевые клетки hTERT RPE-1.

Схожие результаты показала витальная окраска клеток комбинацией йодистого пропидия и аннексина V. Для hTERT RPE-1 достоверных изменений выявлено не было ($p > 0.05$), тогда как для опухолевых клеток основным механизмом клеточной гибели был некроз ($p < 0.05$). Значимое повышение содержания еще и апоптотических клеток отмечено лишь для клеток глиобластомы U87 MG ($p < 0.05$).

Окрашивание клеток конъюгатом MkC1qDC-FITC также подтверждает описанные выше результаты. Наиболее интенсивная

окраска крупными конгломератами белка была отмечена для клеток HeLa CCL-2, причем как живых, так и фиксированных. Клетки другой аденокарциномы, MDA-MB-231, окрашивались меньшими по размеру конгломератами, но более таргетно по отношению к границам клеток. Наиболее выражено MkC1qDC-FITC выявлял границы клеток в случае глиобластомы U87 MG. Препараты неопухолевых клеток hTERT RPE-1 не имели специфического к клеткам окрашивания. Также MkC1qDC-FITC маркировал все фиксированные опухолевые клетки с особенностями в распределении конъюгата на их поверхности. При этом препараты фиксированных неопухолевых мышинных перитонеальных макрофагов не окрашивались вовсе. В случае срезов нормального мозга мыши окраска имела слабый фоновый характер, в то время как опухолевая ткань человека имела выраженную окраску по всей площади препарата, при этом особо интенсивно выявляя плотные скопления мелких клеток с характерными признаками их активного деления и клонального роста.

Оценка антипролиферативной активности белка MkC1qDC с помощью системы Cell-iQ MLF показала дозозависимое подавление роста опухолевых клеток HCT 116, а также выраженную гибель в линиях Neuro-2a CCL-131 и G1 при высоких концентрациях MkC1qDC, в то время как линии нормальных клеток hTERT MSC, HEK-293 и фибробласты человека не были чувствительны к белку.

Таким образом, исследуемый углевод-распознающий белок MkC1qDC связывается с клеточными поверхностями эпителиальных опухолей и опухолей мозга. При этом он проявляет цитотоксические свойства в отношении линий аденокарцином и глиобластомы с преобладающим некротическим механизмом их гибели, не влияя при этом на неопухолевые клетки. Полученные данные свидетельствуют о биомедицинском потенциале применения MkC1qDC для разработки систем онкодиагностики и таргетной доставки противоопухолевых препаратов.

ВАРИАНТЫ ИСПОЛНЕНИЯ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ ОПТИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В РЫБАХ И РАКООБРАЗНЫХ НА ПРИМЕРЕ pH-СЕНСОРОВ

*Гурков А.Н., Щанова Е.П., Ржещицкий Я.А., Борвинская Е.В.,
Дягилева А.А., Тимофеев М.А.
НИИ биологии Иркутского государственного университета, г.
Иркутск, a.n.gurkov@gmail.com*

Использование имплантируемых оптических сенсоров – это активно развиваемый технологический подход, который обеспечивает возможность прижизненного отслеживания ряда физиологических показателей тканей животного через изменение спектра флуоресценции чувствительного компонента внутри сенсора или другого оптического параметра. Данные сенсоры не содержат электронные компоненты, поэтому регистрация их оптического сигнала требует использования внешнего прибора. Большинство созданных к текущему моменту имплантируемых сенсоров чувствительны к относительно простым низкомолекулярным веществам, таким как ряд ионов и некоторые метаболиты. Однако возможность мониторинга в реальном времени даже столь ограниченного круга параметров может существенно упростить и ускорить многие физиологические исследования на животных.

Тем не менее, большинство работ по разработке имплантируемых оптических сенсоров проводится на модельных видах млекопитающих и редко затрагивает другие группы животных. В данном исследовании мы отработали методики вживления и использования в различных тканях гидробионтов (рыб и ракообразных) сенсоров на pH как одного из критических физиологических показателей.

Флуоресцентный краситель SNARF-1 был выбран в качестве чувствительного компонента благодаря простоте его применения и наличию коммерчески доступных конъюгатов с декстраном (D-3304, Thermo Fisher Scientific, США), что упрощает его иммобилизацию внутри полимерных носителей. Протонированная и депротонированная молекулы SNARF-1 обладают разными спектрами флуоресценции, что позволяет количественно оценивать pH через соотношение интенсивности свечения на двух длинах волн, соответствующих этим спектрам. Нами были отработаны методики применения имплантируемых сенсоров на основе SNARF-1 для отслеживания pH в следующих органах гидробионтов: (1) в крови капилляров жабр небольших рыб, (2) в межклеточной жидкости жирового плавника лососёвых рыб, (3) в мышцах и гемолимфе небольших ракообразных с прозрачным экзоскелетом. Во всех случаях для регистрации спектров

флуоресценции был использован высокочувствительный оптоволоконный спектрометр (QE Pro, OceanOptics, США) в составе той или иной оптической установки.

В качестве носителя для флуорофора в кровеносной системе рыбами были использованы полупроницаемые полиэлектролитные микрокапсулы с полиэтиленгликолевым покрытием для замедления иммунного ответа. Микрокапсулы со SNARF-1 оказалось возможно вводить в кровоток небольших рыб (взрослых особей *Danio rerio* и других) и визуализировать в жабрах под стандартным флуоресцентным микроскопом (Микмед-2, ЛОМО, Россия) после инъекции в почку. Для этого на время измерений рыб потребовалось анестезировать и удалить их жаберные крышки. Введённые микросенсоры показывали чувствительность к pH крови в течение нескольких часов.

Среди крупных рыб лососёвые обладают существенным преимуществом для применения имплантируемых оптических сенсоров – прозрачным жировым плавником. Нам удалось внедрить SNARF-1 в гидрогелевых нитях в жировой плавник радужной форели, где интенсивность регистрируемой флуоресценции оказалась выше более чем на порядок по сравнению с подкожной инъекцией. Из-за высокой подвижности рыб, для быстрого снятия оптического сигнала потребовалось подготовить компактный мобильный прибор с подключёнными по оптоволокну лазером (FC-556–120 mW, CNI, Китай) и спектрометром. Благодаря данному прибору мониторинг pH в жировом плавнике форели удалось проводить в небольшом аквариуме без анестезии рыб в течение более чем недели.

В случае небольших ракообразных с прозрачным экзоскелетом (взрослые особи байкальской амфиподы *Eulimnogammarus verrucosus* длиной около 3 см), из-за их высокой чувствительности к интенсивному освещению и автофлуоресценции покровов, в состав сенсоров на основе гидрогелевого носителя потребовалось ввести апконверсионные частицы с возбуждением в инфракрасной области и зелёным свечением. Данные частицы обеспечили опосредованное возбуждение флуоресценции SNARF-1, которую оказалось возможным регистрировать с помощью модифицированного флуоресцентного микроскопа. Подготовленные комбинированные сенсоры позволили изучить динамику изменения pH в межклеточной жидкости мышц холодолюбивого *E. verrucosus* при экологически реалистичном повышении температуры.

Проведённая работа демонстрирует, что оптические сенсоры с успехом могут быть применены для мониторинга физиологических параметров широкого ряда водных животных: от лабораторных модельных объектов и промышленных видов до уникальных эндемиков озера Байкал, однако протоколы их подготовки и использования зачастую требуют адаптации к особенностям объекта исследования.

Исследование поддержано грантом РФФ № 23-14-00165.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ДНК ИЗ ВОДНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АРКТИЧЕСКИХ ВИДОВ ВОДОПЛАВАЮЩИХ ПТИЦ

*Демин А.Г., Галкина С.А., Ильина И.В., Демина И.В., Платонова Е.В.,
Старииков Д.А.*

*Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-
Петербург, rustle.reed@gmail.com*

Современный мониторинг биологического разнообразия и численности птиц в водных и околоводных экосистемах базируется на классических методах прямого визуального наблюдения, идентификации и учёта. Естественными факторами, ограничивающими эффективность такого подхода, являются погодные условия, длина светового дня, а также лимит времени и числа наблюдателей. Новым инструментом, потенциально способным расширить возможности мониторинга биоразнообразия водных экосистем в последние годы стал метод анализа так называемой экологической или средовой ДНК (eDNA) в воде. В данном методе видовая идентификация осуществляется с помощью анализа внеклеточной ДНК или ДНК клеточного дебриса, которые присутствуют в окружающей среде и образуются в результате секреции живых организмов или лизиса клеток (Valentini et al., 2009). При этом, видовая идентификация возможна благодаря высокой видоспецифичности некоторых элементов генома, широко используемых в качестве ДНК-штрихкодов, например, ряда последовательностей митохондриальных генов.

Наиболее наглядно возможности нового метода были продемонстрированы в работах по изучению eDNA морских костистых рыб (Thomsen et al., 2012), китообразных (Foote et al., 2012), черепахах (Davy et al., 2015) и акул (Sigsgaard et al., 2016). После серии подобных публикаций методы анализа eDNA получили широкое распространение в экологических исследованиях (Bohmann et al., 2014; Garlapati et al., 2019; Wang et al., 2020; Saenz-Agudelo et al., 2021). Результаты многих работ наглядно продемонстрировали, что для ряда таксонов методы анализа eDNA более чувствительны, чем традиционный мониторинг (Sigsgaard et al., 2016). Огромный потенциал методов, основанных на eDNA, для мониторинга редких, исчезающих и инвазивных видов был отмечен специалистами в области охраны окружающей среды (Herder et al., 2014). Особый интерес представляет масштабное исследование, посвященное применению метода eDNA для изучения глобального биоразнообразия арктических сообществ животных (Leduc et al., 2019). Результаты этих исследований открывают новые горизонты для дальнейшего внедрения методов, основанных на анализе eDNA, в

практику экологического мониторинга, в том числе в арктическом регионе.

Первые серьезные публикации, направленные на изучение возможности мониторинга птиц с использованием метода eDNA, начали появляться только с 2018 г. (Ushio et al., 2018; Schutz et al., 2020; Mojica et al., 2021; Neice, McRae, 2021; Saenz-Agudelo et al., 2021). Полученные данные указывают на перспективность применения методов анализа eDNA для регистрации птиц не только в замкнутых небольших водоемах, но и на обширных открытых акваториях.

В ходе проведенного исследования был изучен потенциал применения eDNA для регистрации присутствия арктических водоплавающих видов птиц в Ладожском озере, приближающемся по своим размерным характеристикам к морскому заливу. Отбор проб воды выполняли в период с 23.04 по 28.05.2023 года каждые 7 дней в трёх стационарных точках в акватории Свирской губы Ладожского озера. В течение всего периода пробоотбора ежедневно выполняли визуальные учеты видового состава и численности орнитофауны на акватории проведения работ с оборудованных стационарных наблюдательных пунктов. Из каждой точки отбирали в стерильные литровые емкости по 2 литра природной воды и 2 литра так называемой нулевой пробы. Нулевую пробу отбирали путем переливания дистиллированной воды из заранее подготовленной тары в пустые литровые емкости непосредственно в точке пробоотбора и в дальнейшем использовали для контроля контаминации. Пробы фильтровали через мембранные МСЕ фильтры с диаметром пор 0.45 мкм. Далее фильтры использовали для выделения тотальной ДНК.

Полученные таким образом образцы eDNA использовали для детекции видоспецифичных фрагментов митохондриальной ДНК 13 видов арктических водоплавающих птиц – *Branta leucopsis*, *Anser fabalis*, *A. albifrons*, *Cygnus cygnus*, *C. bewickii*, *Anas penelope*, *A. acuta*, *Aythya fuligula*, *A. marila*, *Melanitta nigra*, *M. fusca*, *Gavia arctica* и *Larus argentatus*. Были сконструированы видоспецифичные тест-системы для проведения количественной ПЦР в реальном времени с зондами TaqMan к гипервариабельным сегментам HVR1 и HVR2 D-петли митохондриальной ДНК. Все этапы пробоподготовки и ПЦР выполняли на базе ресурсных центров "Хромас" и "Развитие молекулярных и клеточных технологий" СПбГУ (г. Санкт-Петербург). Проведенный эксперимент продемонстрировал возможность регистрации в пробах воды из крупного водоема видоспецифической ДНК целевых видов водоплавающих птиц. Полученные результаты указывают на перспективность дальнейшего изучения возможностей методик, основанных eDNA, в частности метабаркодирования, для мониторинга скрытого биоразнообразия орнитофауны мелководных морских заливов и проливов.

Работа поддержана грантом РФФ № 22-47-10043.

**ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ И РАКОВИН
ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *ANADARA KAGOSHIMENSIS*
(ТОКУНАГА, 1906) ИЗ ЧЁРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ**

Дикарева Ю.Д., Капранов С.В., Капранова Л.Л., Рябушко В.И.
*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г.
Севастополь, dikareva.julija@rambler.ru*

Данное сообщение является частью комплексного исследования эколого-биохимических характеристик двустворчатого моллюска *Anadara kagoshimensis*, вида-вселенца в Чёрное и Азовское моря. Для изучения элементного состава отбирали по 100 экземпляров моллюсков в октябре 2022 г. в Чёрном море – с коллекторов фермы в бухте Карантинная, г. Севастополь (глубина отбора проб 2–3 м, температура воды 8°C, солёность 18‰), и в Азовском море – на песчаном берегу бухты Татарская из выбросов сразу после шторма (температура воды 15°C, солёность 14.83‰). После механической очистки раковин от обрастаний моллюсков промывали в чистой морской воде. Ткани отделяли от створок с помощью пластмассового скальпеля, промокали фильтровальной бумагой, взвешивали и высушивали в сушильном шкафу при температуре 100±5°C до постоянной массы. Количественный элементный анализ в пробах проводили с помощью масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). Всего определено 74 элемента.

Отмечены статистически значимые различия элементного состава тканей и раковин в моллюсках из Чёрного и Азовского морей (рис. 1, 2): 5 s-элементов, 7 p-элемента, 6 d- и 2 f-элемента (K, Rb, Cs, Ca, Ba, Al, Ga, Ge, P, As, Bi, Br, Zn, V, Nb, Ta, Mo, Fe, Ir, Pr, Nd). Элементный состав анадары обусловлен не только составом морской воды, куда преимущественно входят s-элементы, но также влиянием внутренних и внешних факторов (Osibona, 2009; Acarli et al., 2012). P- и d-элементы, имеющие атомные номера от 24 до 33, участвуют в функционировании клеток морских организмов в качестве минорных компонентов белков, углеводов, липидов, ферментов (Takarina et al., 2013). Обнаружены различия в концентрации некоторых редкоземельных элементов (РЗЭ) между тканями и раковинами анадары из разных биотопов. У моллюсков из Чёрного моря концентрации Sc значимо не различались и составляли 0.001 мг·кг⁻¹, что на порядок выше, чем в тканях моллюсков из Азовского моря. В тканях анадар из Азовского моря концентрация Sc были на порядок выше, чем в раковинах.

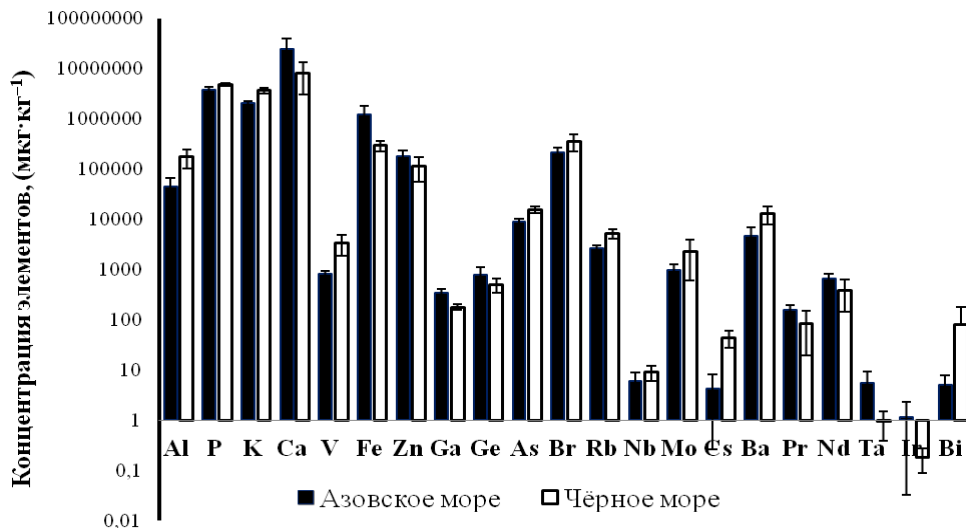


Рис. 1. Элементный состав тканей анадары ($\text{мкг}\cdot\text{кг}^{-1}$) из Чёрного и Азовского морей ($p < 0.05$; $n=10$)

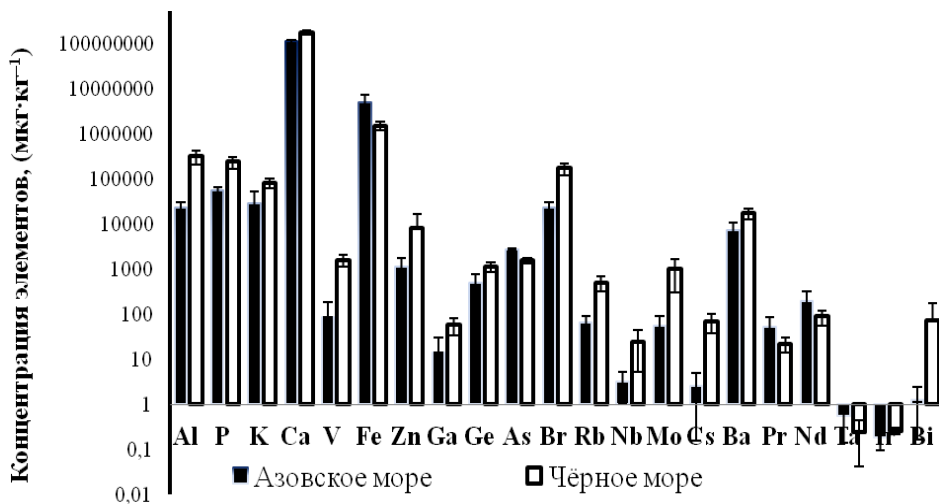


Рис. 2. Элементный состав раковин анадары ($\text{мкг}\cdot\text{кг}^{-1}$) из Чёрного и Азовского морей ($p < 0.05$; $n=10$)

Концентрации Pr и Nd были достоверно выше в тканях и створках анадары из Азовского моря. Содержание Pd, Sm, Gd, U в тканях анадары из Чёрного моря было достоверно ниже, чем у моллюсков из Азовского моря, в то время как содержание Y и Tm – наоборот выше. Концентрации Na, Sr, B, Si, Pb, Sb, Cl, Hg, Hf, Ce, Ho в створках анадары из Чёрного моря были достоверно выше, чем у моллюсков из Азовского

моря. Наблюдаемые явления можно объяснить как различной антропогенной нагрузкой, так и элементным составом морской воды.

S-элементы – Li, Rb, Cs, Be обнаружены в тканях и раковинах анадары в следовых количества. Статистически значимые различия между створками и тканями в содержании Li отсутствовали. Cs, Ca и Sr накапливались в створках анадары как в Чёрном, так и в Азовском море. Чем тверже раковина моллюска, тем больше было содержание кальция (Dickson, 2013). В створках анадары из Чёрного моря концентрация кальция были выше ($186.5 \pm 21.5 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$), чем у моллюсков из Азовского моря ($115 \pm 7.7 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$). В тканях и раковинах моллюсков отмечено высокое содержание Ca, и низкое содержание P. Аналогичное явление наблюдали для *Anadara senilis* из Гвинеи (Elegbede et al., 2023). Na, Mg, Rb было на порядок больше, а K на два порядка больше в тканях анадары как в Чёрном, так и в Азовском морях. Содержание р-элементов, кроме Al, Si, Sb, I, в тканях анадары было достоверно выше, чем в створках. d-элементы — Zn, V, Nb, Ta, Mo накапливались в тканях, Fe и Ir – в створках, f-элементы (лантаноиды, кроме Yb) – в тканях, U – в створках.

Двустворчатого моллюска *A. kagoshimensis* можно использовать в качестве биоиндикатора загрязнения морских вод. Раковины являются природным биоматериалом, так как содержат значительное количество минеральных элементов Ca, Mg, K, P и Fe. Таким образом, анадару, вселенца в Чёрное и Азовское моря, можно рассматривать как перспективный объект культивирования, поскольку моллюск является источником биологически активных веществ, включая макро- и микроэлементы.

Работа выполнена по гранту РФФИ № 23-24-00494 “Исследование редкоземельных элементов в гидробионтах экосистемы Чёрного моря”.

ЭМБРИОНАЛЬНОЕ И ЛИЧИНОЧНОЕ РАЗВИТИЕ ВОСЬМИЛУЧЕВОГО КОРАЛЛА *CORNULARIA* SP.

Дмитриева Е.В.¹, Краус Ю.А.^{1,2}

¹Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, г. Москва, aurelia@mail.ru (Е.В.Д.)

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва, yulia_kraus@mail.ru (Ю.А.К.)

Шестилучевые кораллы привлекают внимание исследователей, так как многие из них являются не только основными компонентами, но и создателями коралловых рифов – важнейшей морской экосистемы. Именно к группе Нехасораллия относятся модельные объекты Evo-Devo – *Nematostella vectensis* и *Acropora millepora*. При этом развитие Octacorallia практически не изучено: большая часть публикаций посвящена изучению экологии и репродуктивных стратегий мягких кораллов. Как следствие, о “типичных” для Anthozoa чертах эмбрионального и личиночного развития исследователи судят на основании данных, полученных для представителей всего одного класса. Детальное исследование развития Octacorallia позволит значительно дополнить картину разнообразия и эволюции онтогенеза Anthozoa – сестринской группы по отношению к Bilateria.

Объект нашего исследования – восьмилучевой коралл из рода *Cornularia*. *Cornularia* относится к подотряду мягких кораллов Stolonifera отряда Alcyonacea. Виды этого таксона характеризуются наличием отдельных полипов, отпочковывающихся от горизонтального ветвящегося столона. Эти мягкие кораллы встречаются на мелководье в тропических и умеренных морях. Колонии обычно представляют собой куртины, покрывающие отмершие участки рифа. Это довольно многочисленная группа кораллов, широко распространенная в Индо-Пацифике. Однако исследований, посвященных изучению репродуктивной биологии и развития этого рода, не проводилось.

Цель нашего исследования – охарактеризовать особенности эмбрионального и личиночного развития *Cornularia* sp. (корнулярия синяя) из аквакультуры. Колонии содержали в морском аквариуме объемом 60 л при температуре 24–27°C. Освещение имитировало цикл день/ночь (12/12 ч) без имитации лунного цикла. Синхронный выброс половых продуктов произошёл в ноябре 2022 г. на 7 сут естественного лунного цикла при температуре воды 24.7°C. Эмбрионы, покрытые защитными оболочками, развивались на поверхности колонии;

наблюдалось их прикрепление к выростам столона колонии. Развитие до стадии личинки-планулы продолжалось 12 сут.

Начавшие дробление яйцеклетки собирали с поверхности колонии и помещали в пластиковые чашки Петри диаметром 35 мм с морской водой из аквариума. Развитие проходило при температуре 22°C. За развитием эмбрионов наблюдали *in vivo* с помощью стереомикроскопа. Для изучения методами гистологии и сканирующей электронной микроскопии эмбрионов фиксировали через каждые 3–4 ч (1–4 сут развития), а затем через каждые 10–12 ч (50–12 сут развития).

В результате проведенных исследований создана таблица нормального развития *Cornularia* sp., выделены и охарактеризованы его ключевые стадии. *Cornularia* формирует крупные изолецитальные яйцеклетки диаметром 250 мкм. Их дробление равномерное, голобластическое. В результате дробления на стадии 32–64 клеток формируется плотная морула. Гастрюляция происходит за счёт вторичной деламинации. Большую часть развития (около 8 сут) занимает вытяжение орально-аборальной оси эмбриона и формирование планулы. Первые планулы, свернувшиеся внутри зародышевой оболочки, были отмечены на 10 сут развития. Массовый выход планул из оболочек начинается только на 12 сут развития. Лецитотрофные планулы червеобразной формы ползают по субстрату и никогда не обнаруживаются в толще воды.

Репродуктивные стратегии рифовых кораллов демонстрируют высокое разнообразие (Simpson, 2009). Среди них различают три основных варианта: массовый нерест (broadcast spawning) с развитием эмбрионов в толще воды; вынашивание эмбрионов до стадии планулы на внешней поверхности колонии (surface brooding); вынашивание эмбрионов до стадии планулы внутри колонии (brooding) (Benayahu et al., 1990). Наш объект относится к числу кораллов, использующих стратегию surface brooding, и имеющих ползающую личинку (crawling larva). Считается, что развитие на поверхности родительской колонии делает невозможным широкое распространение планул с помощью течения (Benayahu, 1989). Эта же особенность репродуктивной стратегии способствует формированию локальных плотных популяций у видов с жесткими требованиями к условиям среды обитания (Benayahu, 1989). Для видов, использующих стратегию surface brooding, также характерна большая продолжительность развития, которую мы и наблюдаем у *Cornularia*.

Наши данные о том, что гастрюляция *Cornularia* происходит за счёт вторичной деламинации, подтверждает предположение о доминировании этого гастрюляционного морфогенеза у *Octocorallia* (Kraus, Markov, 2017). Этим восьмилучевые кораллы принципиально отличаются от шестилучевых, гастрюляция которых, как правило,

основана на инвагинации. Строение планул *Cornularia* (и других *Octocorallia*) также не характерно для планул *Hexacorallia*. Это лецитотрофные ползающие личинки, напоминающие планулу *Hydrozoa*, которые не имеют ни апикального султанчика, ни рта и глотки, ни зачатков мезентериев.

В целом, наши данные подтверждают, что раннее развитие *Anthozoa* крайне разнообразно и несводимо к вариантам, наблюдающимся у представителей *Hexacorallia*. Однако для выводов об эволюционной первичности того или иного варианта развития необходимо получить репрезентативную выборку данных о развитии восьмилучевых кораллов.

**ОРГАНИЗАЦИЯ РОПАЛОИДОВ СИДЯЧЕЙ МЕДУЗЫ
HALICLYSTUS AURICULA – НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ФУНКЦИИ
АДГЕЗИОННЫХ ОРГАНОВ**

Домрачева М.М., Хабибулина В.Р., Салова И.А.

Кафедра зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского
государственного университета, г. Санкт-Петербург,
m.domracheva2000@yandex.ru

Staurozoa – это небольшая малоизученная группа морских сидячих медуз, включающая около 50 видов. Для представителей некоторых родов ставромедуз характерно наличие ропалоидов – модифицированных первичных щупалец. Считается, что единственная функция этих органов – временное прикрепление чашечки к субстрату при передвижении ставромедузы. В то же время, существуют предположения о том, что эти органы могут выполнять сенсорную функцию, подобно ропалиям других медуз, однако детальное строение ропалоидов ранее описано не было.

Целью нашей работы стало изучение организации ропалоидов ставромедузы *Haliclystus auricula*. Основные данные были получены с помощью гистологических, иммуногистохимических и электронномикроскопических методов. Материал был собран в Зеленецкой губе Баренцева моря в июле 2021–2023 гг.

Ропалоиды *H. auricula* соединены с чашечкой небольшой ножкой, через которую в них заходит слепозамкнутый канал гастроваскулярной системы. На дистальной части ропалоида локализована бороздка. Эпидермис ропалоида по толщине значительно превосходит эпидермис чашечки и содержит два слоя ядер, что не характерно для других участков эпидермиса *H. auricula*. Утолщение эпидермиса, по-видимому, происходит за счет большого количества содержащихся в нем секреторных клеток.

Первая группа секреторных клеток расположена вокруг бороздки ропалоида и представлена крупными сильно вакуолизированными клетками – мукоцитами. По-видимому, их содержимое представлено мукополисахаридами и обеспечивает локальное прикрепление бороздки ропалоида к субстрату. Остальные секреторные элементы равномерно распределены по всему эпидермису ропалоида. Самыми многочисленными из них являются клетки с палочковидными гранулами, секреторирующимися на поверхность эпидермиса. Содержимое этих гранул, предположительно, полимеризуется при выходе на поверхность и образует фибриллы мукополисахаридов, входящие в

состав микровиллярного гликокаликса. Мы предполагаем, что мукополисахариды гликокаликса также обеспечивают адгезивное прикрепление ропалоида к субстрату. Третья группа секреторных структур представлена немногочисленными вытянутыми клетками с гомогенным содержимым в виде округлых гранул, которые секретируются на поверхность ропалоида. Эти клетки локализуются преимущественно в апикальной части эпидермиса. Исходя из расположения и морфологии гранулярных клеток, мы предполагаем, что они также выделяют на поверхность ропалоида адгезивные вещества, участвующие во временном прикреплении к субстрату. Четвертая группа секреторных элементов представлена клетками неправильной формы, заполненными гетерогенным содержимым. Похожие гранулы встречаются и в гастродермальных клетках ропалоида, что может указывать на то, что секрет этих клеток выполняет схожие функции в эпидермисе и гастродермисе. По-видимому, содержимое этих гранул выполняет литическую функцию и участвует в переваривании пищевых частиц на уровне гастродермиса и в расщеплении адгезивного секрета на уровне эпидермиса, обеспечивая быстрое открепление ропалоида от субстрата.

Мышечная система ропалоида выявляется при окрашивании TRITC-конъюгированным фаллоидином и состоит из гладких мышечных волокон, залегающих базиэпидермально. Основные мышечные элементы образуют две группы – веерообразное скопление вокруг бороздки ропалоида и пучок параллельных волокон в его ножке. Мускулатура бороздки, по-видимому, может выполнять функцию присоски, обеспечивая механическое прикрепление бороздки к субстрату. Также веерообразная мускулатура, вероятно, служит опорой для эпидермиса, богатого железистыми элементами. Мускулатура ножки, предположительно, регулирует положение ропалоида, косвенно участвуя в прикреплении к субстрату.

Основные нервные элементы ропалоида удается визуализировать при обработке антителами к FMRFамиду, нейротензину и α -тубулину. В эпидермисе ропалоида в области бороздки и ножки локализованы нервные сплетения, которые, вероятно, регулируют работу мускулатуры ропалоида. Место расположения FMRFамид-иммунореактивного нервного сплетения ножки совпадает с местом расположения пигментного пятна, что косвенно указывает на фоторецепторную функцию этого участка ропалоида. Также нервное сплетение ножки сообщается отростками с кольцевым нервным сплетением, проходящим по краю чашечки. Мы предполагаем, что нервная сеть в основании ножки может выступать в качестве интегративного центра, регулирующего координированную работу мускулатуры ставромедузы. Также нам удалось обнаружить группы нейротензинергических

мультиполярных клеток в стенке канала гастроваскулярной системы ропалоида. Эти клетки, предположительно, регулируют секрецию адгезивных веществ и пищеварительных ферментов.

С нервными FMRFамид-иммунореактивными сплетениями ножки и бороздки сообщаются единичные FMRFамид-иммунореактивные клетки, длинные отростки которых подходят к поверхности эпидермиса. По локализации и строению эти элементы похожи на рецепторные клетки и, по-видимому, могут выполнять хемо- и/или механорецепторную функцию. На электронограммах удается обнаружить немногочисленные клетки, которые несут одну ресничку, окруженную микровиллярными отростками. Вероятно, эти клетки также выполняют рецепторную функцию.

Основываясь на полученных данных, мы предполагаем, что временное прикрепление ропалоидов к субстрату осуществляется с участием мускулатуры бороздки и ряда адгезивных веществ, синтезирующихся в секреторных клетках нескольких типов. Открепление ропалоида от субстрата, по-видимому, также осуществляется с участием гранулярных секреторных клеток. Наличие единичных поверхностных клеток, сообщающихся отростками с нервными сплетениями, указывает на то, что ропалоиды также могут осуществлять рецепторную функцию.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП “Хромас” СПбГУ, РЦ “Культивирование микроорганизмов” СПбГУ и ЦКП “Таксон” ЗИН РАН.

БИОМИМЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ СТЕКЛЯННЫХ ГУБОК

Дроздов А.Л.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского»
ДВО РАН, г. Владивосток, anatoliyld@mail.ru*

Биомиметика – это особый метод создания объектов при заимствовании идей у живой природы. Многофункциональные структуры, системы и биогенные материалы, встречающиеся у живых организмов, интересуют исследователей разных научных дисциплин. Их усилия привели к разработке быстро развивающейся науки, называемой биомиметикой. Стеклообразные губки и морские ежи – это классы морских беспозвоночных животных из типов губок и иглокожих, многие морфологические и биохимические “изобретения” которых заимствуются для биомиметики.

В кембрийский период палеозойской эры (около 600 млн. лет тому назад) у морских животных формируется минеральный скелет. На органическую матрицу откладывается либо кремнезем (кремниевый скелет), либо соли кальция (кальциевый скелет). Биоминералы, то есть минералы, продуцируемые живыми организмами, имеют свойства, отличные от свойств их абиотических аналогов.

Важная роль кремния в природе в настоящее время надёжно доказана (Воронков, Кузнецов, 1987; Drozdov et al., 2022). В растительных и животных тканях кремний находится в виде водорастворимых соединений типа ортокремниевой кислоты (H_2SiO_4), ортокремниевых эфиров (R_4SiO_4 , где R – органический радикал), а также в форме нерастворимых минеральных полимеров, образованных поликремниевыми кислотами ($nSiO_2 \cdot mH_2O$) и аморфным кремнезёмом (SiO_2), и кристаллических примесей. Жизнеспособность всех земных организмов при температуре окружающей среды определяется устойчивостью клеточных мембран и пространственной структуры белков – аминокислот, соединённых пептидными связями ($-C(O)NH-$) в определённом порядке. Кремний может связываться через атом азота с белками, аминокислотами, аминами и углеводами посредством образования связи $Si-O-C(N)$, однако биохимические аспекты метаболизма кремния пока мало изучены.

В зависимости от физико-химических характеристик, аморфный диоксид кремния имеет широкую область практического применения. Для его получения в качестве возобновляемого сырья используют кремнефильных растений: рис, овес, хвощи, хвой лиственницы, ели, сосны и кедра (Zemnukhova et al., 2015).

В скелетах древних морских организмах (радиолярий, диатомовых водорослей и губок) минеральную основу композитных

материалов составляют соединения кремния. Современная биота насчитывает около 8000 видов губок, из которых больше половины с кремниевым скелетом. Около 600 видов современных видов губок принадлежат к классу так называемых стеклянных или шестилучевых губок (Hexactinellida). Это исключительно морские животные, встречающиеся на глубинах до 7000 м. Их скелет образован кремнийорганическими спикулами с четкой трехосной структурой. Губки с кремниевым скелетом играют важную роль в круговороте кремния в природе, являясь, наряду с кремниевым планктоном, важнейшим аккумулятором растворенного кремнезёма.

Спикулы многих видов стеклянных губок представляют собой систему концентрических тонких слоев, расположенных вокруг центрального цилиндра, содержащего квадратный канал. Нами показано, что такие спикулы обладают электрическим сопротивлением и пьезоэлектрическим эффектом. Пьезоэлектрические свойства кремнийорганических спикул являются результатом их сложной многослойной организации. Между слоями в разных частях спикул возникает механическое напряжение, которое исчезает после разрушения спикулы. Наличие пьезоэлектрического эффекта в композитном кремнийорганическом материале из гексактинеллидных спикул может способствовать созданию биомиметических материалов, способных генерировать световое излучение.

В экстремальной биомиметике считается перспективным изучение композитных кремнийорганических материалов, созданных на основе биоминералов (Ehrlich et al., 2010). Нами предложен способ создания трехмерного кремнийорганического композиционного материала на основе спикул стеклянной губки путем сочетания мягкого щелочного травления и контролируемого механического воздействия, не разрушающего спикулы. Диоксид кремния выходит в раствор и сорбируется на органическом компоненте, сплавляя его в композиционный материал в трехмерных или плоских структурах (Karpenko, Drozdov, 2019).

Видовое разнообразие стеклянных губок составляет незначительную часть современной биоты губок. Актуален поиск скоплений древнейших кремниевых губок и выяснение перспектив использования ископаемых спикулитов в древних губковых рифах в качестве биомиметического сырья с высоким содержанием кремнезема. Мощная рифовая система была сформирована стеклянными губками в позднеюрскую эпоху в северных бассейнах океана Тетис и Атлантики.

Нами исследована раннекембрийская (около 513– 511 млн. лет назад) губка *Lenica unica* из природного парка “Ленские столбы” (Дроздов и др., 2022). Наши данные позволяют предполагать, что в первой половине раннекембрийской эпохи губки разделились на “известковых” и “кремниевых”, из которых к середине кембрийского периода выделились все современные классы губок.

АНАЛИЗ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ МОРСКИХ ЕЖЕЙ

Дроздов К.А.¹, Султанов Р.М.², Молоствов А.Е.², Дроздов А.Л.²

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, г. Владивосток, drovsh@yandex.ru

²Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток

Представители типа Иголокожие являются одними из самых перспективных источников биологически активных веществ. Так, из голотурий были выделены гликозиды, из морских звезд атаксантин, лютеин, зеаксантин и другие. Наиболее известными веществами, выделенными из иглокожих, являются различные нафтохиноны.

Особое место среди иглокожих, занимают морские ежи. Установлено, что при недостатке кислорода в целомической жидкости этих иглокожих повышается уровень лактата, как и у теплокровных, в том числе у человека (Дроздов и др., 2021). При этом некоторые виды ежей не полностью утратили способности к анаэробному метаболизму, так, например, плоские морские ежи (*Scaphechinus mirabilis*) в состоянии закапываться в песок на глубину, по некоторым данным, до 20 см. Метаболиты, которые позволяют морским ежам оставаться активными при недостатке кислорода, могут оказывать подобный эффект и на теплокровных. Возможно, этим и обусловлен эффект терапевтического действия препаратов, выделенных из морских ежей. Ведь основными причинами гибели клеток является энергетическое и кислородное голодание.

Так, 1,4 нафтохинон, выделенный из панциря плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis*, получивший коммерческое название гистохром, применяется в кардиологии и офтальмологии. Другие массовые виды морских ежей, как источники ценных биологически активных веществ, изучены значительно хуже. Целью данного исследования является получение метаболического профиля экстрактов панцирей морских ежей, как плоских, так и шаровидных и сравнение их друг с другом. Возможно, в панцирях морских ежей может не содержаться значительное количество веществ, обладающих необходимой биологической активностью, однако в них могут находиться вещества, которые станут хорошей основой для синтеза необходимых в фармакологии препаратов.

Спиртовые экстракты панцирей морских ежей высушивали с целью избавления от этилового спирта. Полученные экстракты были растворены в тяжелой воде и исследованы методом ЯМР с подавлением

воды методом преднасыщения. Для получения углеродных спектров использовали стандартную последовательность с шириной спектра 240 ppm.

Данные, получаемые при проведении протонной 1-D спектроскопии, по оси ординат представляют собой интенсивность сигнала от протонов в различных химических связях и состояниях. Это, в свою очередь, дает информацию о пропорциональном содержании ядер в различных химических состояниях в исследуемом образце. По оси абсцисс представлена информация о химическом сдвиге сигнала протонов относительно эталонного ноля (сигнал от тетраметилсилана $\text{SiC}_4\text{H}_{12}$), что дает сведения о количестве различных химических соединений. Значение химического сдвига выражается в частях на миллион от базовой частоты или ppm (parts per million).

Для подавления сигналов воды был использован метод преднасыщения протонов воды перед проведением основного ЯМР-исследования (Braun et al., 1998). Удаление из спектра сигналов от белков достигали путем детерминации по разнице времен T2-релаксации низкомолекулярных и белковых соединений (Nicholson, Wilson, 1989; Колоколова и др., 2008).

Спермальный тест кожного соскоба с панцирей обоих видов морских ежей демонстрирует токсичность их содержимого. Анализ H^1 и C^{13} ЯМР спектров показал наличие в образцах сигналов, соответствующих ароматическим соединениям. Сигналы от этих соединений не совпадали по химическому сдвигу, т.е. ароматические соединения являются строго специфичными для различных видов. Как в протонном, так и в углеродном спектрах сигналы от метильных групп были индивидуальны для разных экстракций. Для одних видов был обнаружен один большой сигнал, для других два и более. Сигналы, а также химический сдвиг этих сигналов были отличны, т.е. они были от различных химических соединений, специфичных для различных видов морских ежей.

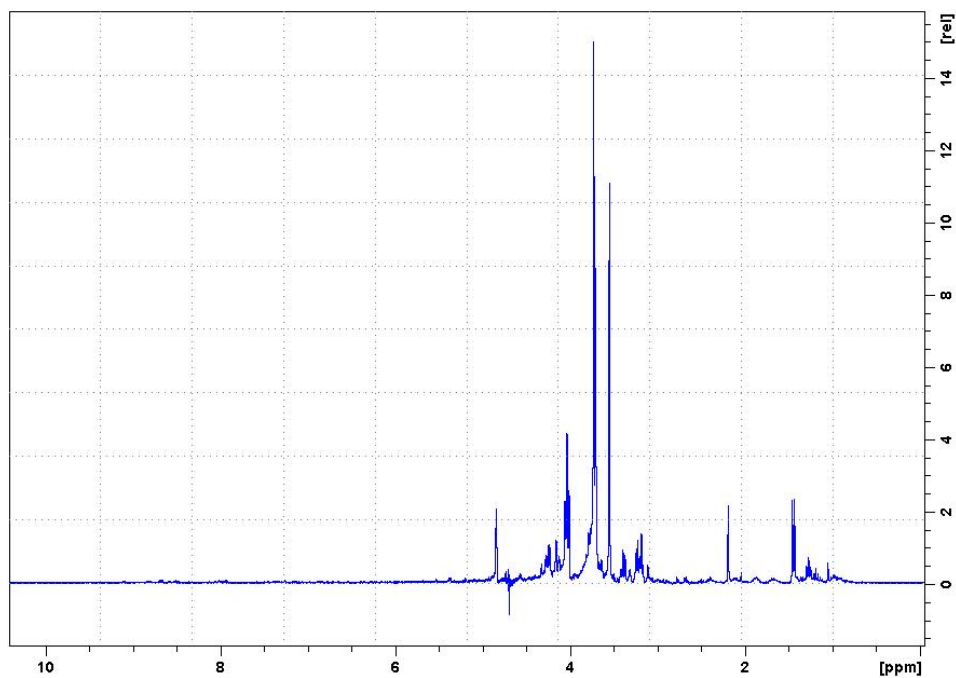


Рис. 1. H^1 спектр экстракта плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis* на ЯМР спектрометре Bruker 300 МГц.

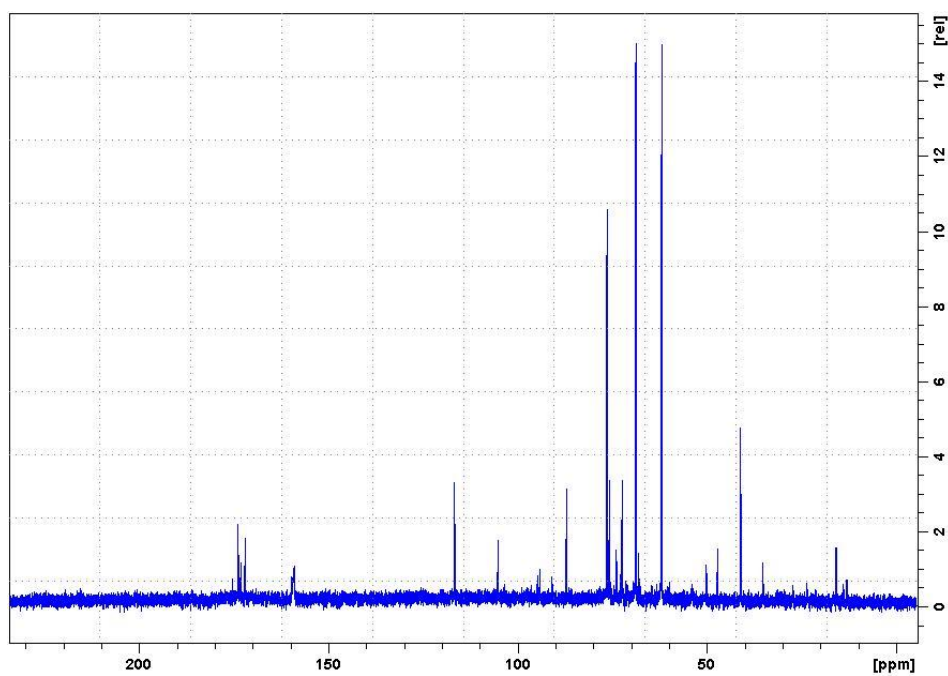


Рис. 2. C^{13} спектр плоского морского ежа *Sc. mirabilis* на ЯМР спектрометре Bruker 300 МГц.

К ВОПРОСУ О ВОЗМОЖНОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЛЕЙКЕМИЯ-ПОДОБНОГО РАКА В ПРИМОРСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ ГРЕБЕШКА *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

Дягилева М.Н., Дмитриева И.А., Анисимова А.А.

Дальневосточный федеральный университет, Институт Мирового океана, г. Владивосток, lanalieva3@gmail.com, irina_kirsanova@inbox.ru, anisan77@mail.ru.

На основании результатов семилетнего мониторинга состояния иммунной системы у хозяйственно значимых двустворчатых моллюсков Южного Приморья нами было выдвинуто предположение о возможности распространения лейкемия-подобного рака в природных и культивируемых популяциях приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis*.

Клетки лейкемия-подобного рака у *Vivalvia* характеризуются крупными размерами, округлой формой, высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, изменением цитоскелета, критическим снижением фагоцитарной активности, дестабилизацией хромосомного набора, способностью вытеснять нормальные гемоциты из гемолимфы и метастазировать в другие ткани (Yona et al., 2012; Carballal et al., 2015). В период с 2016 по 2022 г. в гемолимфе приморских гребешков из Амурского залива, залива Восток и бухты Витязь нами было отмечено появление значительного количества полиплоидных клеток уровней 3–4–5 *c* (вплоть до 10 *c* в отдельных случаях) с элементами хаотической анеуплоидии. Полиплоидизация клеток гемолимфы у исследованных гребешков нередко сочеталась с гистологической картиной инфильтрации гемоцитами внутренних органов и появлением в гемолимфе клеток атипичной морфологии, демонстрирующих устойчивый комплекс структурных признаков: крупный размер и специфическая форма самой клетки (каплевидная, веретеновидная, округлая) и ее ядра (различные варианты плеоморфизма, двуядерность, изменение структуры хроматина) (рис. 1). У гребешков из Амурского залива среди клеток атипичной морфологии преобладали каплевидные двуядерные гемоциты с тетраплоидными значениями содержания ДНК, функциональная активность которых не снижалась по сравнению с диплоидными гемоцитами. Следовательно, сама по себе полиплоидия не вызывала злокачественного перерождения гемоцитов у приморского гребешка или, по крайней мере, не приводила к прогрессии неоплазии. В этом случае полиплоидия могла носить характер адаптации к повышенной средовой нагрузке в условиях

импактной акватории. У гребешков из залива Восток и бухты Витязь на фоне преобладания триплоидных, пентаплоидных и анеуплоидных значений содержания ДНК в гемолимфе чаще встречались клетки с крупным плеоморфным ядром, а наряду с каплевидными гемоцитами – большие округлые клетки с гигантскими ядрами округлой или расщепленной формы. По мере отклонения фенотипа гемоцитов от оригинального снижались и показатели их функциональной активности, в частности, уменьшалось содержание фибриллярного актина в составе микрофиламентов, отвечающих за формирование псевдоподий. Таким образом, у приморских гребешков из залива Восток и бухты Витязь впервые для представителей данного семейства обнаружены признаки, соответствующие картине контагиозного лейкомия-подобного рака, что согласуется с недавним обнаружением этой болезни у мидии *Mytilus trossulus* из бухты Гайдамак залива Восток (Scazina et al., 2021).

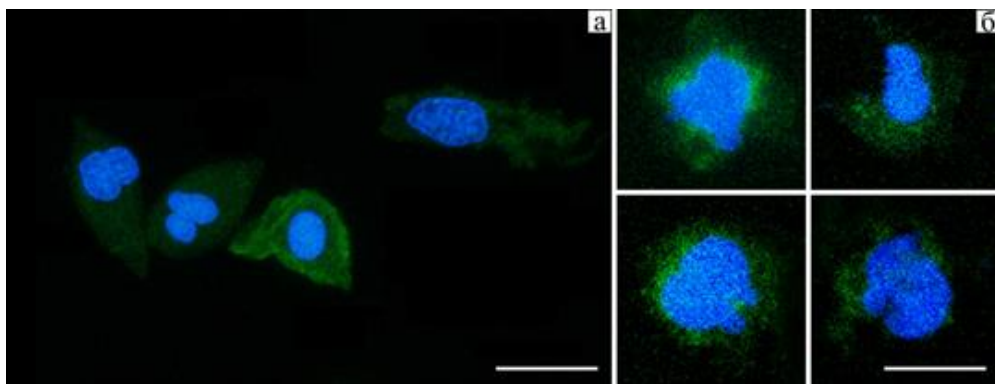


Рис. 1. Атипичные клетки в гемолимфе приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis*: а – каплевидные и веретеновидные клетки, б – клетки с гигантским плеоморфным ядром. Конфокальная микроскопия. Окраска: синий – DAPI, зеленый – родамин-фаллоидин. Масштаб 10 мкм.

Для выявления устойчивых комплексов морфологических признаков, специфически характеризующих атипичные клетки в гемолимфе приморского гребешка, нами был проведен морфометрический анализ гемоцитов у особей из бухты Витязь на препаратах-мазках, приготовленных из свежей гемолимфы. Анализ клеток и их ядер проводили в модуле анализа изображений программного обеспечения ZEN 2012 (blue edition), где отдельное внимание уделялось подбору генерируемых параметров, которые могли бы достоверно дифференцировать клетки разных морфотипов и описывать уникальные для каждого морфотипа свойства. Изначально в анализ было взято 18 параметров, из которых были отобраны четыре размерные характеристики (площадь, периметр, протяженности

большой и малой осей измеряемых объектов) и четыре параметра, описывающих форму (округлость, компактность, коэффициент Фере и форм-фактор измеряемых объектов). Корреляционный факторный анализ показал, что наиболее значимый вклад в общую дисперсию признаков, характеризующих морфологию клеток в гемолимфе гребешков, вносят три фактора. Первый фактор (42.9 % влияния на общую дисперсию) получал максимальную нагрузку от совокупности размерных параметров как самой клетки, так и ее ядра: площади, периметра, протяженности большой и малой осей. Второй фактор (19.6 %) был нагружен переменными, характеризующими форму клетки – округлость, компактность, коэффициент Фере и форм-фактор, который максимально объективно отражает степень отклонения формы клетки от круга (форм-фактор идеального круга равен 1). Третий фактор (15.5 %) объединял те же признаки, но характеризующие форму ядра. В норме живые гемоциты *M. yessoensis* распластываются на предметном стекле с образованием многочисленных псевдоподий (Каретин, 2010). Тем не менее, в образцах с высоким содержанием атипичных клеток площадь гемоцитов росла пропорционально увеличению площади ядра, а не за счет псевдоподий. Эта корреляция вполне согласуется с динамикой процесса малигнизации гемоцитов, когда на фоне структурных перестроек клеточного ядра (изменения его размера, формы и оптической плотности) морфологические изменения претерпевают и сами клетки, отклоняясь от оригинального фенотипа (Carella et al., 2017). Корреляции между показателями размера и формы клеток, так же, как и корреляции между показателями размера и формы клеточного ядра либо отсутствовали, либо более высокие значения показателей округлости и компактности были свойственны более крупным клеткам, что подтверждает сценарий развития лейкоemia-подобного рака.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТАНОЛАМИДОВ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ *IN VITRO* И *IN VIVO*.

Егораева А.А., Пономаренко А.И., Манжуло И.В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, egoraeva.nastya@gmail.com*

Воспаление является физиологическим ответом организма на различные экзогенные или эндогенные стимулы, такие как токсины, повреждение клеток или патогены (Lee, Choi, 2018). Поэтому к основной задаче воспалительной реакции относится локализация и устранение повреждающих факторов, инициация процесса репарации и дальнейшее выздоровление (Medzhitov, 2010; Chen et al., 2018). Следовательно, данный процесс должен регулироваться широким спектром сигнальных молекул, которые индуцируют, поддерживают и восстанавливают его. Дисбаланс между продукцией сигнальных молекул приводит к неконтролируемому воспалению, принимая участие в патогенезе аутоиммунных заболеваний (Fujiwara, Kobayashi, 2005). Поэтому необходим поиск и разработка новых средств и методов, оказывающих эффективное терапевтическое воздействие, направленное на восстановление функции нарушенного иммунного статуса в целом, или же на конкретное звено иммунной системы (Furman, 2019). На данный момент особое внимание уделяется полиненасыщенным жирным кислотам (ПНЖК), особенно эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислотам (ЭПК и ДГК), в связи с их противовоспалительными свойствами, которые они обеспечивают за счет ингибирования провоспалительных цитокинов (ФНО, ИЛ1 β , ИЛ6), снижения эйкозаноидов и хемотаксиса лейкоцитов (Healy et al., 2000), участвующих в воспалении (Calder, 2013). Наряду с ПНЖК в воспалительные процессы также вовлечены N-ацилэтанол амины (NAE), но их влияние мало изучено. Поэтому наше исследование направлено на комплексную оценку биологически активной добавки (БАД), при формировании острого воспаления в центральной и периферической иммунной системе. В составе БАД основными компонентами являются N-докозагексаноилэтанол амин (DHEA), N-эйкозапентаноилэтанол амин (PEEA), N-стеариδοноилэтанол амин (STDEA)), содержание которых составляет 29.81, 27.04 и 12.42%, соответственно (Tyrtysnaia et al., 2022).

В ходе исследования *in vitro* MTS-тест не показал цитотоксическую активность БАД на клеточной линии макрофагов

RAW264.7. Для формирования воспалительной реакции использовали липополисахарид (ЛПС), который добавляли к макрофагам в концентрации 1 мкг/мл. Это приводило к значительному увеличению провоспалительных маркеров: активных форм кислорода (АФК), нитритов и оксида азота (NO). Добавление БАД к ЛПС-активированным макрофагам в исследованных концентрациях (0.1–10 мкг/мл) приводило к статистически значимому снижению АФК. Однако БАД не влиял на уровни NO и нитритов. Данные вестерн-блоттинга демонстрируют повышенную продукцию ФНО, ИЛ1 β , ИЛ6 и CD68 в макрофагах, активированных ЛПС. Добавление БАД в концентрациях 1 и 10 мкг/мл снижало продукцию провоспалительных маркеров практически до контрольных значений.

Наши исследования *in vivo* показали, что у мышей линии C57BL/6, получавших ЛПС, в тимусе и селезенке происходили морфологические изменения. В дольках тимуса границы между корковым и мозговым веществом стали менее различимы, а в селезенке отмечено увеличение фолликулов белой пульпы. Терапия БАД предотвращала развитие морфологических изменений, характерных для ЛПС-индуцированного воспаления в тимусе и селезенке. Оценка пролиферативной активности показала увеличение PCNA-позитивных клеток в тимусе в 2 раза в группе “ЛПС” (76361.52 \pm 2262.258 клеток в мм³), по сравнению с контролем (43133.97 \pm 3482.251 клеток в мм³), а в группе “ЛПС+БАД” понижение в 2.3 раза (32709.06 \pm 1403.314 клеток в мм³). В селезенке увеличение пролиферативной активности в 1.5 раза также наблюдалось в группе “ЛПС”, по сравнению с контролем (129084.8 \pm 5857.478 клеток в мм³ и 94418.1 \pm 2861.6 клеток в мм³, соответственно). Снижение PCNA-позитивных клеток почти до уровня контроля наблюдалось в группе “ЛПС+БАД” (100103.7 \pm 5520.8 клеток в мм³).

С помощью маркера Iba-1 проведена оценка активности клеток иммунной системы, а CD68 позволяет картировать провоспалительные макрофаги. В тимусе в группе “ЛПС” происходило увеличение площади окрашивания Iba-1-позитивных клеток почти в 2.5 раза (48 \pm 16.6%), по сравнению с контролем (18 \pm 7.6%). Маркер CD68 также был увеличен в группе “ЛПС” до 3.6 \pm 0.9%, по сравнению с контролем 2.1 \pm 0.6%. В группе “ЛПС+БАД” площадь окрашивания Iba-1-позитивных клеток уменьшилась почти в 2 раза, по сравнению с группами “Контроль”, “Контроль+БАД” и “ЛПС”. Уменьшение площади окрашивания CD68-позитивных клеток до контрольных значений происходило в группе “ЛПС+БАД” (2.5 \pm 0.9%). В белой пульпе селезенки Iba-1 и CD68 не показали различий между группами “Контроль”, “Контроль+БАД” и “ЛПС”, а в группе “ЛПС+БАД” происходило снижение активности исследуемых маркеров. С помощью маркера Iba-1 установлено, что

активность клеток в красной пульпе селезенки увеличивалась в группе “ЛПС”, а в группе “ЛПС+БАД” происходило уменьшение ниже контрольных значений (12.6 ± 8.6 и $23.6 \pm 6.6\%$). Увеличение площади окрашивания CD68-позитивных клеток происходило в группе “ЛПС” ($3.4 \pm 0.8\%$), по сравнению с контролем ($2.5 \pm 1.3\%$). В группе “ЛПС+БАД” наблюдали уменьшение площади CD68-позитивных клеток в красной пульпе до $1.5 \pm 1.0\%$ по сравнению с контролем.

Таким образом, в нашем исследовании показано, что ЛПС способствовало формированию воспалительной реакции. Это сопровождалось увеличением синтеза провоспалительных маркеров (АФК, NO, нитриты, ФНО, ИЛ1 β и ИЛ6), морфофункциональными изменениями тимуса и селезенки, повышением количества PCNA-позитивных пролиферирующих клеток, а также наблюдалась активация провоспалительных макрофагов, о чем свидетельствует достоверное увеличение площади окрашивания CD68-позитивных клеток. В тоже время, применение БАД, на фоне ЛПС-индуцированного воспаления приводило к снижению синтеза провоспалительных медиаторов (АФК, ФНО, ИЛ1 β и ИЛ6), снижению количества PCNA-позитивных пролиферирующих клеток и уменьшению макрофагальной активности, что способствовало сохранению морфофункционального состояния исследуемых органов.

РАЗНООБРАЗИЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ МЕХАНИЗМОВ У ГУБОК

Ересковский А.В.^{1,2}, Борисенко И.Е.¹, Большаков Ф.В.³, Мельников Н.П.³, Скоренцева К.В.², Лавров А.И.³

¹Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, aereskovsky@mail.ru

²Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, г. Москва

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва

Губки (тип Porifera) обладают выдающимися регенеративными способностями, варьирующими от регенерации утраченных фрагментов до восстановления всего тела из диссоциированных клеток. Изучение репаративной регенерации показало, что у разных таксонов она базируется на различных морфогенетических механизмах: за счёт накопления дедифференцированных плюрипотентных клеток вблизи раны и формирования бластемы (1), либо за счёт ремоделирования интактных тканей вблизи раны, основанного на эпителиальных морфогенезах (2). Первый способ характерен для представителей класса Demospongiae, второй – для классов Homoscleromorpha и Calcareia.

Мы объединили морфологические, цитологические, молекулярные (гибридизация *in situ*) и биоинформатические (транскриптомный анализ) методы для изучения механизмов морфогенетических преобразований, опосредующих регенерацию у нескольких видов губок из классов Homoscleromorpha, Demospongiae и Calcareia.

Мы показали, что ключевым морфогенетическим процессом, сопровождающим репаративную регенерацию Homoscleromorpha и Calcareia, является морфогенез эпителиального типа, в первую очередь – распластывание эпителиальных клеточных пластов и установление контактов между этими пластами, изолирующими внутреннюю среду животного. Для представителей класса Demospongiae характерен репаративный морфогенез, в основе которого лежат мезенхимально-эпителиальные преобразования. Независимо от типа морфогенетического процесса, ни пролиферация клеток, ни апоптоз не принимают активного участия в процессе регенерации. Трансдифференцировка клеток, в первую очередь хоаноцитов, играет важнейшую роль в регенерации всех губок, независимо от их филогенетического положения, анатомии и типа водоносной системы.

С помощью транскриптомного анализа мы обнаружили, что среди молекул, изменяющих свою экспрессию как сразу после повреждения, так и при восстановлении нормальной структурной организации тела

животного, имеется большое количество транскрипционных факторов и элементов сигнальных каскадов, в частности Wnt-каскада. Используя гибридизацию *in situ*, мы продемонстрировали, что компоненты Wnt и TGF β изменяют свою экспрессию на разных стадиях регенерации, что подтверждает роль этих сигнальных каскадов в формировании оси тела губки в ходе её восстановления после повреждения, либо после диссоциации на отдельные клетки.

Таким образом, мы показали, что, несмотря на кажущуюся простоту организации губок, регенерация у них основывается на множестве разнообразных механизмов, характерных для аналогичных процессов у других животных, и подчеркнули особую важность трансдифференцировки.

**ПРОФИЛЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ВИДОВ ЛИПИДОВ МЫШЦ И
ГЕПАТОПАНКРЕАСА ЯПОНСКОГО МОХНАТОРУКОГО КРАБА
ERIOCHEIR JAPONICA И КАМЧАТСКОГО КРАБА
*PARALITHODES CAMTSCHATICUS***

Ермоленко Е.В., Сикорская Т.В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, ecrire_711@mail.ru*

Крабы относятся к большой группе беспозвоночных, некоторые из которых представляют интерес как значимые объекты марикультуры и промышленного рыболовства. Съедобные части краба, будучи известным деликатесом в мире, обладают ценными питательными свойствами. Мясо краба содержит незаменимые аминокислоты, минералы и витамины (Barrento et al., 2009). Из панциря краба получают хитозан, обладающий антибактериальной, антиоксидантной и противоопухолевой активностями (Wang et al., 2020). Одной из важных составляющих питательной ценности крабов являются липиды с высоким содержанием n-3 полиненасыщенных жирных кислот – эйкозапентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой (ДГК) кислотами. В настоящее время особый интерес для биохимических исследований представляет профиль молекулярных видов липидов (липидом). Изучение липидома было проведено у двух перспективных для марикультуры видов крабов *Eriocheir japonica* и *Paralithodes camtschaticus*.

Камчатский краб был выловлен в Японском море и предоставлен для исследования группой компаний “Антей”. Японский мохнаторукий краб был выловлен в Японском море водолазной службой ННЦМБ ДВО РАН. Общие липиды экстрагировали из свежих тканей животных. Для анализа в тканях трепангов основных структурных фосфолипидов – фосфатидилэтаноламинов (ФЭ), фосфатидилхолинов (ФХ), фосфатидилсеринов (ФС) и фосфатидилинозитолов (ФИ), использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию с масс-спектрометрией высокого разрешения. Для анализа триацилглицеринов (ТГ) использовали сверхкритическую хроматографию с масс-спектрометрическим и светорассеивающим детектированием.

Высокое содержание липидов было отмечено для гепатопанкреаса крабов. Мохнаторукий краб отличался повышенным содержанием липидов в гепатопанкреасе (109.63 ± 0.61 мг/г сырой ткани). Гепатопанкреас камчатского краба содержал липиды в количестве 36.82 ± 3.64 мг/г сырой ткани. Для мышц характерно невысокое

содержание липидов (3.53 ± 0.92 мг/г сырой ткани для *E. japonica* и 1.60 ± 0.40 мг/г сырой ткани для *P. camtschaticus*). Основными классами липидов в гепатопанкреасе были ТГ, стерины, ФХ и ФЭ. В мышцах крабов преобладали ФХ, ФЭ и диацилглицерины. Также были идентифицированы в липидах крабов сфингомиелины, фосфатидные кислоты, лизо-фосфатидилэтанолламины и лизо-фосфатидилхолин.

Состав ТГ гепатопанкреаса исследуемых крабов имел существенные различия. В липидах японского мохнаторукого краба преобладали ТГ с $C_{16:0}$ и $C_{18:1}$ жирными кислотами (ЖК). Основными молекулярными видами ТГ гепатопанкреаса японского мохнаторукого краба были 20:4/16:0/18:1 ТГ ($7.63 \pm 1.28\%$ от суммы ТГ) и 16:1/14:0/16:1 ТГ ($9.82 \pm 0.72\%$ от суммы ТГ). Гепатопанкреас камчатского краба отличался высоким содержанием ТГ с $C_{18:1}$ и $C_{20:5}$ ЖК, среди которых основным был 20:5/18:1/18:1 ТГ ($10.21 \pm 0.50\%$ от суммы ТГ).

Фосфолипиды исследуемых крабов преимущественно содержали $C_{20:5}$ ЖК (20:5n-3, ЭПК), $C_{22:6}$ ЖК (22:6n-3, ДГК) и $C_{20:4}$ ЖК. Тем не менее, крабы имели ряд особенностей в составе фосфолипидов мышц и гепатопанкреаса. Образцы камчатского краба расположены отдельно от образцов мохнаторукого краба, положительно коррелируя с алкил/ацильными ФХ и ФС с $C_{20:4}$ ЖК и отрицательно с ДГК содержащими ФХ, ФЭ и ФС и ФС с ЭПК (рис. 1). Профиль молекулярных видов ФЭ мышц мохнаторукого краба также отличался от гепатопанкреаса содержанием ФЭ с простой эфирной связью ($38.09 \pm 3.50\%$ и $64.97 \pm 6.38\%$ от суммы ФЭ соответственно) и ФЭ с $C_{22:6}$ ЖК ($24.46 \pm 1.99\%$ и $16.34 \pm 3.81\%$ от суммы ФЭ, соответственно). В ФС гепатопанкреаса мохнаторукого краба не обнаружено молекулярных видов с $C_{22:6}$ ЖК в отличие от мышц. Ткани камчатского краба имели различия в составе ФХ: мышцы содержали большее количество молекулярных видов с простой эфирной связью. Японский мохнаторукий краб отличался от камчатского краба пониженным содержанием молекулярных видов с $C_{20:5}$ ЖК в ФХ, ФС и ФИ, повышенным содержанием $C_{20:4}$ ЖК в ФЭ, ФХ, ФС и ФИ, а также пониженным содержанием молекулярных видов с $C_{22:6}$ ЖК в ФЭ и ФХ.

Развитие марикультуры требует детальной информации о морских организмах. Липиды одними из первых в организме реагируют на изменение условий окружающей среды, диеты или возникновения заболеваний (Wang et al., 2021; Zhan et al., 2022). Полученные данные о профиле молекулярных видов липидов могут быть полезны при искусственном разведении крабов.

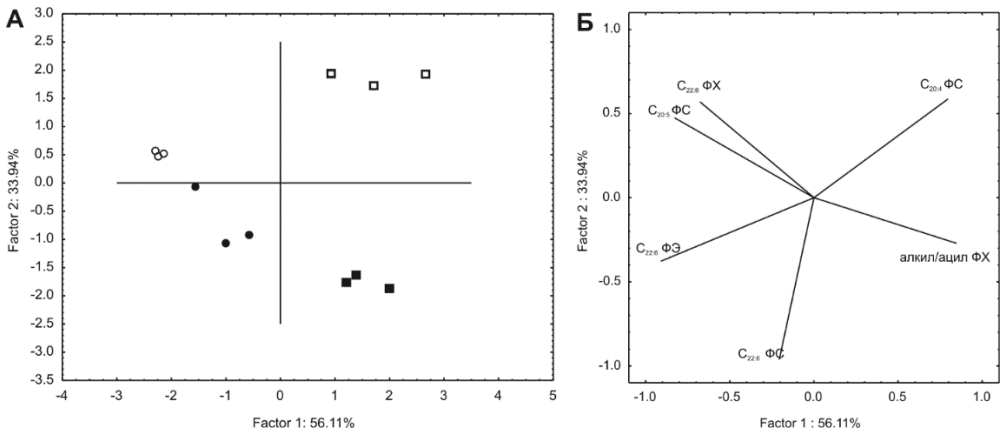


Рис. 1. Результаты анализа методом главных компонент на основе состава молекулярных видов фосфолипидов мышц и гепатопанкреаса японского мохнаторукого краба *Eriocheir japonica* и камчатского краба *Paralithodes camtschaticus*. Символами обозначены: ● мышцы камчатского краба; ○ гепатопанкреас камчатского краба; ■ мышцы мохнаторукого краба; □ гепатопанкреас мохнаторукого краба.

Ткани исследованных крабов богаты фосфолипидами с высоким содержанием n-3 полиненасыщенных жирных кислот. Морские фосфолипиды являются диетическим продуктом, характеризующиеся высокой питательной ценностью и положительным воздействием на здоровье человека. Использование морских фосфолипидов в диете приводило к снижению уровня холестерина и улучшению памяти у пациентов с неврологическими заболеваниями (Наг et al., 2021). Исследуемые крабы являются ценным источником биологически активных липидов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-74-30004).

**ЭКСПРЕССИЯ ДАБЛКОРТИНА, ГЛИАЛЬНОГО
ФИБРИЛЛЯРНОГО КИСЛОГО ПРОТЕИНА И ВИМЕНТИНА В
ИНТАКТНОМ ТЕЛЕНЦЕФАЛОНЕ МОЛОДИ СИМЫ
ONCORHYNCHUS MASOU И ПОСЛЕ ТРАВМАТИЧЕСКОГО
ПОВРЕЖДЕНИЯ**

Жарикова Е.И.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, eva_1213@mail.ru*

Взрослый нейрогенез, генерация и интеграция новых нейронов в мозг взрослых организмов представляет собой основной источник пластичности мозга. Возникновение нейрогенеза во взрослом мозге распространяется на все подтипы позвоночных, хотя его масштабы сильно различаются в зависимости от филогенетической принадлежности животных. Костистые рыбы служат исключительными моделями для изучения динамики клеточного цикла и функции нервных стволовых и прогениторных клеток во всей центральной нервной системе. Пожизненное присутствие пролиферирующих взрослых нейрональных стволовых клеток-предшественников (вНСКП) в различных нишах головного мозга, наряду с их нейрорегенеративной способностью после повреждения головного и спинного мозга, делают костистых рыб чрезвычайно привлекательными для изучения.

В настоящем исследовании представлены результаты сравнительного онтогенетического анализа субпопуляций клеток перивентрикулярной, субвентрикулярной и глубоких паренхиматозных слоев конечного мозга молодежи тихоокеанских лососей. Получены новые сведения о характеристиках клеток различных областей теленцефалона молодежи симы в ходе постэмбрионального онтогенеза. Клетки перивентрикулярной зоны паллиума и субпаллиума способны к пролиферации, нейрональной дифференцировке и формированию нейробластов как в условиях гомеостатического роста, так и в результате острого травматического повреждения. В перивентрикулярной зоне преобладают недифференцированные клетки нейроэпителиального типа, экспрессирующие виментин, глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP) и глутаминсинтетазу (ГС). Экспрессия данных маркеров в вНСКП обладает цитохимической и функциональной специфичностью, в частности, если при конститутивном процессе большинство маркеров экспрессируется в клетках нейроэпителиального типа, то в результате травмы, появляются паттерны экспрессии в радиальной глии и изменяется характер

кластеризации иммунопозитивных групп, отличающихся функциональной специализацией. В различных топографических областях паллиума и субпаллиума характер экспрессии GFAP, виментина и ГС имеет отличия. Тем не менее, выявлена общая тенденция к увеличению числа вНСКП в острый посттравматический период, характерная как для паллиальных областей, так и для субпаллиума.

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БЕНТОСНОЙ
ЦИАНОБАКТЕРИИ *LEPTOLYNGBYA* CF. *ECTOCARPI* (GOMONT)
ANAGNOSTIDIS & KOMÁREK 1988**

**Железнова С.Н.^{1,2}, Мирошниченко Е.С.¹, Благинина А.А.¹, Наумов
И.В.², Геворгиз Р.Г.^{1,2}**

¹Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, г.
Севастополь, zheleznovasveta@yandex.ru

²Институт теплофизики им. С.С. Кутателадзе СО РАН, г.
Новосибирск

Цианобактерии – многообещающая группа микроорганизмов для получения натуральных биологически активных соединений, позволяющих производить уникальные продукты лечебно-профилактического назначения в промышленных масштабах (Mishra et al., 2019; Burja et al., 2001; Favas et al., 2022; Morone et al., 2022). Цианобактерии продуцируют широкий спектр биоактивных соединений, состоящих из 40% липопептидов, 5.6% аминокислот, 4.2% жирных кислот, 4.2 % макролидов и 9% амидов, а также фикобилипротеины (фикоэритрин, фикоцианин и др.). При поиске вида-продуцента биоактивных соединений и при разработке технологии получения ценного продукта необходимо учитывать возможность интенсивного культивирования продуцента в любом регионе на территории РФ, а также простоту выращивания и сбора урожая. Одним из перспективных источников получения биологически активных соединений является цианобактерия *Leptolyngbya* cf. *ectocarp* (Hirose, 1969; Wilmotte, 1988; Favas et al., 2022), выделенная нами из перифитона синтетических субстратов в Карантинной бухте Черного моря (44°36'56''N, 33°30'10''E). Штамм *Leptolyngbya* cf. *ectocarp* является морским нитчатым бентосным видом (Komárek et al., 2005), обладает способностью расти в широком диапазоне облучённостей и температур (Wilmotte, 1988; Singh, Kumar, 2021; Prabha et al., 2023), что дает возможность интенсивного культивирования этой цианобактерии в любом регионе на территории РФ. Так как данный вид бентосный, то при отсутствии перемешивания культура полностью оседает на дно, что упрощает сбор биомассы.

Цель нашей работы провести биохимический анализ биомассы *Leptolyngbya* cf. *ectocarp* в стационарной фазе роста для оценки биотехнологического потенциала. Установлено, что данный штамм отличается высоким содержанием липидов, концентрация которых составляет 25–26% от сухой массы. Содержание белка достигает 56–

57%, при этом основную долю занимает С-фикоэритрин и фикоцианин, концентрация которых составляет 78 мг/г сухой массы и 22 мг/г сухой массы, соответственно (табл. 1). Это приводит к заключению, что *Leptolyngbya* cf. *ectocarpi* имеет большую перспективу для использования в биотехнологии как природный источник водорастворимых пигментов, имеющих противораковую, антиоксидантную и противовоспалительную активность (Kannaujiya et al., 2019).

Таблица.1 Биохимический состав бентосной цианобактерии *Leptolyngbya* cf. *Ectocarpi*

| Концентрация, % от сухой массы | | Концентрация фикобилипротеинов, мг/г сухой массы | |
|--------------------------------|--------|--|-----------|
| Белок | 56±0.5 | С-фикоэритрин | 78.8±0.8 |
| Липиды | 25±0.5 | С-фикоцианин | 22.0±0.8 |
| Углеводы | 5±0.3 | Аллофикоцианин | 14.5±0.8 |
| Зола | 13±0.5 | Сумма фикобилипротеинов | 114.4±0.8 |

Таким образом, *Leptolyngbya* cf. *ectocarpi* является перспективным биотехнологическим объектом – ценным источником липидов и фикобилипротеинов, таких как фикоэритрин, фикоцианин и аллофикоцианин.

ПОТРЕБНОСТИ В ОСНОВНЫХ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТАХ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРОСЛИ *NANOFRUSTULUM SHILOI* ДЛЯ ИНТЕНСИВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

***Железнова С.Н., Благинина А.А., Геворгиз Р.Г., Бобко Н.И.,
Мирошниченко Е.С., Рябушко Л.И.***

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г.
Севастополь, aablaginina@gmail.com*

Диатомовые водоросли как продуценты ценных биологически активных веществ занимают важное место в современной биотехнологии. В настоящее время среди многих продуцентов биологически активных веществ особый интерес представляют бентосные морские виды, отличительной особенностью которых является способность активно расти и развиваться при пониженной освещённости и температуре (Xuan et al., 2021). При проведении скрининговых исследований бентосных сообществ черноморского побережья нами был обнаружен в перифитоне полимерных материалов и впервые описан для Чёрного моря (Blaginina, Ryabushko, 2021) мелкоклеточный вид пеннатной, бесшовной диатомовой водоросли – *Nanofrustulum shiloi* (Round et al., 1999). Вид известен как бентопланктонный, космополит, который обладает широкой экологической пластичностью: способен активно расти в широком диапазоне температур от 7 до 25°C и солёности воды – от пресноводных до гипергалинных условий (от 1 до 50‰) (Blaginina, Ryabushko, 2021; Woelfel et al., 2021). *N. shiloi* характеризуется высоким содержанием белка (50% от сух. массы), фукоксантина (1–1.5% сух. массы) и липидов (27–28% сух. массы), из них жирные кислоты составляют 70% от общего количества липидов. Доминирующими жирными кислотами являются эйкозапентаеновая и арахидоновая (Sahin et al., 2019; Demirel et al., 2020). Удельная плотность клеток *N. shiloi* больше единицы, поэтому при отсутствии перемешивания культура оседает на дно, что существенно упрощает сбор биомассы. Следовательно, все экологические, биохимические и физиологические характеристики вида делают его перспективным объектом для биотехнологии. Несмотря на перечисленные особенности, использование *N. shiloi* в промышленных масштабах ограничено. Это связано, в основном, с отсутствием высокопродуктивных питательных сред и, как следствие, возможностью получения интенсивной культуры. Для культивирования *N. shiloi* традиционно используют обеднённые по многим биогенным элементам питательные среды F/2, F или BG11, что ограничивает получение

плотных культур и использование данного вида в биотехнологии (Sahin et al., 2019; Demirel et al., 2020). Известно, что для создания высокопродуктивных питательных сред необходимо знать потребности в биогенных элементах данной культуры. В современной литературе отсутствуют сведения о потребностях *N. shiloi* в биогенных элементах, таких как азот, фосфор, кремний, железо и др.

Цель работы – получить альгологически чистую культуру диатомовой водоросли *N. shiloi* и определить потребности вида в основных биогенных элементах для интенсивного культивирования. Чистую культуру *N. shiloi* получали посевом на поверхность агаризованной питательной среды с последующим наращиванием биомассы в жидкой питательной среде F/2. Идентификацию вида проводили с помощью электронного сканирующего микроскопа. Для выявления потребностей вида в азоте, фосфоре и кремнии при накопительном культивировании предварительно был проведён химический анализ биомассы, на основе которого рассчитана “истинная” потребность в азоте, фосфоре и кремнии (табл. 1).

Таблица 1. Химический состав диатомовой водоросли *Nanofrustulum shiloi*

| Макроэлементы | Содержание в биомассе, мг/г | Микроэлементы | Содержание в биомассе, мкг/г |
|---------------|-----------------------------|---------------|------------------------------|
| Кремний | 10.20±0.01 | Кобальт | 65±1 |
| Азот | 64.0±1.0 | Марганец | 24± |
| Фосфор | 8.88±0.1 | Цинк | 23±1 |
| Железо | 11.0±0.2 | Медь | 28±2 |

Установлено, что для кремния и фосфора “истинная” и наблюдаемая потребности совпадают. Так, при начальной концентрации 0.102 г/л $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$, что в пересчёте на кремний составляет 0.01 г/л, плотность культуры в стационарной фазе роста достигала 1 г/л. Сходная тенденция отмечена нами и при внесении 0.045 г/л $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (в пересчёте на фосфор – 0.0089 г/л). Для азота “истинная” и наблюдаемая потребность не совпадают, поскольку для синтеза единицы массы водоросли характерно некоторое избыточное потребление азота. При начальной концентрации нитрата натрия 0.388 г/л (в пересчёте на азот 0.064 г/л) максимальная плотность культуры достигала 0.9 г/л (потери азота 10%). Кроме этого, установлено, что культура *N. shiloi* растёт и вегетирует при высоких концентрациях железа (более 100 мг/л среды) и способна накапливать его в клетках до 11 мг/г сух. массы. Для получения биомассы с минимальным содержанием этого элемента водоросль выращивали на питательной среде, в которой отсутствовал источник

железа. В таких условиях биосинтез проходит только за счёт внутриклеточных запасов железа, после истощения которых, рост культуры прекращается. При уменьшении содержания железа в клетках до 1 мг/г культура приобретала оранжевый цвет и погибала. Следовательно, чтобы избежать лимитирования роста этого вида, нами использована питательная среда с концентрацией железа 1.5 мг/л. Таким образом, при выращивании диатомовой водоросли *N. shiloi* с учетом его потребности в биогенных элементах была получена интенсивная культура с максимальной продуктивностью 0.55 г/л в сутки, плотность которой в стационарной фазе роста достигала 3.2 г/л сухой массы. С 17 по 27 сут эксперимента наблюдалась длительная стационарная фаза роста, после чего культура погибала. Наличие длительной стационарной фазы характеризует устойчивость культуры к неблагоприятным факторам среды, что позволяет ей максимально накапливать ценные биологически активные вещества, такие как полиненасыщенные жирные кислоты и каротиноиды. Полученные результаты потребности в биогенных элементах черноморского штамма диатомовой водоросли *N. shiloi* позволили получить плотную культуру и определить ее продукционные характеристики, что делает возможным и перспективным дальнейшее использование вида в биотехнологии.

АНОМАЛИИ В РАЗВИТИИ ГОНАД СЕВЕРНОГО ОДНОПЕРОГО ТЕРПУГА

Жукова К.А.^{1,2}

¹Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, г. Шэньчжэнь, Китай

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва

Северный одноперый терпуг *Pleurogrammus monoptyerygius* – важный промысловый вид северной части Тихого океана. Это морская стайная полупелагическая рыба, обитающая в пелагиали открытого океана, для нереста уходящая в прибрежную зону на глубины до 15 м. Самки откладывают икру в гнезда, которые охраняют самцы в брачном желто-черном окрасе (Золотов, 1993).

Гистологический анализ рыб из промысловых уловов показал присутствие в популяции особей с аномалиями в развитии их половых желез. Целью данной работы являлось описание внешнего вида таких гонад и их гистологии.

Материал (3939 особей) был собран весной 2019 г. на борту РТМ П-0697 “Камлайн” (судовладелец ООО “Росрыбфлот”) в северо-западной части Тихого океана. Организация экспедиции и гистологическая обработка произведены в ФГБНУ “ВНИРО”.

В уловах среди нормально развивающихся самцов и самок была отмечена рыба с бисексуальными гонадами, которые внешне выглядели, как нормально развивающиеся яичники стадии зрелости II–III (рис. 1А). Гистологический анализ показал, что в овотестисе присутствовали ооциты периода превителлогенеза и фазы вакуолизации (рис. 2А), а также сперматогонии разных порядков (рис. 2Б).

Особь с нитевидными гонадами встречались чаще, составляя около 1% от исследованных рыб. Они представляли собой вытянутые вдоль спинной стороны тела органы светло серого или желтоватого цвета, похожие на нити (рис. 1Б). Гистологически такие гонады были стерильными, состоя в основном из соединительнотканых элементов (рис. 2В). Но среди разросшейся соединительной ткани присутствовали цисты со сперматогониями.

У одной самки вся полость тела была заполнена зрелой икрой, оставшейся от прошедшего нереста. Вероятно, яйцеводы были повреждены и овулировавшая икра не смогла покинуть тело рыбы. При этом в яичнике продолжалось созревание следующих порций икры (рис. 1В). У двух самцов созревание гонад было преждевременным. В то время как большинство рыб имели гонады стадии зрелости III,

семенники этих особей были мягкими на ощупь, их края оплывали. Также сами самцы имели брачную окраску (желтые и черные полосы), что характеризовало нерестовых особей (рис.1Г). Гистология показала, что первая порция сперматозоидов уже созрела (рис. 2Г). Эта первая порция вероятнее всего подвергнется фагоцитозу, так как если не происходит вымета половых продуктов после созревания, то они резорбируются (Жукова, 2018).

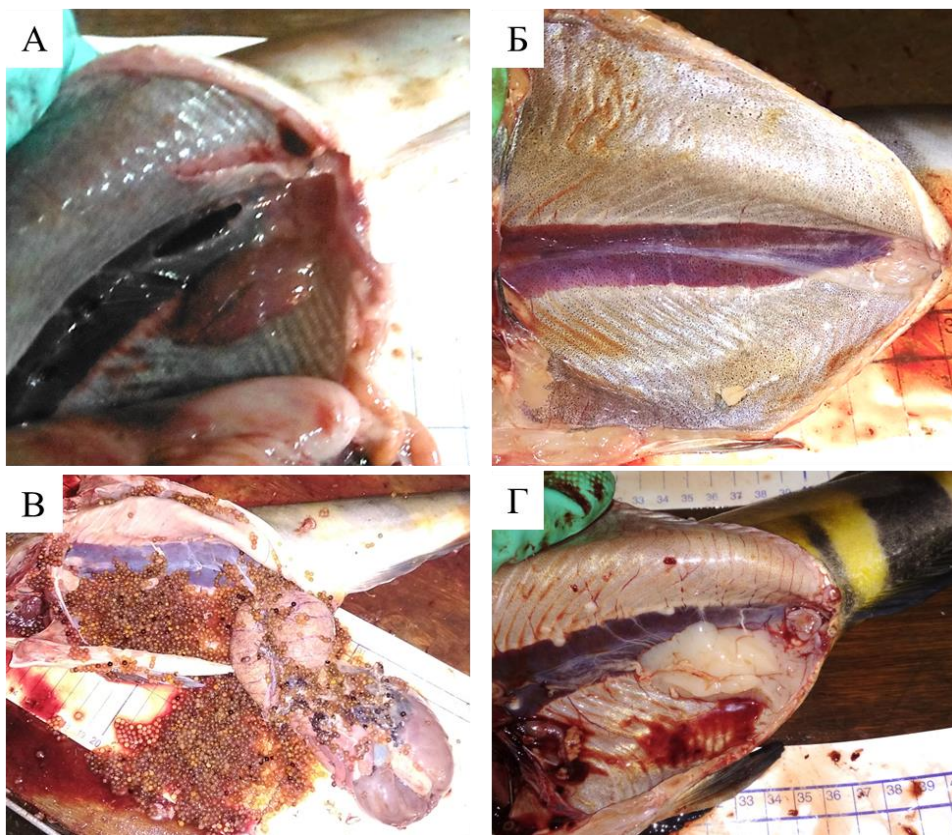


Рис. 1. Внешний вид аномальных гонад северного одноперого терпуга: А – бисексуальные, Б – нитевидные гонады, В – нарушение в выводных протоках у самки, Г – преждевременное созревание у самца.

Представленные в работе аномалии развития половой системы северного одноперого терпуга не являются уникальными и отмечены у других костистых рыб (Bahamonde et al., 2013; Zhukova et al., 2018). Фенотипический пол у рыб имеет достаточно лабильный характер, на него большое влияние оказывают гормоны (Devlin, Nagahama, 2002). Нарушение работы эндокринной системы – вероятная причина появления описанных отклонений развития половых желез, только в случае самки это могло быть механическим повреждением.

Встречаемость таких особей в популяции достаточно низкая, поэтому они скорее представляют собой норму реакции, незначительно снижая репродуктивный потенциал популяции.

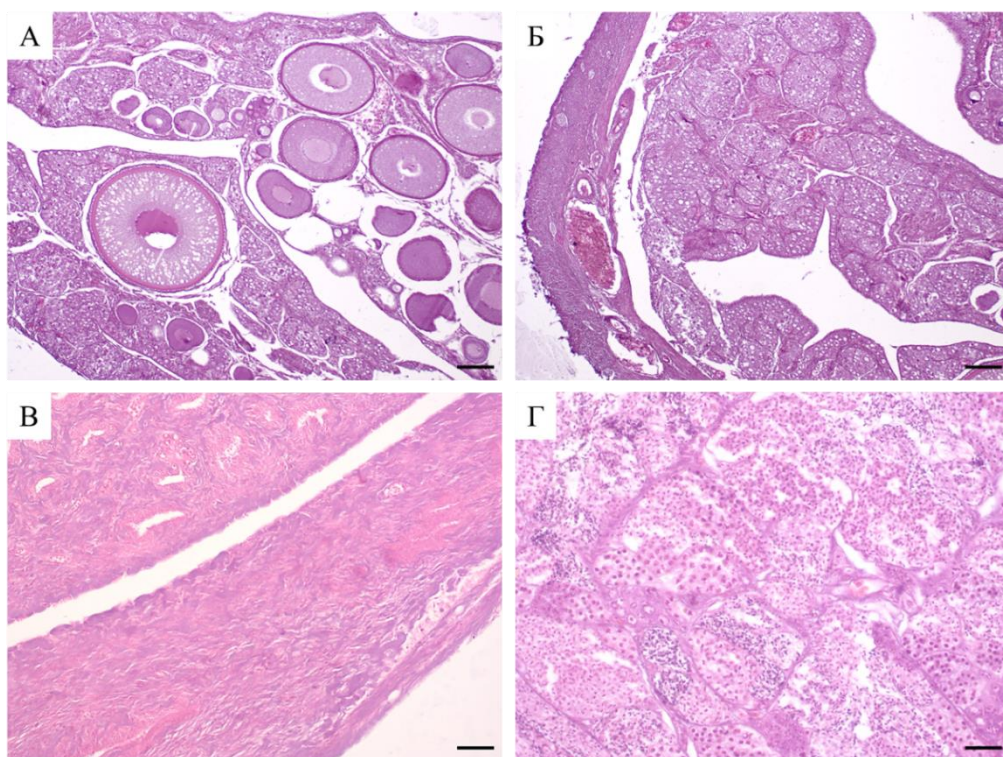


Рис. 2. Гистология аномальных гонад северного одноперого терпуга: А, Б – бисексуальные, В – нитевидные гонады, Г – преждевременное созревание у самца. Масштаб А, Б – 100 мкм, В, Г – 50 мкм.

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ ИГЛОКОЖИХ: СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, СОВРЕМЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Жукова Н.В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, nzhukova35@list.ru*

Тип Иголокожие, включающий классы Crinoidea (морские лилии и криноидеи), Holothuroidea (голотурии или морские огурцы), Echinoidea (морские ежи), Asteroidea (морские звезды) и Ophiuroidea (офиуры, или змеехвостки), является одной из важных групп беспозвоночных. Представители этого типа обитают исключительно в морских средах и распространены почти на всех глубинах и широтах. Некоторые из них, такие как морские ежи и голотурии, представляют коммерческую ценность и являются основным рыбопромысловым ресурсом. Иголокожие все чаще признаются уникальным источником различных метаболитов с широким спектром биологической активности. Важность пищевых полиненасыщенных жирных кислот, таких как эйкозапентаеновая кислота, для здоровья человека привлекает внимание к иголокожим как к многообещающему источнику незаменимых жирных кислот (ЖК).

Основной целью исследования был сбор информации о распределении ЖК среди классов иголокожих, описание структур, распределения, путей биосинтеза и биологической активности с акцентом на ЖК, специфичные для иголокожих. Особое внимание уделено ЖК, полученным из иголокожих, которые проявляют различную биологическую активность, перспективную для потенциального терапевтического применения.

На сегодняшний день накоплена обширная информация о жирных кислотах этого типа. Иголокожие демонстрируют разнообразные структуры ЖК, которые включают в себя обычные, необычные и даже экзотические ЖК (рис. 1). Собственные биосинтетические возможности иголокожих и специфика их рациона приводят к появлению и накоплению ряда необычных ЖК.

Некоторые распространенные и необычные ЖК могут служить хемотаксономическими маркерами классов этого типа. Специфика биосинтеза и состава ЖК в различных таксономических группах создает благодатную почву для их широкого применения в качестве хемотаксономических и биохимических маркеров трофических и метаболических взаимодействий в водных экосистемах. Рацион питания,

рост, репродуктивные стадии и условия окружающей среды оказывают сильное влияние на профили ЖК. В зависимости от их образа жизни, они различаются по типу питания. Одни могут питаться взвесью, другие относятся к запасующим детритофагам или являются хищниками; некоторые виды используют более одного способа добывания пищи. Таким образом, на профиль ЖК иглокожих могут существенно влиять их трофические предпочтения или доступность пищи в различных средах обитания.

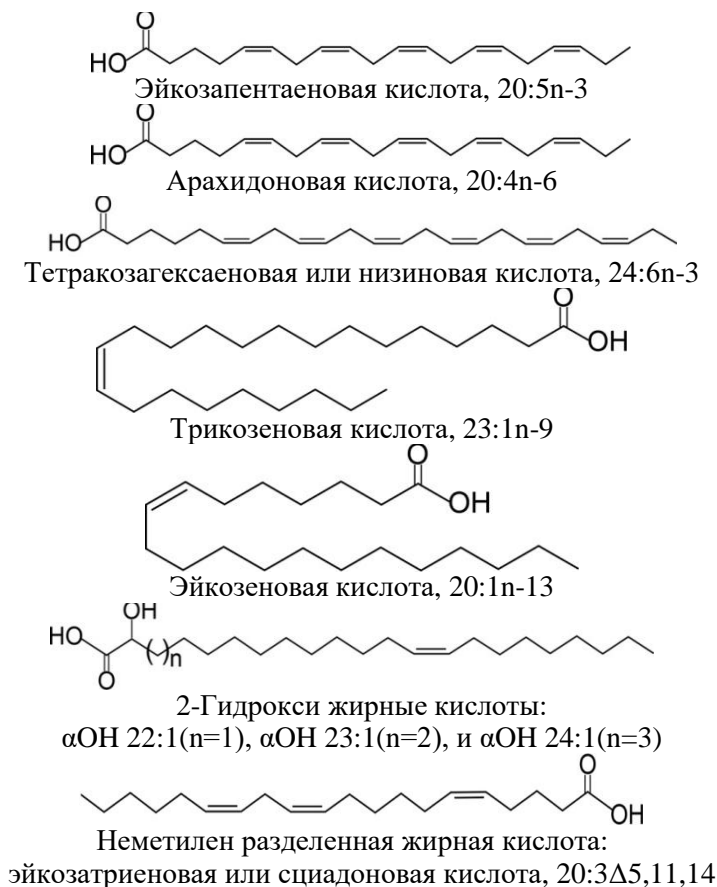


Рис. 1. Структуры жирных кислот, типичные для иглокожих.

В целом, иглокожие, как и другие морские организмы, богаты незаменимыми полиненасыщенными ЖК, главным образом эйкозапентаеновой и арахидоновой кислотами, и, в заметно меньшей степени, докозагексаеновой кислотой. Содержание 20:5n-3 преобладает над содержанием 20:4n-6 у *Ophiuroidea*, в то время как противоположная картина наблюдается у *Holothuroidea* и *Echinoidea*. Помимо обычных

полиненасыщенных ЖК, очень длинноцепочечная ЖК, тетракозагексаеновая или низиновая кислота 24:6n-3, также характерна главным образом для Cridoidea и Ophiuroidea. Необычная кислота 23:1n-9 встречается почти только у Holothuroidea, и, следовательно, эту кислоту можно считать важным хемотаксономическим маркером этого класса. Необычный изомер 20:1n-13 присутствует в липидах Ophiuroidea и Asteroidea и не обнаружен у Crinoidea. Характерной особенностью состава липидов иглокожих является наличие редких или экзотических полиненасыщенных ЖК, особенно у глубоководных видов. Наиболее примечательными являются серии 2-гидроксилированных ЖК, обнаруженные у голотурий и морских ежей. Представители Astroidea и Echinoidea особенно богаты неметилен разделенными ЖК различных структур. Среди них цис-5,11,14-эйкозатриеновая или сциадоновая кислота 20:3 Δ 5,11,14 представляет особый интерес, поскольку она проявляет широкий спектр биологической активности. Показано, что как обычные, так и необычные ЖК, обнаруженные у иглокожих, проявляют различную биологическую активность и являются источником функциональных липидов с потенциальными фармакологическими эффектами.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКА P*iw*i В ТКАНЯХ СТЕНКИ ТЕЛА ГОЛОТУРИИ *EUPENTACTA FRAUDATRIX* (D'YAKONOV & BARANOVA, 1958) (HOLOTHUROIDEA, DENDROCHIROTIDA)

Завальная Е.Г.

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, eugenia_94@inbox.ru

Иглокожие представляют собой удобные модельные объекты для исследования механизмов регенерации, прежде всего из-за выраженных регенеративных способностей и филогенетической близости к хордовым (Dolmatov, 2021).

Восстановительный потенциал животных напрямую связан с наличием в их тканях стволовых клеток, способных дифференцироваться в разные клеточные типы. Известные молекулярные маркеры “плюрипотентности”, одним из которых является белок P*iw*i, применяют для идентификации стволовых клеток (Fierro-Constaín et al., 2017).

Используя метод иммуоцитохимии и поликлональные антитела против белка P*iw*i, осуществляли поиск стволовых клеток в тканях голотурии *Eupentacta fraudatrix* (D'yakonov & Baranova, 1958) (Holothuroidea, Dendrochirotida). Клетки, синтезирующие белок P*iw*i, были обнаружены в составе целомической жидкости голотурии. Количество морфологически недифференцированных клеток целомической жидкости, содержащих маркер P*iw*i, значительно возрастает на ранних сроки регенерации животного (рис. 1).

Увеличение размера клеточной популяции может быть достижимо за счет генерации новых клеток путем пролиферации или рекрутирования уже существующих посредством миграции (Mashanov et al., 2017).

Анализ пролиферативной активности клеток целомической жидкости с использованием белка фосфогистона H3 в качестве митоз-специфического маркера пролиферации не выявил ее статистически значимого увеличения в течение ранних сроков регенерации.

Миграция, в свою очередь, может происходить из эпителиальных или соединительных тканей различных органов (Li, 2018; Sharlaimova et al., 2021). С целью исследовать локализацию источника целоцитов провели иммуоцитохимический анализ структур стенки тела *E. fraudatrix*. Было обнаружено, что P*iw*i-содержащие клетки располагаются в тканях, составляющих стенку тела, в частности, в

плотных и рыхлых слоях соединительной ткани, а также в целомическом эпителии.

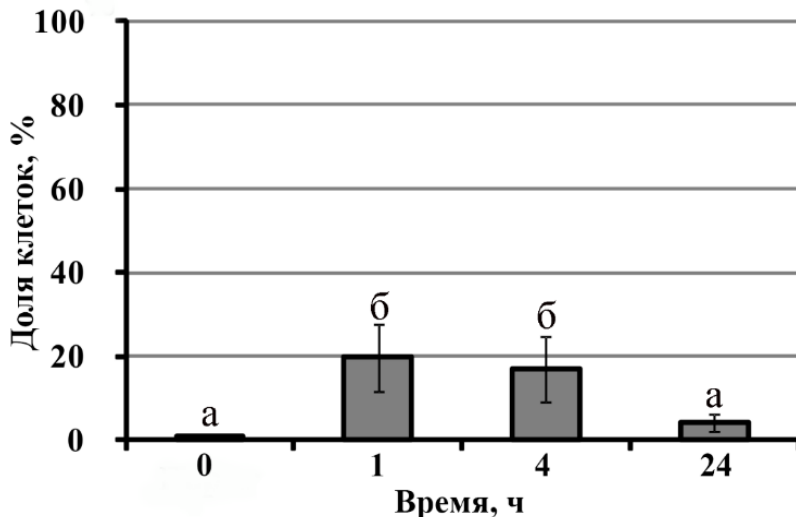


Рис. 1. Содержание Piwi-позитивных клеток в целомической жидкости *Eupentacta fraudatrix*. Одинаковые буквенные индексы, расположенные над столбцами, показывают отсутствие статистически значимых различий между значениями при $p < 0.05$ и $n = 5$.

Морфологически клетки характеризуются как малодифференцированные, с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Среди Piwi-позитивных клеток соединительной ткани встречались клетки с равномерно окрашенной антителами цитоплазмой и клетки, у которых иммунопозитивные компоненты сформированы в виде гранул, расположенных вблизи ядра, внешне напоминающих piage – характерную структуру стволовых клеток (Lim, Kai, 2015). Клетки имеют несколько вытянутую форму и их расположение как на поверхности, так и в толще эпителия свидетельствует в пользу миграции по тканям стенки тела.

Таким образом, белок Piwi позволил установить наличие у *E. fraudatrix* в составе соединительной ткани стенки тела резервной популяции клеток-предшественников целомоцитов, которые выселяются в целомическую полость на начальных этапах регенерации животного.

**РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К
АМПИЦИЛЛИНУ ПЛАЗМИДНОГО ТИПА В МЕТАГЕНОМЕ
ПЛАНКТОННОЙ МИКРОБИОТЫ ТРОПИЧЕСКИХ ВОД
МИРОВОГО ОКЕАНА**

Зимин А.А.¹, Никулина А.Н.¹, Киселев С.С.², Дроздов А.Л.³

*¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина
РАН, Пушчинский научный центр биологических исследований РАН, г.*

Пушино, zimin@ibpm.pushchino.ru

*²Институт биофизики клетки РАН, Пушчинский научный центр
биологических исследований РАН, г. Пушино, antylium@yandex.ru*

*³Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского»
ДВО РАН, г. Владивосток, anatoliyld@mail.ru*

Ампициллин – это антибиотик из семейства пенициллинов. В 1961 г. началось его активное применение против широкого спектра бактерий. В последние годы устойчивость к ампициллину распространилась среди множества бактерий из-за его долгого применения человеком и широкого использования в кормах для животных. Устойчивость к ампициллину делает антибактериальную терапию более трудной и дорогостоящей. Ген TEM1 не хромосомной, а плазмидной локализации, что обеспечивает его более быстрое распространение за счет горизонтального переноса плазмид путем фаговой трансдукции, конъюгации или трансформации. Поиск источников этого гена в дикой природе является как прикладной, так и фундаментальной задачей на стыке экологии и генетики. Исследование механизмов появления устойчивости сразу к нескольким антибиотикам – важная экологическая и медицинская проблема, так как бактерии, обладающие такими свойствами, практически не поддаются уничтожению в практике рутинной клинической терапии. С этой позиции поиск природных гомологов TEM1 в самых различных природных средах, включая бактериальное разнообразие тропических морских вод океана, весьма актуален.

Для поиска гомологов β -лактамазы, продукта гена TEM1, в метагеноме планктонной микробиоты тропических вод океана была использована база данных нуклеотидных и белковых последовательностей, созданная на основе проб микробиоты поверхностных вод Атлантического и Тихого океанов, собранных в ходе экспедиции "Global Ocean Sampling" на яхте SorcererII (Yooseph et al., 2007). Программой PSI-BLAST нами было найдено 48 гомологов, из них 39 с параметром E-value ниже 0.001. Эти 39 гомологов из метагеномов

океана были взяты для эволюционного исследования вместе с известными гомологами TEM1, выделенными из клинических проб. Эволюционная история морских планктонных гомологов белка TEM1 выводилась с использованием метода UPGMA (Sneath, Sokal, 1973). Ветви, соответствующие разделам, воспроизведенным менее чем в 50% в 1000 повторях бутстреп-теста, были свернуты (Felsenstein, 1985). Эволюционные расстояния были рассчитаны с использованием матричного метода JTT (Jones et al., 2006) и выражены в единицах количества аминокислотных замен на сайт. В этом анализе использованы 54 аминокислотные последовательности. Эволюционный анализ проводили в MEGA X (Kumar et al., 2018). Океанические аминокислотные последовательности от GOS 2768260 до GOS 7250357 формируют отдельную ветвь гомологов, наиболее близких реперному белку "beta-lactamase TEM1 (plasmid) *Escherichia coli*". С-концевая, "зрелая" часть этих океанических гомологов β -лактамазы проявляет наименьший полиморфизм по сравнению с другими найденными аминокислотными последовательностями. Последовательность GOS 1985038 оказалась наиболее близкой к β -лактамазам ряда представителей родов *Paraburkholderia*, в первую очередь *P. fungorum* и *Burkholderia*. *Paraburkholderia fungorum* часто используется в качестве агента для биоконтроля и биоремедиации почв в сельском хозяйстве. Морские планктонные аминокислотные последовательности GOS 5809166, GOS 7769256 и некоторые другие проявляют сходство с белками *Acidobacteriota bacterium*, *Candidatus Aminicenantes bacterium*, в том числе с сериновой гидролазой *Deltaproteobacteria bacterium* HGW-*Deltaproteobacteria*-21. Бактерии этого филума – характерные обитатели кислых почв. Например, они широко представлены в кислых верховых болотах. Другая группа океанических гомологов TEM1 от GOS 4557643 до GOS 2038180, включая GOS 8460012, оказалась сходной с сериновыми гидролазами других прокариот, таких как *Pseudomonadota bacterium* (синоним *Proteobacteria*), *Acidimicrobiia bacterium* (*Acidimicrobiia* – отдельный класс почвенных Actinomycetota), *Opitutae bacterium*, которые были выделены из прибрежных морских почв. Swiss-model-моделирование структуры для ряда GOS-последовательностей подтвердило их функцию. В целом можно заключить, что гомологи TEM1 из метагенома планктонной микробиоты, можно разделить на две группы. Первая из них имеет сходство с энтеробактериальными гомологами β -лактамазы, а вторая с сериновыми гидролазами почвенных бактерий.

Морские гомологи TEM1 могут внести дополнительный вклад в появление новых вариантов устойчивости к антибиотикам пенициллинового и цефалоспоринового рядов, а также другим антибиотикам, таким как цефамицины, монобактамы и карбапенемы

(эртапенемы), при неконтролируемом применении препаратов на основе этих веществ в марикультуре, аквакультуре рядом с эстуариями и при попадании этих антибиотиков в прибрежные почвы океана. В этой работе мы сравниваем океанические гомологи этого фермента и гомологи, открытые в медицинских лабораториях, для определения "таксономической" принадлежности найденных нами морских вариантов гена TEM1. Мы также используем сравнение, чтобы получить представление об адаптивной значимости океанических гомологов TEM1. Океанические воды – оптимальная среда для распространения трансдуцирующих частиц на основе бактериофагов. Для некоторых крупных бактериофагов, родственных бактериофагу T4, также была показана способность к переносу генов плазмид и даже биплазмидных систем за счет общей трансдукции (Tanyashin et al., 2003a, б). T4-подобные фаги морских бактерий были обнаружены ещё в 1984 г. Океаническая фаговая трансдукция может не только способствовать распространению гена TEM1 в океане, но и с более низкой частотой приводить к случайному появлению в природе морских бактерий, устойчивых к двум и более антибиотикам. Исследование структуры обнаруженных нами новых последовательностей, гомологов TEM1, послужит для получения новых классов антибиотических веществ с заданными свойствами и получения новых препаратов для терапии инфекционных заболеваний, вызванных возбудителями с множественной устойчивостью к уже известным медицинским средствам.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00669, <https://rscf.ru/project/22-25-00669/>.

АНАЛИЗ ДИВЕРГЕНЦИИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ УЧАСТКОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ (*COI*, *16S* рРНК) И ЯДЕРНОЙ (*28S* рРНК, ГИСТОН *H3*) ДНК ДВУХ ВИДОВ ЩЕТИНКОЧЕЛЮСТНЫХ (*CHAETOGNATHA*)

Золотова А.О.¹, Картавцев Ю.Ф.¹, Касаткина А.П.²

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, anna.o.zolotova@gmail.com

²Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО
РАН, г. Владивосток, apkas@mail.ru

Тип Щетинкочелюстные (*Chaetognatha*) или хетогнаты – представители зоопланктона, численность которых в морских водах в настоящее время составляет более 120 видов. Щетинкочелюстные – хищные животные, их биомасса в Мировом океане составляет 5–15%, что делает этих беспозвоночных важным компонентом многих морских пищевых цепей. Находки хетогнат известны в Кембрийских отложениях, и для данной группы успешно применяется филогенетический анализ. Однако работы по определению внутри- и межвидовой изменчивости при помощи молекулярно-генетических методов немногочисленны и ограничиваются четырьмя работами по ДНК-штрихкодированию. Молекулярно-генетические данные по российским водам отсутствуют. Цель данной работы состояла в проведении молекулярно-генетического анализа для двух определенных по морфологическим признакам видов щетинкочелюстных (*Leptosagitta alba* и *Praheterokrohnia parva* gen. nov., sp. nov.) и уточнении их положения в системе *Chaetognatha*.

Материалом для работы послужила ДНК трёх экземпляров щетинкочелюстных из музейной коллекции Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН (табл. 1). Исследуемые особи были зафиксированы в 96% этиловом спирте и определены как *Leptosagitta alba* и *Praheterokrohnia parva* gen. nov., sp. nov. Получены последовательности двух митохондриальных маркеров генов – *COI* (617 п.о.) и *16S* рРНК (390 п.о.), и двух ядерных маркеров генов – *28S* рРНК (1024 п.о.) и гистона *H3* (364 п.о.). Все последовательности помещены в базу данных BOLD. Для выявления внутри и межвидовых *p*-расстояний были добавлены особи из генного банка (GenBank) (101 особь для *COI*, 11 особей для *16S* рРНК, 59 особей для *28S* рРНК, 4 особи для гистона *H3*). Для каждого маркера были использованы следующие методы реконструкции филогенетических деревьев: ближайшего соседства (NJ), максимального правдоподобия (ML), максимальной парсимонии (MP) и Байесовский анализ (BA).

Таблица 1. Список исследуемых образцов

| Название вида | Музейный номер | Номер BIN в базе BOLD | Номер образца (Sample ID) в базе BOLD | Номер сиквенсов (Process ID) в базе BOLD | Дата сбора | Место сбора |
|---|----------------|-----------------------|---------------------------------------|--|------------|----------------------|
| <i>Leptosagitta alba</i> | LP -7/1 | BOLD:AFA8431 | CHAET-001-21 | CHAET001-23 | 24.11.2001 | 42.84°N 133.65°E |
| <i>Leptosagitta alba</i> | LP -7/2 | | CHAET-002-21 | CHAET002-23 | 24.11.2001 | 42.84°N 133.65°E |
| <i>Praheterokrohnia parva</i> gen. nov., sp. nov. | BiToPr S 1.1 | BOLD:AFA7740 | CHAET-003-21 | CHAET003-23 | 19.12.2018 | 42.26°N; 131.15°E |

COI. Межвидовые *p*-дистанции для маркера *COI* составили от 5.4% (*Aidanosagitta neglecta* и *Sagitta robusta*) до 50% (*Eukrohnia macroneura* и *Sagitta bipunctata*). Средние значения внутривидовых *p*-расстояний не превышали 3.8% (*Heterokrohnia* sp.). Исключения по внутривидовым расстояниям были у следующих видов: 1) *Eukrohnia hamata* (5.5%) вследствие кластеризации отдельных экземпляров с *Eukrohnia bathyantartica* (возможно неверное определение авторов из GenBank); 2) *Aidanosagitta regularis* (4.6%) в результате того, что один экземпляр образовал сестринскую ветвь для кластера *Aidanosagitta regularis*+*Sagitta robusta*; 3) *Parasagitta elegans* (20.2%) – вид, состоящий из отдельных линий, не имеющих видového или подвидového статуса.

16S рРНК. Межвидовые *p*-расстояния для маркера *16S* рРНК составили от 15% (*Heterokrohnia davidi* и *Heterokrohnia longidentata*) до 48% (*Parasagitta elegans* и *Spadella cephaloptera*). Средние значения внутривидовых *p*-дистанций не превышали 3.8% (*Leptosagitta alba*; *Zonosagitta nageae*). Исключение по внутривидовым расстояниям было у *Spadella cephaloptera* (10.7%), образцы этого вида разделились на две ветви со 100% бутстреп и рр-поддержками.

28S рРНК. Межвидовые *p*-расстояния для маркера *28S* рРНК составили от 0% (*Leptosagitta alba* и *Aidanosagitta crassa*; *Praheterokrohnia parva* gen. nov., sp. nov. и *Parasagitta elegans*; *Pseudosagitta gazellae* и *Pseudosagitta lyra* и *Pseudosagitta maxima*; *Solidosagitta marri* и *Solidosagitta zetesios*) до 32.4% (*Spadella cephaloptera* и *Pseudosagitta gazellae*; *Spadella cephaloptera* и *Pseudosagitta gazellae* и *Pseudosagitta lyra*). Средние значения внутривидовых *p*-расстояний не превышали 2% (*Pterosagitta draco*). Исключение составили виды, особи которых образовали отдельную ветвь из-за вставок до 117 п.о.: *Eukrohnia fowleri* (16%), *Sagitta bipunctata* (19.2%), *Sagitta macrocephala* (21.8%), *Serratosagitta serratodentata* (31.3%).

Гистон *H3*. Межвидовые *p*- расстояния для маркера 28S рРНК составили от 6.8% (*Leptosagitta alba* и *Parasagitta elegans*) до 8.3% (*Leptosagitta alba* и *Pseudosagitta lyra*). Исключение составили *p*- дистанции для *Pseudosagitta gazellae* и *Pseudosagitta lyra* (0.9%). Значения внутривидовых расстояний составили 0%.

Сходство наблюдалось для *Leptosagitta alba* и *Aidanosagitta crassa*. Значения *p*-расстояний, равные внутривидовому уровню, наблюдались у исследуемых видов *Leptosagitta alba* и *Aidanosagitta crassa* (*COI*=2.3%, 28S=0%). Вероятно, из-за отсутствия в базе данных последовательностей 16S рРНК и гистона *H3* для *Aidanosagitta crassa* по данным маркерам не было выявлено сходства *Leptosagitta alba* ни с одним видом. На деревьях, реконструированных всеми четырьмя методами (NJ, ML, MP, BA), по *COI* и 28S маркерам особи *Leptosagitta alba* и *Aidanosagitta crassa* образовали общий кластер с 100% бутстреп-поддержками. Вероятно, несмотря на морфологические отличия, *Leptosagitta alba* и *Aidanosagitta crassa* являются одним видом, который по принципу приоритета следует назвать *Aidanosagitta crassa*.

Несмотря на объединение в один кластер, *p*-расстояния (маркер *COI*) между *Praheterokrohnia parva* gen. nov., sp. nov. и *Parasagitta elegans* составили 26%, что соответствует межвидовым расстояниям. Такие результаты объясняются высокой скоростью изменчивости мтДНК у разных линий *Parasagitta elegans*, являющейся наибольшей среди животных. Вследствие отсутствия последовательности 16S рРНК для *Praheterokrohnia parva* gen. nov., sp. nov., невозможно было определить его принадлежность к какому-либо виду по этому маркеру. Значения *p*-расстояний по маркерам 28S и *H3* составили 0 и 0.6%, соответственно. На филогенетических реконструкциях (NJ, ML, MP, BA) потенциально новый вид и *Parasagitta elegans* образовывали единый кластер с 45% (*COI*), 100% (28S) и 100% (*H3*) бутстреп-поддержками. Поэтому *Praheterokrohnia parva* gen. nov., sp. nov. следует идентифицировать как отдельную линию вида *Parasagitta elegans*.

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛАМИДА ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА СИСТЕМНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ ПРИ РАЗВИТИИ АЛИМЕНТАРНО-ИНДУЦИРОВАННОГО ОЖИРЕНИЯ У МЫШЕЙ

Ивашкевич Д.Н., Манжуло И.В., Дюйзен И.В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, ownsean@yandex.ru*

Высокий рост заболеваемости ожирением и сопутствующие ему метаболические и соматические расстройства (сахарный диабет, атеросклероз, патология сердечно-сосудистой системы) диктуют необходимость выявления новых молекулярных механизмов, участвующих в комплексной и системной регуляции данных патофизиологических процессов (Hideki et al., 2007). Несмотря на высокую распространенность ожирения, методы фармакологической терапии этого заболевания в настоящее время довольно ограничены (Bray, Ryan, 2007; Chaput et al., 2007; Hofbauer et al., 2007; Padwal, Majumdar, 2007). Доступных рецептурных препаратов, изученных в крупных рандомизированных плацебо-контролируемых клинических испытаниях и одобренных для долгосрочного лечения ожирения, всего три: фентермин (Адипекс-П), средство для подавления аппетита на основе амфетамина и фенилэтиламина, которое повышает уровень катехоламинов и вызывает чувство сытости; орлистат (Ксеникал) (Roche), ингибитор липазы желудочно-кишечного тракта, который уменьшает поглощение жира; и сибутрамин, ингибитор обратного захвата норадреналина-серотонина-дофамина центрального действия, который подавляет аппетит и может также увеличивать расход энергии (Hofbauer et al., 2007). Применение этих препаратов затруднено серьезными побочными эффектами со стороны желудочно-кишечного тракта (орлистат) или сердечно-сосудистой системы (сибутрамин) (Padwal, Majumdar, 2007), что часто в конечном итоге приводит к полипрагмазии. Более того, эффекты от фармакотерапии всего на 3–5% превышают результаты, которые достигаются простым ограничением питания и физической активностью.

В этой связи разработка принципиально новых методов лечения ожирения является приоритетом как для пациентов, так и для системы здравоохранения. Одной из наиболее многообещающих фармакологических мишеней для разработки лекарств с метаболическим и анорексигенным эффектами являются элементы собственной эндогенной системы организма человека и животных, представленной группой соединений липидной природы – N-ацилэтаноламидами (NAE)

насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот (Uberto et al., 2006). Источником для синтеза NAE в нашей работе служили основные жирные кислоты оливкового масла. Как правило, оливковое масло первого отжима (EVOO) состоит преимущественно из мононенасыщенных жирных кислот (MUFAs), причем олеиновая кислота (C18:1) составляет от 55 до 83%, за ней следуют полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), составляющие от 4 до 20%, в основном линолевая кислота (C18:2), а также насыщенные жирные кислоты (SFA), составляющие от 8 до 14%, такие как пальмитиновая кислота (C16:0) (Covas et al., 2015; Montserrat-de la Paz et al., 2016; Foscolou et al., 2018). Накопленные данные свидетельствуют о том, что ОЕА может быть вовлечен в различные патофизиологические аспекты регуляции аппетита, липидного и углеводного обмена. Данный эндогенный метаболит синтезируется в верхнем отделе тонкого кишечника при всасывании липидов из пищи и модулирует экспрессию генов, участвующих в абсорбции жира и метаболизме жирных кислот (Chung et al., 2015). Биологические эффекты ОЕА представляют потенциальный интерес в качестве фармакологической мишени для лечения ожирения и сопутствующих расстройств липидного обмена (Bermudez-Silva et al., 2010; Dipasquale et al., 2010). Применение препарата ОЭА способствует снижению потребления пищи и тормозит прибавку массы тела как у худых, так и у тучных грызунов (Piomelli, 2013). Эти эффекты в первую очередь связаны с активацией рецептора α , активируемого пролифератором пероксисом (PPAR- α), к которому ОЭА проявляет высокое сродство (Fu et al., 2003). Линолеоилэтаноламид (LEA) и пальмитоилэтаноламид (PEA), являются близкими структурными аналогами ОЕА. Проявляя аналогичные противовоспалительные свойства, обусловленные взаимодействием с PPAR- α (Ishida et al., 2013), они, однако, неактивны или менее активны, чем ОЭА в своем анорексическом действии (Dier et al., 2011). В частности, PEA значительно менее эффективен, чем ОЕА, в снижении потребления пищи; LEA близок по эффективности к ОЕА, а сама по себе олеиновая кислота не оказывают никакого эффекта (Dier et al., 2011). Тем не менее, эндогенные уровни как ОЕА, так и PEA и LEA регулируются состоянием питания животных. Голодание в целом снижает уровень NAEs в начальном отделе тонкой кишки, в то время как прием пищи стимулирует клетки в слое слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и тощей кишки вырабатывать эндогенный ОЕА, PEA и LEA (Dier et al., 2011; Igarashi et al., 2015). Содержание жира в рационе также может влиять на эндогенные уровни ОЕА, LEA и PEA в кишечнике в зависимости от времени и дозы, что предполагает их возможную роль в качестве так называемых жировых сенсоров (Dier et al., 2011). Более того, диета с высоким содержанием сахарозы и низким

содержанием жиров снижает мобилизацию ОЕА и LEA из тонкого кишечника при введении липидов интрадуоденально (Igarashi et al., 2015). Эти наблюдения предполагают, что изменения путей данных NAE также играют роль в липидном обмене.

На сегодняшний день известно, что ожирение сопровождается состоянием хронического системного воспаления и связано с умеренно повышенным уровнем циркулирующих цитокинов и белков острой фазы (Schmidt-Arras, Rose-John, 2016). Сывороточный IL-6 повышается у диабетиков и людей с ожирением, не страдающих диабетом, по сравнению с контрольной группой без ожирения (Yang et al., 2006; Goyal et al., 2012). Уровень других воспалительных цитокинов, в частности TNF α , MCP-1, воспалительный белок макрофагов (MIP)-1 α , IL-1 и IL-8, также повышается при ожирении (Kim et al., 2006). При развитии системного воспаления, как правило, происходит развитие иммунного ответа, что сопровождается соответствующими молекулярными и клеточными изменениями в органах иммунной системы. Тимус и селезенка являются основным резервуаром для Т-лимфоцитов, которые могут регулировать врожденный иммунный ответ и обеспечивать защиту от патогенов и повреждения тканей. Окислительный стресс и воспаление, развивающиеся в том числе и при ожирении, могут в той или иной степени приводить к дисфункции этих органов (Ding et al., 2021). Было показано, что селезенка увеличивается в размерах у людей, страдающих ожирением (Benter et al., 2011). Также недавно была предположена связь между воспалительным процессом в селезенке и патологией печени, где увеличенный объем селезенки — стабильный показатель хронического воспаления и активации иммунной системы — коррелировал с прогрессированием жировой дистрофии печени (Tarantino et al., 2009a, b). Наконец, было обнаружено, что повышенные уровни провоспалительных цитокинов, выявленных в селезенке, в частности IL-6, прямо пропорциональны ИМТ и окружности талии (Engeli et al., 2003).

Учитывая имеющиеся данные, можно предположить, что эндогенные НАЭ, в том числе и ОЭА, взаимодействующие с рецептором PPAR- α , помогают поддерживать гомеостаз, предотвращая запуск системного воспаления. Можно предположить, что ОЭА, обладая многофакторным комплексным влиянием как на метаболические, так и на иммунные процессы, может представлять собой универсальную фармакологическую мишень для лечения алиментарных расстройств и сопутствующих им патологий углеводного и липидного обмена.

В данном исследовании показано, что пищевая добавка на основе ОЭА (ОЕА-DS) оказывает анорексическое действие на модели алиментарно-индуцированного ожирения у мышей, при этом ее действие сопровождается снижением системного воспаления.

ИССЛЕДОВАНИЕ РНКАЗНОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ГОЛОТУРИЙ *EUPENTACTA FRAUDATRIX* И *PARACAUDINA CHILENSIS*

Ивашченко В.А.^{1,2}, Соболева С.Е.², Невинский Г.А.^{1,2}

¹Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г. Новосибирск, v.ivashchenko1@g.nsu.ru

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, soboleva@niboch.nsc.ru

Изучение механизмов регенерации – одна из важнейших задач современной науки. Их понимание позволит решить проблему лечения многих заболеваний, в том числе онкологических и аутоиммунных. Показательной моделью могут послужить иглокожие, в том числе многие виды голотурий, которые способны восстанавливать недостающую часть тела при аутотомии или разрезании на две части. Многочисленные исследования посвящены процессам регенерации голотурий, однако ее механизм до сих пор понятен не до конца. Есть основания предполагать, что в нем принимают участие белки и их комплексы с различными ферментативными активностями, например, показано, что большую роль при регенерации играют протеазы пищеварительной системы голотурии *Eupentacta fraudatrix* (Lamash et al., 2013). К настоящему моменту очень мало данных о ферментативных активностях белков голотурий. Поэтому целью данной работы было изучение РНКазной активности белков и белковых комплексов голотурий *E. fraudatrix* и *Paracaudina chilensis* в зависимости от различных факторов.

В ходе данной работы был разработан метод выделения белковых комплексов из гомогенатов и целомической жидкости *P. chilensis*. Показано, что эти комплексы являются высокомолекулярными (2000 кДа) и очень прочными – разрушаются только при действии сильных детергентов. Для всех полученных комплексов, а также для комплекса из гомогената голотурии *E. fraudatrix*, полученного ранее, было проведено исследование РНК-гидролизующей активности. Показано, что белковые комплексы гидролизуют гомоолигорибонуклеотиды с хорошей эффективностью. Оптимум pH в реакции гидролиза был найден близким 5.5–6, что отличается от оптимальных значений pH известных рибонуклеаз (7.5–8). Каталитическая активность комплексов уменьшается в присутствии двухвалентных ионов Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , а при добавлении ЭДТА заметных изменений РНКазной активности не происходит. Это говорит о том, что в непосредственном

проявлении РНКазной активности белковых комплексов голотурий *E. fraudatrix* и *P. chilensis* ионы металлов не участвуют, однако металлы могут связываться с аминокислотными остатками вблизи или вне активного центра и менять его конформацию, что приводит к уменьшению РНКазной активности.

В данной работе впервые были получены высокомолекулярные белковые комплексы гомогената и целомической жидкости голотурии *P. chilensis* и показано наличие РНКазной активности комплексов голотурий *E. fraudatrix* и *P. chilensis*. Установлено, что РНКазная активность исследуемых белков достигает максимума при pH 5.5–6 и не нуждается в присутствии ионов металлов.

Работа поддержана Российским бюджетным проектом ИХБФМ СО РАН 0245-2021-0009 (121031300041-4).

МАКРОЭВОЛЮЦИОННЫЕ ТРАНСФОРМАЦИИ ПЛАНА СТРОЕНИЯ В ОНТОГЕНЕЗЕ И ФИЛОГЕНЕЗЕ BILATERIA

Исаева В.В.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, vv_isaeva@mail.ru

Как известно, осевой план строения организма всех Metazoa детерминируется молекулярными компонентами сигнальных путей и факторами транскрипции с функциями диффундирующих морфогенов-организаторов, пространственная анизотропия распределения которых транслируется в осевые фенотипические различия развивающегося организма. Становление осевой координатной системы и ее диверсификация у многоклеточных животных базируются на функционировании сигнальных каскадов Wnt, BMP, Nodal, Notch, Hedgehog. У Bilateria позиционная информация вдоль переднезадней оси раннего эмбриона специфицируется машинерией временной и пространственной экспрессии генов Нох-кластера, инициируемой сигнализацией Wnt, определяющей в координации с геном *Cdx/caudal* (ParaNox) векториальный рост тела зародыша (Deschamps, Duboule, 2017; DuBuc et al., 2018; Ferrier, 2019; Erwin, 2020). Постериорный рост тела за счет пула прогениторных клеток, локализованных в зоне роста (Hogvall et al., 2019; Zhong et al., 2020; Anlas, Trivedi, 2021) стал кардинальной эволюционной инновацией и прослеживается у большинства Bilateria, однако одноосевой рост организма не универсален. Консерватизм анцестральных молекулярных механизмов детерминации плана строения сочетается с их пластичностью, обеспечившей возможность радикальных макроэволюционных трансформаций осевого дизайна организма.

Столь важные открытия привели к существенному возрастанию значимости исследований плана строения тела (body plan, Bauplan) как общей морфофункциональной характеристики пространственной архитектоники Bilateria и всех Metazoa; организация плана строения становится центральной концепцией эволюционной биологии развития (Willmore, 2012; Holland, 2015; Ferrier, 2019; Erwin, 2020; Isaeva, Rozhnov, 2021, 2022). Осевая симметрия плана строения – одна из основных черт строения тела многоклеточных животных. Кроме радиальной, билатеральной и трансляционной симметрии, многим биологическим объектам свойственна фрактальная (масштабная)

симметрия (Mandelbrot, 1983; Stewart, 2007; Isaeva et al, 2008, 2012; Klingenberg, 2015; Minelli, 2015; Seilacher, Gishlick, 2015; Isaeva, Kasyanov, 2021). Фрактальная размерность дает количественную оценку степени заполнения пространства фрактальной структурой (Mandelbrot, 1983; Peitgen et al., 1992; Klingenberg, 2015; Isaeva, Kasyanov, 2021). Фрактальная трансформация поверхности тела многоклеточных животных увеличивает межповерхность раздела организм/окружающая среда, создавая функционально оптимизированный дизайн организма и обеспечивая его лучшую адаптацию.

Исследование эволюционных преобразований осевого паттерна строения Bilateria в широком сравнительном контексте свидетельствует о возможности репликации осей тела, выявляемой на основе сравнения с более простым, одноосевым билатеральным дизайном (Jacobs et al., 2005; Martin, Kimelman 2009; Minelli, 2015; Aguado et al., 2022; Isaeva, Rozhnov, 2022). При регрессивной эволюции представителей некоторых таксонов Bilateria происходила редукция роста, деградация зоны роста, редукция сегментации и осевого паттерна, тогда как в эволюции немногих таксонов произошло умножение зон роста (Jacobs et al., 2005; Martin, Kimelman 2009; Minelli, 2015; Isaeva, Rohznov, 2022). Наиболее радикальные эволюционные изменения с умножением зон и векторов роста обнаружены среди вторичноротых животных, у Echinodermata и Tetrapoda (Vertebrata). У современных Tetrapoda при сохранении основной анцестральной оси роста организма макроэволюционные преобразования привели к возникновению двух пар дополнительных зон роста – почек конечностей, рассматриваемых как неполные параморфные гомологи (репликаты) задней части анцестральной переднезадней оси тела, ставшие конечностями (Minelli, 2003, 2015; Jacobs et al., 2005). Гомология конечностей позвоночных основной оси тела убедительно подтверждается сходством машинерии экспрессии Нох генов при развитии основной оси тела и почки конечности (Deschamps, Duboule, 2017).

В эмбриогенезе современных Echinodermata анцестральная программа билатерального личиночного развития сменяется эволюционно и онтогенетически вторичной программой радиализации плана строения с пентамерным (как правило) умножением зон роста, что согласуется с палеонтологическими данными и представлением о лучах-амбулакрах иглокожих как модифицированных параморфных гомологах переднезадней оси тела предков современных Echinodermata. Полностью гомологична анцестральной переднезадней оси Urbilateria только первичная ось зародыша и личинки. Пентамерный план строения и роста ныне живущих иглокожих объясним репликацией несущей амбулакральную систему оси тела путем умножения и радиализированного расположения центров осевой организации с

соответствующим умножением зон роста, локализованных на концах лучей-амбулакров (Isaeva, Rozhnov, 2022). Орально-аборальная ось взрослых иглокожих – химерная система, интегрирующая морфофункциональную организацию двух разных осевых систем, двух модулей, различных по времени и месту их возникновения в морфопространстве зародыша и объединяемых в процессе метаморфоза – личиночного орально-аборального и более позднего пентамерного рострокаудального (цефалокаудального) с лучами-амбулакрами, передние “головные” части которых объединены, слиты в центральный диск тела.

У представителей почти всех классов современных иглокожих лучи-амбулакры способны к многократному ветвлению; исключение представляют морские звезды, у которых возможно умножение числа лучей путем интеркаляции дополнительных организационных центров. Морские лилии и многие виды офиур и голотурий обладают ветвящимися лучами-амбулакрами или амбулакральными щупальцами – по существу, дендроморфно разветвленным телом с множеством задних, “хвостовых” концов тела и соответствующим множеством ростовых зон. Фрактальное ветвление тела после приобретения амбулакральной системы предками ныне живущих Echinodermata многократно увеличило площадь пищесборной поверхности амбулакров, способствуя выживанию и возрастанию эволюционных возможностей иглокожих.

Ветвящаяся, фрактальная организация основной оси тела с множественными постериорными зонами роста, уникальная для современных билатерий, найдена, помимо иглокожих, лишь у трех видов эндосимбиотических полихет семейства Syllidae, обитающих в системе водных каналов губок. У этих полихет обнаружен необычный для билатеральных животных план строения – разветвленное, дендроморфное тело с одной головой и множеством задних, “хвостовых” частей (McIntosh, 1879; Glasby et al., 2012; Aguado et al., 2015, 2022). Детально изученная у одного из таких видов, *Ramisyllis multicaudata*, способность к ветвлению тела обусловлена множественностью зон роста, что позволяет ветвящимся червям достигать огромного по сравнению с другими сिलлидами размера (Aguado et al., 2022).

Бифуркации переднезадней оси ветвящегося тела иглокожих и полихет разрушают анцестральную билатеральную симметрию Bilateria (Glasby et al., 2012), являя пример крупного фенотипического перехода путем сальтационной эволюции (Aguado et al., 2015), другими словами – макроэволюционной трансформации плана строения билатеральных животных.

**ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ПОПОЛНЯЕМОСТЬ ЧЕРНОМОРСКОЙ
MYTILUS GALLOPROVINCIALIS КАК ПОКАЗАТЕЛЬ
ОБЕСПЕЧЕННОСТИ АКВАТОРИЙ МОРЯ ЛИЧИНКАМИ ВИДА
НА СТАДИИ ОСЕДАНИЯ**

Казанкова И.И.

*Институт природно-технических систем РФ, г. Севастополь,
ikazani@bk.ru*

Изучение обеспеченности акваторий Черного моря личинками *Mytilus galloprovincialis* и других *Bivalvia* важно для фундаментальных и прикладных исследований в области функционирования морских экосистем, а также для решения биотехнологических задач в области марикультуры.

Потенциальная пополняемость (ПП) черноморской мидии *M. galloprovincialis* (как и некоторых других *Bivalvia*) определяется числом появившихся на контрольных субстратах за время их экспозиции в пелагиали осевших личинок и образовавшихся из них в результате метаморфоза постличинок.

Контрольные субстраты в проведенном в 2008–2021 гг. у южных и юго-западных берегов Крыма мониторинге ПП *M. galloprovincialis* были представлены ворсистыми акриловыми нитями, расположенными в один слой на цилиндрическом пластиковом каркасе и образующими полосу длиной 18–20 см и шириной 2–3 см. Ворсистые структуры субстрата имитируют нитчатые водоросли и являются привлекательными как для крупных личинок на стадии оседания (педивелигеров), способных прикрепляться на любом субстрате, в том числе с гладкой поверхностью, так и для более мелких педивелигеров длиной до 250 мкм.

Осевшие на субстрат личинки мидии – это особи, находящиеся на субстрате в течение 1–2 сут, их максимальная длина может составить 400 мкм. Особи, находящиеся на субстрате более двух суток, переходят в разряд постличинок, так как успевают за это время метаморфизировать. Их максимальная длина при длительности экспозиции субстратов от одного до двух месяцев достигает 700–2700 мкм. Так как ПП мидии в определенной степени зависит от концентрации в воде ее педивелигеров, то этот параметр может являться интегральным показателем обеспеченности исследуемых акваторий педивелигерами в течение известного периода времени.

В толще воды по глубине педивелигеры мидии в Черном море распределены неравномерно. В частности, в шельфовой зоне юго-западного Крыма отмечена их относительно повышенная концентрация

в подповерхностных (10–25 м) и глубинных (25–50–75 м) слоях. Изменение ПП *M. galloprovincialis* по глубине соответствует этой тенденции.

Показано, что у берегов юго-западного Крыма годовой пик среднемесячной концентрации педивелигеров мидии может наблюдаться в различные месяцы в период с октября по июнь. Наибольшая вероятность прохождения этих пиков характерна для апреля–мая и в период с конца октября по начало декабря. Мониторинг ПП *M. galloprovincialis* также подтверждает данные результаты. Межгодовая изменчивость концентрации педивелигеров мидии в прибрежных водах южного и юго-западного Крыма весьма значительна. Их появление в массовом количестве носит спорадический характер и наблюдается не каждый год. Эта особенность также подтверждается результатами многолетнего мониторинга ПП *M. galloprovincialis* в регионе.

Таким образом, основные закономерности и особенности пространственно-временной изменчивости численности педивелигеров и ПП мидии *M. galloprovincialis* в прибрежных акваториях Крыма в целом совпадают. Поэтому ПП *M. galloprovincialis* можно считать показателем обеспеченности акваторий Черного моря личиками моллюска на стадии оседания в экологическом мониторинге прибрежных вод и при хозяйственной деятельности человека в области марикультуры мидии – при определении сроков выставления субстратов для сбора спата и учете риска его недополучения в связи с межгодовой и межсезонной изменчивостью численности оседающих личинок мидии. В то же время существует необходимость исследования выживаемости и миграции постличинок мидии на контрольных субстратах в течение их экспозиции в море, так как эти процессы могут влиять на величину потенциальной пополняемости *M. galloprovincialis*.

РОЛЬ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В ПРОЯВЛЕНИИ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ У ЛИЧИНОК МОРСКИХ ЕЖЕЙ

Калачев А.В., Танкович А.Е., Юрченко О.В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, akalachev@imb.dvo.ru*

Экспериментальное исследование двух видов морских ежей (*Mesocentrotus nudus* и *Strongylocentrotus intermedius*), близких филогенетически, имеющих сходные ареалы и различающихся размером яиц (110 мкм у *M. nudus* и 90 мкм у *S. intermedius*), показало, что через 96 ч после оплодотворения у личинок обоих видов, развивавшихся при высокой концентрации микроводорослей (8000 клеток/мл), посторальные руки были короче, чем у таковых, развивавшихся при полном отсутствии микроводорослей. При этом, относительное изменение длины посторальных рук между контрольной и экспериментальной группами у *S. intermedius* было приблизительно в 1.5 раза больше, чем у *M. nudus*. Эти результаты хорошо согласуются с предположением, что фенотипическая пластичность более выражена у личинок морских ежей, развивающихся из небольших яиц, т.е. у видов с меньшим материнским вкладом в потомство.

Дальнейшие экспериментальные исследования показали важную роль дофаминергической нервной системы личинок в регуляции роста посторальных рук. В ходе первой серии экспериментов оценивали долговременное влияние различных концентраций дофамина (0.5, 1 и 1.5 микромоляр) на рост посторальных рук у личинок *M. nudus* и *S. intermedius*, начиная с 24 ч после оплодотворения. Инкубация в дофамине на протяжении суток вызывала у 96 ч личинок обоих видов укорочение посторальных рук. Эффект дофамина зависел от его концентрации – чем больше концентрация, тем короче посторальные руки. Изменение длины посторальных рук составило от 2.3 до 8% у личинок *M. nudus* и от 4.5 до 14.7% у личинок *S. intermedius*.

В ходе второй серии экспериментов, проведённых на личинках *S. intermedius*, оценивали влияние кратковременного (4 ч) воздействия дофамина на эмбрионы (ранняя или средняя гастрולה), у которых дофаминергические нейроны ещё отсутствуют (24 ч после оплодотворения), и ранних плутеусов (48 ч после оплодотворения), уже имеющих дофаминергические нейроны. Кратковременное воздействие дофамина на 24 ч эмбрионов и 48 ч личинок приводило к развитию плутеусов с более короткими, по сравнению с контрольной группой,

посторальными руками. При этом, 96 ч личинки, подвергшиеся воздействию дофамина на стадии раннего плутеуса (48 ч после оплодотворения), имели более короткие посторальные руки, чем 96 ч личинки, подвергшиеся воздействию этой же концентрации дофамина на стадии гастрюлы (24 ч после оплодотворения). Эта разница, вероятно, связана с наличием дофаминергических нейронов у 48 ч личинок и их ролью в регуляции роста посторальных рук личинок. Инактивация дофаминергических нейронов с помощью 6-гидроксидофамина предотвращала укорочение посторальных рук у личинок, подвергшихся воздействию дофамина на стадии раннего плутеуса. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о роли дофаминергической нервной системы в развитии фенотипа, сходного с таковым у личинок, чьё раннее развитие проходило при разных концентрациях микроводорослей.

**РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ В МЯГКИХ ТКАНЯХ
КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В ЧЁРНОМ МОРЕ УСТРИЦЫ *MAGALLANA
GIGAS* (THUNBERG, 1793)**

Рябушко В.И., Капранов С.В., Тоичкин А.М., Бобко Н.И.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г.

Севастополь, sergey.v.kapranov@yandex.ru

Группа редкоземельных элементов (РЗЭ) состоит из 17 элементов: скандий, иттрий и лантаноиды (лантан, церий, празеодим, неодим, прометий, самарий, европий, гадолиний, тербий, диспрозий, гольмий, эрбий, тулий, иттербий, лютеций). РЗЭ широко распространены в среде, за исключением радиоактивного прометия (Brown et al., 1990). Содержание РЗЭ в земной коре в среднем составляет около 0.015%.

Благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам, РЗЭ незаменимы для ряда важнейших технологий в современной промышленности (Brown et al., 1990; Du et al., 2011; Sinharoy, Lens, 2022). По мере увеличения использования РЗЭ, неминуемо растет их выброс в биосферу (Loell et al., 2011; Das, Das, 2013). РЗЭ могут вызывать как положительные, так и отрицательные физиологические реакции в организмах, биохимические механизмы которых на сегодняшний день изучены слабо. Хотя РЗЭ не являются биологически необходимыми, их используют как пищевую добавку для домашнего скота, птицы и культивируемой рыбы (Goeske et al., 2015), они предложены в качестве стимуляторов роста домашних животных (He, Rambeck, 2000; Xun et al., 2014). Однако избыточные количества РЗЭ токсичны для человека, поэтому важно иметь оценки их содержания в продуктах питания. Особенно это касается морепродуктов, таких как морские моллюски, которые могут накапливать тяжелые металлы в концентрациях на несколько порядков выше, чем в окружающей среде.

В настоящей работе впервые изучали содержание РЗЭ в мягких тканях диплоидных и триплоидных устриц *Magallana (=Crassostrea) gigas*, культивируемых в Чёрном море на юго-западном побережье Крыма. Устриц выращивали в пластиковых садках на морской ферме. К моменту отбора проб они достигли возраста 4 лет. Пробы готовили в двадцати повторностях из разных экземпляров устриц. Для этого раковины вскрывали, мягкие ткани извлекали, промокали фильтровальной бумагой и сушили при 105°C до постоянной массы. Минерализацию проб проводили во фторопластовых пробирках с помощью азотной кислоты. Анализ РЗЭ осуществляли методом масс-

спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе PlasmaQuant[®] MS Elite (Германия) с использованием многоэлементных стандартов IV-ICPMS-71A, D (США). Качество анализов контролировали с помощью количественного определения микроэлементного состава в сертифицированном эталонном материале ERM[®]-CE278k (ткань мидии *Mytilus edulis*).

Результаты анализа РЗЭ в диплоидных и триплоидных устрицах представлены в таблице 1. Наибольшее содержание РЗЭ в обеих группах зафиксировано для скандия. Четыре РЗЭ с наибольшим содержанием располагались в следующем порядке убывания концентраций: Sc > Ce > La > Y (диплоид) и Sc > La > Ce > Y (триплоид). Общее содержание РЗЭ в диплоидных устрицах выше, чем в триплоидных.

Таблица 1. Концентрации РЗЭ (мкг·кг⁻¹ сух.) в диплоидных (2n) и триплоидных (3n) устрицах *Magallana gigas*: среднее арифметическое±СКО

| | Sc | Y | La | Ce | Pr | Nd | Sm | Eu | Gd | Tb | Dy | Ho | Er | Tm | Yb | Lu |
|----|---------|--------|---------|---------|-------|--------|-------|----------|-------|---------|-------|---------|----------|---------|----------|---------|
| 2n | 638±167 | 197±95 | 251±145 | 300±210 | 38±25 | 147±99 | 38±26 | 13.0±5.6 | 38±25 | 7.0±4.2 | 30±17 | 6.7±3.7 | 21±10 | 3.2±2.8 | 17.6±8.0 | 3.4±2.7 |
| 3n | 364±95 | 89±49 | 214±79 | 160±108 | 20±14 | 77±53 | 18±12 | 6.8±4.3 | 19±13 | 4.7±3.8 | 15±10 | 4.0±3.9 | 10.5±6.6 | 2.3±3.8 | 9.2±5.3 | 2.6±3.7 |

На рисунке 1 представлены боксплоты содержания РЗЭ в обеих группах устриц и указаны значимые парные отличия, которые наблюдали для Sc, Y, Sm, Eu, Gd, Dy, Ho, Er, Yb. Также можно отметить типичную картину проявления правила Оддо-Харкинса (Neira et al., 2022), согласно которому элементы с четными атомными номерами более распространены, чем их соседи с нечетными. Тот факт, что значимые отличия зафиксированы в основном для более тяжелых РЗЭ, соли которых лучше растворимы, а комплексы – более устойчивы, позволяет предположить, что отличия связаны с их концентрированием в жидкой фазе в мягких тканях. В диплоидных устрицах содержание нелетучих органических веществ, таких как эфиры фосфорной кислоты, свободные аминокислоты и янтарная кислота, выше, чем в триплоидах (Lin et al., 2002; Vi et al., 2023). Эти вещества могут выступать в роли лигандов, образуя растворимые комплексы с РЗЭ и повышая их содержание в жидкой фазе.

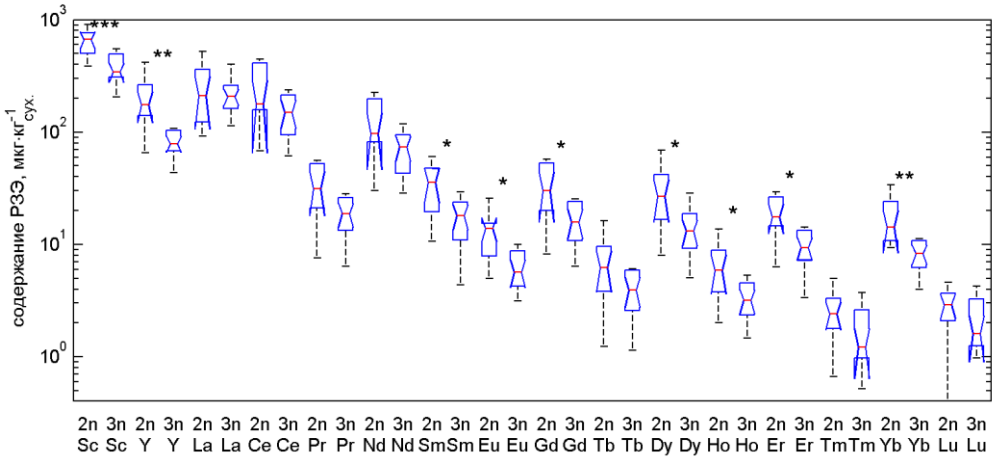


Рис. 1. Боксплоты концентраций РЗЭ в тканях диплоидов (2n) и триплоидов (3n) *Magallana gigas*. Значимость отличий согласно критерию Манна-Уитни: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

В устрицах с тихоокеанского побережья Северной Америки в накоплении тяжелых металлов не обнаружено значимых отличий между диплоидами и триплоидами (Sevilla et al., 2017), что не согласуется с результатами настоящей работы. Однако следует отметить, что общее содержание микроэлементов в районе морской фермы в Чёрном море значительно выше (Karapınar et al., 2021). Это позволяет предположить, что существует некоторый пороговый уровень содержания микроэлементов, выше которого элементные различия между диплоидами и триплоидами становятся значимыми. Вероятно, это связано со стимулированием развития в диплоидах дополнительных центров секвестрирования тяжелых металлов, таких как молекулы металлотионеинов, для защиты от повреждения токсичными элементами репродуктивной системы устриц.

Остается открытым вопрос о рисках для здоровья человека потребление РЗЭ с мясом устриц. В настоящее время практически не определены степень, порог токсичности и предельно допустимые концентрации РЗЭ, а пределы безопасных доз в нормативных документах Агентства по охране окружающей среды США (USEPA, 2022) и в оценках китайских исследователей (Zhao et al., 2022) разнятся на три порядка (0.05 для La против $70 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$ для суммы РЗЭ).

Работа выполнена по гранту РФФИ № 23-24-00494 “Исследование редкоземельных элементов в гидробионтах экосистемы Чёрного моря”.

АНТИОБРАСТАТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА РАКОВИН МОЛЛЮСКОВ

Карпенко А.А., Одинцов В.С., Карпенко М.А.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, ivanov@mail.ru*

Биообрастание в морской аквакультуре является одним из основных препятствий для эффективного и устойчивого производства. Изучаются и разрабатываются методы защиты от обрастания; они сосредоточены на использовании естественных противообрастательных свойств, культивировании устойчивых к обрастанию генотипов и улучшении стратегии ведения морского хозяйства.

В настоящей работе исследован возможный противообрастательный эффект полиенов у морских брюхоногих моллюсков – *Littorina brevicula* и *L. mandchurica*, а также двустворчатых моллюсков – *Mytilus trossulus* и *Crenomytilus grayanus*, как организмов, широко распространенных в прибрежных водах. Показано, что раковины *Littorina* и *M. trossulus*, которые в природе редко обрастают, содержат полиены. В редких случаях обрастания раковины баланусами полиены в местах их крепления на раковинах отсутствуют. В раковинах *C. grayanus*, часто склонных к обрастанию, полиены не обнаружены. Эти результаты являются первым доказательством существования соединений, связанных с поверхностью, которые могут сдерживать колонизацию организмами-обрастателями раковин моллюсков. Основываясь на этих результатах, возможно создание биомиметических материалов, которые могут стать экологически чистыми противообрастательными средствами.

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ НЕМАТОФАУНЫ ПЕСЧАНЫХ ГРУНТОВ ЯПОНСКОГО МОРЯ

Карнова А.А.^{1,2}, Фадеева Н.П.¹

¹Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

²«Приморский океанариум» – филиал ННЦМБ ДВО РАН,

г. Владивосток, nabokina_aa@dvfu.ru, fadееva.np@dvfu.ru

Постоянно меняющиеся условия пляжной среды обуславливают ее живописную и эстетическую привлекательность, а относительная простота экосистем обеспечивает идеальную модель для научных исследований. В связи с возросшим в последние годы рекреационным прессом они испытывают серьезное антропогенное воздействие. Однако исследования экологии песчаных пляжей традиционно отстают от изучения других прибрежных экосистем. Видовой состав песчаных мелководий Японского моря отличается удивительным разнообразием, несмотря на слабую представленность макроформ животных и растений.

Изучение таксономического состава и распределения интерстициальной фауны в различных по условиям районах мелководной зоны материкового побережья российской части Японского моря необходимы для оценки биоразнообразия, состояния и прогнозирования изменений экосистем морских песчаных грунтов в целом. В связи с активным гидродинамическим режимом данного биотопа инфауна в нем развита в большей степени, а сформированная система интерстициальных ходов является средой обитания мейофауны.

Материалами для работы послужили пробы песчаных грунтов, собранные в 2021 и 2022 гг. в летний период в рамках комплексных исследований сообществ песчаных пляжей Японского моря. Для исследования были выбраны акватории с условиями, обеспечивающими существование интерстициальной фауны: бухты Рейд Паллада (Коса Назимова) и Бойсмана, расположенные в Хасанском районе, бухта Безымянная, канал (Русский остров), бухты Средняя (Прибойная) и Восток (пляж Волчанец), расположенные в заливе Восток в Находкинском городском округе, а также бухты Триозерье и Малая Окуневая, расположенные на северо-востоке Партизанского района.

На япономорских песчаных пляжах максимум разнообразия среди мейобентосных животных наблюдается у свободноживущих нематод – до 70 видов. По собственным и литературным данным составлен список видов свободноживущих нематод, обитающих на глубине до 1 м в зоне песчаных грунтов.

В исследуемых бухтах обнаружены следующие таксоны нематод: *Neochromadora*, *Daptonema*, *Онх*, *Enoplolaimus*, *Oncholaimus*, *Metadesmolaimus*, *Bolbolaimus*, *Odontophora*, *Desmoscolaimus*, *Bathylaimus*, *Enoploides*, *Monhysterida*, *Monhystera*, *Paramonhystera*, *Microlaimus*, *Metachromadora*, *Pseudosteria*, *Rynchonema*, *Cyantholaimus*, *Leptolaimus*, *Axonolaimus*, *Lauratonema*, *Gairleanema* и *Ascolaimus*.

Ряд видов родов *Bolbolaimus*, *Rhynchonema*, *Metadesmolaimus* и *Gairleanema* являются новыми для науки.

ВЛИЯНИЕ РАДИАЦИИ НА МОРФОЛОГИЮ МОРСКИХ ЖИВОТНЫХ

Касаткина А.П.¹, Столярова М.В.², Сергеев А.Ф.¹

*¹Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева, ДВО
РАН, г. Владивосток*

*²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский
университет Минздрава России, г. Санкт-Петербург,
mvstolyarova@yandex.ru*

Источники радиоактивности играют большую роль в современной цивилизации. Однако существует опасность передозировки радиации – она губительно сказывается на здоровье и жизнедеятельности всех живых организмов, в том числе человека. Все ее источники на планете можно разделить на естественные (космическое излучение, газы, радиоизотопы) и искусственные (причиной появления которых стал человек). К основным техногенным радиоактивным источникам относят ядерное оружие, промышленные отходы, АЭС. Взрывы на АЭС, использование ядерного оружия оказывают влияние на водную среду. Общий объем утечки радиоактивной воды с аварийной АЭС “Фукусима” в Тихий океан составил 30 триллионов беккерелей. Предположение о возможности захоронения ядерных отходов в контейнерах на дно морей и океанов оказалось ошибочным – разрушился ядерный саркофаг США в Тихом океане. Возникла необходимость отслеживать и картировать районы, заражённые радиацией, для запрещения отлова там рыбы и других морских организмов.

Изучение морфологических отклонений на анатомическом уровне у морских щетинкочелюстных Chaetognatha (Щ), полученных из эпицентра радиоактивного пятна в зоне аварии в бухте Чажма, показало, что наиболее часто встречающееся аномальное отклонение морских стрелок – повреждение плавниковой пластинки. В норме плавниковая пластинка имеет ровный край, у аномальных животных происходит разрушение плавниковой пластинки по краям, между лучей. Лучи остаются неповрежденными и чаще всего выступают (торчат) за пределами плавниковых пластинок. Также характерно повреждение альвеолярной ткани. Поверхность альвеолярной ткани становится неровной, что хорошо заметно даже под лупой. Предположительно происходит утрата части клеток альвеолярной ткани. При визуальном наблюдении отмечены изменения кишечника, они выглядят как локальные разрушения части стенки, а иногда наблюдается полное исчезновение участка кишки.

Исследование аномальных животных на гистологических срезах выявляет изменения в кожном и кишечном эпителиях. Изменения у аномальных экземпляров особенно заметны на участках, где эпителий утолщен и образует “альвеолярную ткань”. На многих участках этой ткани происходит отделение клеток и их групп от общего пласта, очевидно, за счет разрушения межклеточных контактов. В результате этого ровная поверхность эпителия нарушается. Хроматин клеточных ядер значительно уплотнен. Базальная мембрана кожного эпителия собирается в складки, появляются места отрыва от нее мышц. Кишечник у аномальных животных не только утрачивает центральное положение по оси тела, но и претерпевает уменьшение объема и деформацию. В сохранившейся части кишечника видны резкие изменения по сравнению с нормальным строением. На поперечном разрезе он может выглядеть как неправильной формы конгломерат клеток или как уплощенный пузырек. Клетки кишечного эпителия значительно уменьшены в объеме, границы клеток и просвет кишки плохо определяются или не видны. Клетки кишечного эпителия, которые в норме имеют крупные размеры и светлую цитоплазму, подвергаются сжатию и уплотнению. Другие отмеченные нарушения – деформация с нарушением симметрии тела, отделение брюшного ганглия.

Для проверки предположения о специфичности наблюдаемых изменений проведен эксперимент в лабораторных условиях с воздействием на живых особей Щ радиоактивного грунта, привезенного из бухты Чажма. Также в условиях лаборатории проведено сравнение жизнеспособности здоровых и аномальных Щ. Для этого из экологически чистого района акватории Амурского залива по сумме 20 ловов была сформирована аликвотная проба планктона по методике, приведенной в работе Касаткиной с соавторами (1991), содержащая Щ разных видов (в частности, *Parasagitta elegans*, *P. liturata*, *Sagitta kussakini*, *Leptosagitta collariata*), обитающих в данной конкретной акватории. Из аликвотной пробы отбирали (вручную с помощью пипетки из чашки Коха) по 50 особей для эксперимента и для контроля. В эксперименте 50 особей из экологически чистого региона помещали вместе с экологически чистой морской водой в аквариум с радиоактивным грунтом; для контроля использовали 50 особей Щ, помещённых в аквариум с экологически чистой морской водой и с чистым грунтом. Продолжительность эксперимента составляла три недели.

В течение всего времени эксперимента ежедневно проводили визуальное наблюдение за поведением и морфологией контрольных и опытных Щ. Через 7 сут после начала эксперимента проводили фиксацию 4% формалином отдельных особей (по 2–3 экземпляра) как контрольных, так и подвергнутых радиационному воздействию. У

фиксированных Щ, контрольных и опытных, проводили визуальное обследование с помощью ручной полевой лупы с увеличением в 4–6 раз и микроскопа (средние размеры анализируемых особей составляли 15–20 мм). Исследовали морфологические изменения Щ, подвергавшихся радиационному воздействию. Через три недели остальных животных извлекали из аквариума и фиксировали 4% формалином. Проводили сравнение жизнеспособности контрольных и опытных Щ.

Результаты эксперимента по радиационному воздействию показывают, что реакция здоровых животных на радиоактивный грунт была моментальной – происходило резкое уменьшение толщины альвеолярной ткани, и животные, которые находились у поверхности, падали на грунт. Несмотря на явные повреждения альвеолярной ткани, животные не погибали, продолжали двигаться и поддерживали своё существование в течение того же срока, что и животные, жившие в контрольном аквариуме. Через две недели после начала воздействия мы находили особей с утраченным хитиновым аппаратом (щетинки, зубчики). В контроле ни одна особь Chaetognatha не имела тех повреждений, которые мы наблюдали в пробах из б. Чажма.

Морфологическое обследование животных в контроле показало: в норме щетинкочелюстные обладают целостностью тела; тургор тела выражен (не обвисают на пинцете); альвеолярная ткань образует ровный пласт; плавники целостные; глаза расположены симметрично; мышечная ткань, как правило, обладает ригидностью. Результаты наблюдений свидетельствовали также о том, что применяемый фиксатор (4% формалин) не влияет на морфологическую картину. У животных, перенесших моделированное радиационное воздействие, были выявлены те же повреждения, которые были зафиксированы у Щ из бухты Чажма. Выживаемость в аквариуме аномальных особей была такой же, как и у нормальных животных.

Проведенные исследования позволяют сделать заключение о специфическом характере морфологических изменений Щ при радиационном воздействии. Эта особенность, а также высокая жизнеспособность Щ позволяют рассматривать их в качестве удобных и надежных биоиндикаторов радиоактивной зараженности акваторий.

**НОВЫЕ ДАННЫЕ ОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ ДИАТОМОВЫХ
ВОДОРОСЛЕЙ ПОРЯДКА THALASSIOSIRALES
(BACILLARIOPHYTA) ИЗ ВОД ЯПОНСКОГО МОРЯ ПРИ
ПОМОЩИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ**

***Качур Д.И.¹, Туранов С.В.^{1,3}, Шевченко О.Г.^{1,2,3}, Пономарева А.А.¹,
Шульгина М.А.^{1,2}***

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток

²«Приморский океанариум» – филиал ННЦМБ ДВО РАН, г. Владивосток

³Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный
университет, г. Владивосток

Диатомовые водоросли порядка Thalassiosirales (Bacillariophyta) являются наиболее массовыми среди микроводорослей данной группы в умеренной зоне Мирового океана. В теплое время года они составляют основную биомассу фитопланктона и способны вызывать “цветение” прибрежных вод. В Японском море, как и в других морях России, отмечено присутствие всех не вымерших семейств этого порядка, но чаще всего встречаются род *Skeletonema* и род *Thalassiosira*. Большинство данных об их наличии в Японском море, их строении и особенностях их изменчивости публикуются, в основном, зарубежными биологами. Данное сообщение представляет новые данные о видовом составе порядка Thalassiosirales, его генетической изменчивости и связи с морфологическими особенностями водорослей в морях Дальнего Востока России.

В настоящем исследовании описывается продолжение работы по идентификации при помощи молекулярно-генетических методов видов двух родов: *Skeletonema* и *Thalassiosira*. В работе были использованы клоновые культуры данных родов, отобранные из планктонных и бентосных проб с 2009 по 2020 г. на побережье Дальнего Востока России. Филогенетический анализ проходил на основе последовательностей 18S рДНК и 28S рДНК. Для сбора матрицы нуклеотидных последовательностей и построения филогенетических деревьев были привлечены образцы *Skeletonema* и *Thalassiosira* из генного банка. Обновленные матрицы нуклеотидных последовательностей легли в основу референсной базы данных, разрабатываемой для вод Японского моря.

Также впервые было проведено генотипирование одного вида *Thalassiosira* по участкам 18S и 28S рДНК и определено его положение в структуре рода. Рассматриваемый вид имел высокие значения

дивергенции и отличался от других видов *Thalassiosira* по обоим маркерам. Мы можем предположить, что вид является новым для российской части Японского моря, опираясь на полученные данные филогенетического и морфологического анализа.

Среди видов *Skeletonema* при помощи генотипирования по участкам 18S и 28S рДНК были исследованы виды *Skeletonema menzelii*. Данные виды также имели высокие значения дивергенции, на филогенетических деревьях они формировали кластеры, отдельные от кластеров других видов *S. menzelii*, привлеченных из генного банка. Отличия между ними были отмечены и по генетическим расстояниям (> 0.008 по маркеру 18S и > 0.013 по маркеру 28S). По полученным данным филогенетического анализа можно подтвердить отличие наших образцов от других представителей вида, описанных в литературных данных.

ВИДОВОЙ СОСТАВ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РАВНОНОГИХ РАКОВ НА ЛИТОРАЛИ ЗАЛИВА ВОСТОК

Кепель А.А.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, aa_kepel@mail.ru*

Настоящая работа основана на материалах, собранных на литорали зал. Восток в 2021 и 2022 гг. На западном и северном побережье залива (от мыса Пущина до мыса Красный) было выполнено 18 гидробиологических разрезов на участках, различающихся по характеру грунта, степени прибойности и солёности. На семи разрезах проводили повторные сборы в разные сезоны. На трёх разрезах, проведённых на песчаных пляжах, подверженных прибою, макробентоса обнаружено не было.

В собранном материале было найдено 16 видов равноногих раков, относящихся к 10 родам из 5 семейств и 5 подотрядов:

- Отряд Isopoda
 - Подотряд Asellota
 - Семейство Janiridae G. O. Sars, 1897
 - Ianiropsis derjugini* Gurjanova, 1933*
 - Ianiropsis serricaudis* Gurjanova, 1936*
 - Подотряд Cymothoidea
 - Семейство Paranthuridae Menzies & Glynn, 1968
 - Paranthura japonica* Richardson, 1909
 - Подотряд Oniscidea
 - Семейство Alloniscidae Schmidt, 2003
 - Alloniscus* sp.*
 - Подотряд Sphaeromatidea
 - Семейство Sphaeromatidae Latreille, 1825
 - Cliamenella fraudatrix* (Kussakin, 1962)
 - Dynoides brevicornis* Kussakin & Malyutina, 1987*
 - Dynoides dentisinus* Shen, 1929*
 - Gnorimosphaeroma hoestlandti* Kim & Kwon, 1985*
 - Gnorimosphaeroma noblei* Menzies, 1954
 - Gnorimosphaeroma ovatum* (Gurjanova, 1933)
 - Gnorimosphaeroma rayi* Hoestlandt, 1969*
 - Holotelson tuberculatus* Richardson, 1909
 - Subordo Valvifera
 - Семейство Idoteidae Samouelle, 1819
 - Idotea gurjanovae* Kussakin, 1974*
 - Idotea ochotensis* Brandt, 1851
 - Pentias arimotoi* Rafi, 1973*
 - Pentidotea rotundata* Richardson, 1909

Из них 9 видов впервые указаны для зал. Восток (обозначены звездочкой).

В фауне изопод литорали зал. Восток представлены западно-тихоокеанские (81.2%) и тихоокеанские (18.8%) виды. При этом преобладают относительно тепловодные виды – низкобореальные и субтропическо-низкобореальные (по 37.5% каждый). Доля относительно холодноводных (бореальных и широкобореальных) видов невелика – 18.8%. Субтропические виды составляют только 6.2%.

Общая встречаемость Isopoda на литорали зал. Восток составила 39.95%. Чаще всего встречались *D. dentisinus* (25.13%), *C. fraudatrix* (18.09%) и *G. noblei* (17.59%). Самыми редкими были *Alloniscus* sp., *D. brevicornis*, *I. derjugini* и *I. serricaudis* (встречаемость каждого вида 0.25%).

Обитают изоподы преимущественно на твёрдых грунтах (скалы, камни). 7 видов встречались только на скалистых мысах, подверженных воздействию прибоя – *Alloniscus* sp., *D. brevicornis*, *G. hoestlandti*, *I. ochotensis*, *I. serricaudis*, *P. arimotoi* и *P. rotundata*. *I. derjugini* был обнаружен только на каменистом грунте. Остальные виды встречались как на скалистом, так и на каменистом грунтах с различной степенью прибойности. На заиленном песке в зарослях зостеры вблизи устья р. Волчанки был обнаружен только один вид – *G. ovatum*.

Четыре вида (*C. fraudatrix*, *D. dentisinus*, *G. noblei* и *G. rayi*) встречались во всех горизонтах литорали, также четыре вида (*G. hoestlandti*, *G. ovatum*, *I. ochotensis* и *P. japonica*) были встречены в среднем и нижнем горизонтах. Только в нижнем горизонте встречались пять видов – *D. brevicornis*, *H. tuberculatus*, *I. gurjanovae*, *P. arimotoi* и *P. rotundata*. Только в среднем горизонте встречены *I. derjugini* и *I. serricaudis*, и только в верхнем – супралиторальный вид *Alloniscus* sp.

В целом, видовой состав и распределение равноногих раков на литорали зал. Восток имеют схожий характер во всем зал. Петра Великого. Однако значительное количество впервые отмеченных для залива Восток видов свидетельствует о слабой изученности фауны изопод данной акватории.

**ВЛИЯНИЕ КРАТКОСРОЧНОГО ИЗМЕНЕНИЯ СОЛЕННОСТИ НА
ИММУННЫЕ, АНТИОКСИДАНТНЫЕ И
ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ
СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ МИДИИ *MYTILUS
GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819)**

***Кладченко Е.С., Гостюхина О.Л., Сигачева Т.Б., Гаврюсева Т.В.,
Челебиева Э.С., Подольская М.С., Ткачук А.А., Кухарева Т.А., Рычкова
В.Н., Андреева А.Ю.***

*Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, г.
Севастополь, kladchenko_ekaterina@bk.ru*

Согласно данным Глобального альянса по аквакультуре, к 2030 г. 62% морепродуктов должно добываться путем выращивания в культуре. Вместе с тем глобальные изменения климата затрудняют процесс увеличения объемов культивирования, поскольку стрессовые абиотические факторы (дефицит кислорода, ацидификация, изменение солености) неблагоприятно влияют на функциональное состояние гидробионтов. Оценка перспектив расширения аквакультуры в контексте глобального потепления нуждается в фундаментальной базе, позволяющей выделить наиболее адаптивные объекты выращивания. Настоящая работа посвящена изучению механизмов влияния краткосрочного снижения солености на иммунные показатели гемоцитов, а также на антиоксидантный статус средиземноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) – объекта регионального культивирования в Азово-Черноморском регионе.

Мидий размещали в пластиковых аквариумах емкостью 50–70 л, оборудованных системой аэрации и фильтрации воды (концентрация кислорода 7–8 мг л⁻¹, рН 8.2, температура 18–20°C) на период адаптации к лабораторным условиям не менее 1 недели. По окончании адаптационного периода мидии были случайным образом распределены на группы по 50 экземпляров: контроль (18‰) и экспериментальные группы (6, 10 и 14‰). Снижение солености в экспериментальных аквариумах достигалось путем постепенного разбавления воды в аквариумах дистиллированной водой со скоростью 2‰ в сутки. По достижении желаемого уровня (6‰, 10 ‰, 14 ‰) мидий содержали в данных условиях в течение 2 сут, а затем производили сбор проб и анализ показателей.

Эффективность клеточного иммунного ответа гемоцитов мидии в условиях моделирования снижения солености определяли по двум маркерным параметрам – способности к спонтанной продукции

активных форм кислорода (АФК) и фагоцитозу. В гемоцитах мидий всех опытных групп отмечали достоверное увеличение спонтанной продукции АФК ($p < 0.05$). Наибольший рост продукции АФК отмечали при экспериментальном снижении солености до 6‰ ($p < 0.05$). Для анализа эффективности фагоцитоза в гемолимфе мидий в условиях колебаний солености внешней среды проводили количественную оценку двух показателей: фагоцитарный индекс и фагоцитарная активность. Моделирование условий распреснения воды было ассоциировано с достоверным снижением фагоцитарной активности агранулоцитов мидий всех опытных групп ($p < 0.05$). У гранулоцитов мидий, находившихся в солености 14‰, фагоцитарная активность была в 2 раза выше показателей контроля ($p < 0.05$), однако, снижалась у моллюсков, находящихся в наиболее пресной воде (6‰) ($p < 0.05$). Результаты работы свидетельствуют, что снижение солености угнетало фагоцитоз агранулоцитов, тогда как гранулоциты проявляли большую устойчивость к данному фактору.

Для классификации степени повреждения ДНК в гемоцитах мидий использовали процентное содержание ДНК в хвосте комет в условиях гипо- и гиперосмотического стресса. В привычной для средиземноморских мидий солености (18‰) в гемоцитах (>95% клеток) отмечена минимальная и низкая степень повреждения ДНК (содержание ДНК в хвосте комет составило $2.6 \pm 0.8\%$). Процентная доля ДНК в хвосте комет составляла от 9% у моллюсков, находящихся при солености 14‰, до 17% у мидий, испытывающих воздействие солености 10 и 6‰ ($p < 0.05$).

Для определения степени окислительной нагрузки, испытываемой *M. galloprovincialis* в условиях соленостного стресса, был проведен анализ показателей прооксидантно-антиоксидантной системы в жабрах. В условиях экспериментальных колебаний солености оценивали содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) и окисленных форм белков (ОМБ), а также измеряли активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ). Согласно результатам эксперимента, в жабрах мидий всех опытных групп содержание ТБК-АП не отличалось от показателей контрольной группы. Достоверное (в 2 раза) увеличение содержания продуктов нейтрального характера и основных альдегидопроизводных белков отмечено в жабрах мидий, подвергавшихся воздействию солености 6‰ ($p \leq 0.01$). При экспериментальном снижении солености активность КАТ сохранялась на уровне контроля. СОД проявляла большую чувствительность к колебаниям солености среды, по сравнению с КАТ. При экспериментальном снижении солености активность СОД в жабрах

мидий снижалась относительно контроля: при 6 и 10‰ в 2.4 ($p \leq 0.01$) и 1.5 ($p \leq 0.05$) раза, соответственно.

Для комплексной оценки состояния жаберной ткани мидий в условиях соленостного стресса был проведен визуальный анализ гистопатологических изменений в данном органе. В жабрах моллюсков, содержащихся при минимальной солености 6‰, чаще всего отмечали расширение и гемоцитарную инфильтрацию гемального синуса, отек эпителиального слоя и коричневые клетки. Только в этих “критических” группах выявили утолщение эндотелия и слущивание эпителиального слоя жаберных филламентов. Отличительными повреждениями в структуре жабр моллюсков при пониженной солености были вакуолизация мерцательного эпителия и отек эпителиального слоя жаберных филламентов.

Таким образом, снижение солености оказывает существенное воздействие на показатели клеточного иммунного ответа гемоцитов мидий. Интегральный анализ двух маркерных показателей гемоцитов позволяет сделать вывод о чувствительности иммунитета мидий к смене солености. Рост фагоцитарной способности гранулоцитов на фоне увеличения уровня спонтанной продукции АФК, отмеченного при 14‰, позволяет предположить, что в данной опытной группе экспериментальная нагрузка оказывала стимулирующий эффект на клеточный иммунитет мидий. Наиболее выраженные изменения показателей прооксидантно-антиоксидантной системы установлены в жабрах мидий при солености 6‰. Снижение активности СОД при солености 6‰ сопровождается увеличением содержания продуктов нейтрального и альдегидопроизводных основного характера, а также рядом гистопатологических изменений в жабрах мидии.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИРОДНОГО ХЛОРИНА ЕТРА В КАЧЕСТВЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ *IN VIVO*

Клименко А.М.

*Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток,
klimenko.am@dvfu.ru*

Онкологические заболевания остаются одними из наиболее распространенных причин смерти во всем мире. По причине того, что классические методы лечения, такие как хирургия, лучевая и химиотерапия, часто не могут гарантировать полного избавления от злокачественных новообразований, поиск альтернативных методов лечения онкопатологий является важнейшей задачей фармакологических исследований.

Многообещающей селективной стратегией лечения показала себя фотодинамическая терапия (ФДТ). ФДТ включает в себя три компонента: фотосенсибилизатор (ФС), свет с определённой длиной волны и кислород. Селективность метода достигается активацией ФС, который после точечного возбуждения светом генерирует цитотоксические активные формы кислорода, вызывающие апоптотическую или некротическую гибель клеток в месте опухолевого очага.

На предыдущих этапах исследования хлорин ЕТРА, выделенный из экземпляров офиуры *Ophiura sarsii*, собранных возле мыса Вятлина на о. Русский, проявил впечатляющую фототоксичность в тесте МТТ *in vitro* против ряда линий опухолевых клеток. Особенно высоким был фототоксический индекс ЕТРА против клеток глиомы крысы линии С6. Основываясь на этих данных, мы задались целью провести эксперименты по противоопухолевой ФДТ *in vivo*.

Глиобластома – наиболее распространенная форма опухоли головного мозга, характеризующаяся низкой чувствительностью к лечению и плохим прогнозом (медиана выживаемости менее двух лет). Клетки глиомы крысы С6 имитируют глиобластому человека при введении в мозг крыс и мышей и являются популярной моделью для исследования глиобластомы. Мы имплантировали клетки глиомы С6 (5×10^5 на мышь) в мозг мышей линии С57ВL/6. Через 7 сут внутривенно вводили ЕТРА в дозе 40 мг/кг. За 6 ч до МРТ головного мозга проводили направленное освещение опухоли красным лазером (L04-1Н, длина волны 650 нм, выходная мощность 100 мВт), создающим пучок света

диаметром 1.5 мм. Через пять сут после ФДТ были проведены анатомический и гистологический анализы мозга (рис. 1).

Анализ T2W-изображений показал сильное изменение сигнала в области, подвергшейся лазерному облучению. На рисунке 1А показано, что в области опухоли, подвергшейся лазерному облучению, преобладает гиперинтенсивный сигнал, т.е. отек тканей в результате фотодинамического повреждения тканей. В центральной части опухоли (рис. 1Б) сигнал перемешан с зонами гиперинтенсивного сигнала. Дальнейший гистологический анализ подтвердил, что эта область соответствует зоне некроза (рис. 1В). Большую часть одного полушария занимает опухоль, состоящая из плохо дифференцированных клеток. В центре опухоли имеется гиперэозинофильная область в форме пирамиды с обломанной вершиной, лишенная ядер, которая соответствует области некроза. Эта область занимает примерно 15% площади опухолевой ткани на срезе. На границе между мертвой и живой тканью (рис. 1Г) отсутствуют реактивные явления, такие как воспаление или пролиферация соединительной ткани, и можно заметить только расширение кровеносных сосудов, а также многочисленные формы апоптотических клеток.

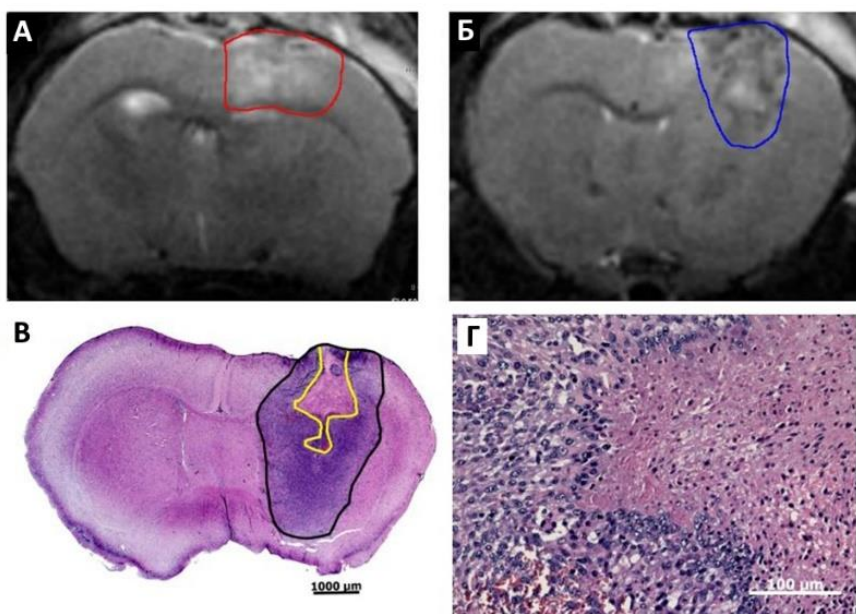


Рис. 1. МРТ-изображения коронарных срезов головного мозга (толщиной 0.5 мм). (А) Область, обведенная красной линией, относится к областям гиперинтенсивности (отек); (Б) Область, обведенная синей линией, относится к ФДТ-индуцированному некрозу глиомы; (В) Репрезентативный гистологический срез, окрашенный эозин-гематоксилином, демонстрирует границы опухоли (обведены черным) и наличие очагов некроза в области лазерного освещения (обведены желтым); (Г) увеличенная область, показывающая границы некротических и интактных опухолевых тканей.

Целью нашей работы была демонстрация потенциала природного хлорина ЕТРА из *O. sarsii* для фотодинамического повреждения опухоли мозга. Стоит отметить, что мы выбрали режим низкой освещенности, чтобы избежать термического повреждения мозга. Несмотря на такой щадящий режим, нам удалось добиться некротической гибели в пределах облученной области, что указывает на высокую перспективу применения хлорина ЕТРА в качестве ФС для противоопухолевой ФДТ.

ВЛИНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДЕПРИВАЦИИ СНА НА ПОВЕДЕНИЕ ЛИЧИНОК РЫБЫ *DANIO RERIO*

Князькина М.И., Дячук В.А.

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, marigknyaz@gmail.com

Недостаток сна может привести к негативным последствиям для здоровья и повышению уровня стресса. Изучение реакции позвоночных на стресс проводится на модельных объектах, таких как рыба *Danio rerio*, так как их система нейрорегуляции сна схожа с таковой млекопитающих, включая человека. Оценка поведения включает скорость передвижения, социальное поведение, когнитивные функции и социальное взаимодействие (Piato et al., 2010). Эксперименты с фармакологической модуляцией могут быть эффективны для выявления неизвестных аспектов отдельных регуляторных систем такого многокомпонентного процесса, как сон. Как правило, при проведении таких экспериментов можно зафиксировать как физические, так и когнитивные и поведенческие нарушения у животных (Piato et al., 2010). В данной работе были изучены изменения в поведении личинок *D. rerio* в условиях длительной депривации сна и после воздействия ротенона (Sigma, 83-79-4) и ингибитора системы рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR-системы) (PD168393, Sigma, 194423-15-9).

Изучено поведение *D. rerio*, которые были подвергнуты продолжительной депривации сна при помощи мерцания света дневной лампы каждые две секунды в течение четырех суток. Отслеживали изменения показателей активности групп по шесть особей в контрольных точках на 5 сут развития и после воздействия депривации сна на 9 сут развития. Для каждой изучаемой группы эксперимент был повторен 4 раза. Полученные видеоматериалы были проанализированы разработанным для этого проекта программным обеспечением на основе общедоступной нейросети YOLO4 (Vochkovskiy et al., 2020). Статистический анализ полученных данных средней скорости движения для всех повторов эксперимента в см/мин, был проведен при помощи t-критерия Стьюдента.

Была также изучена группа личинок *D. rerio* после воздействия ротенона и депривации сна. Эти особи также имели более высокие показатели скорости движения (5.45264 см/мин) по сравнению с контрольной группой, с нормальным циклом сна (5.19259 см/мин), что

может указывать на симптомы болезни Паркинсона и нарушения дофаминовой системы (Chia et al., 2020). Самые высокие показатели скорости относительно контрольной группы с нормальным циклом сон/бодрствование были у групп, подверженных влиянию только депривации сна (9.42341 см/мин) ($P < 0.05$). Совместное воздействие ротенона и ингибитора EGFR-системы на группы при депривации сна также привело к повышению скорости передвижения рыб (6.76887 см/мин), по сравнению со всеми остальными группами ($P < 0.05$).

Результаты исследования показали, что лишенные сна личинки *D. rerio* демонстрируют повышенный уровень активности, что может быть связано с нарушением поведенческих циклов сна/бодрствования и повышением стресса (Villafuerte et al., 2015). Изменения скорости передвижения при воздействии депривации сна, ротенона и ингибитора EGFR-системы может указывать на взаимосвязь сигнального пути EGFR с регуляцией и компенсацией эффекта лишения нормального цикла сна у личинок *D. rerio*.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00245).

НОВАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ – ТЕОРИЯ *CARCINO-EVO-DEVO*, ЕЁ НЕТРИВИАЛЬНЫЕ ПРЕДСКАЗАНИЯ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ С ДРУГИМИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ ТЕОРИЯМИ И МЕДИЦИНОЙ

Козлов А.П.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва
Биомедицинский центр и Санкт-Петербургский политехнический
университет Петра Великого, г. Санкт-Петербург,
contact@biomed.spb.ru*

Основная гипотеза теории *carcino-evo-devo* заключается в том, что эволюционная роль наследуемых опухолей состоит в предоставлении эволюционирующим организмам дополнительных клеточных масс для экспрессии эволюционно новых генов, возникающих в ДНК зародышевых клеток, и эволюционно новых сочетаний генов, что приводит к возникновению эволюционно новых типов клеток, тканей и органов (Kozlov, 1979, 2014).

Основная гипотеза стала принимать очертания теории после выхода в свет нашей монографии *Evolution by Tumor Neofunctionalization* (Kozlov, 2014). В этой работе, кроме обсуждения предпосылок и формулировки основной гипотезы, были суммированы экспериментальные данные, полученные к тому времени в лаборатории автора, подтверждающие нетривиальные предсказания теории. В работе, опубликованной в отечественном журнале *Acta Naturae* в 2019 г., были проанализированы взаимоотношения новой теории с уже существующими биологическими теориями, и предпринята попытка объяснения целого ряда необъяснённых биологических явлений (Kozlov, 2019).

Несколько нетривиальных предсказаний теории *carcino-evo-devo* были подтверждены в нашей лаборатории. В 1987 г., когда было известно всего несколько онкогенов, нами была предсказана необходимость соответствия между числом онкогенов и числом типов дифференцированных клеток, которых тогда было описано около двухсот (Козлов, 1987; Kozlov, 1996). Действительно, к настоящему времени описано более двухсот онкогенов, что примерно соответствует числу морфологически описанных типов клеток у человека (Makashov et al., 2019). С помощью компьютерной геномики нами было подтверждено предсказание о параллельной эволюции отдельных классов генов, связанных с опухолегенезом и дифференцировкой – онкогенов, генов–

супрессоров опухолевого роста и дифференцировочных генов (Makashov et al., 2019).

Предсказание об экспрессии в опухолях эволюционно новых генов было подтверждено во многих наших публикациях. Нами был описан новый класс генов – эволюционно новые гены, экспрессирующиеся преимущественно в опухолях (*TSEEN* genes – tumor specifically expressed, evolutionarily novel genes) (Kozlov, 2016, 2022a). Возможность участия опухолей в образовании эволюционно новых органов была подтверждена на модели “шапочек” золотых рыбок. Нами было гистологически доказано, что “шапочки” являются доброкачественными опухолями. Это первый описанный в мировой литературе пример искусственного отбора опухолей на новую функцию в организме (Козлов с соавт., 2012). Поскольку “шапочки” обладают как нормальными, так и опухолевыми признаками, автор назвал их “опухолеподобными органами”.

С использованием модели трансгенных опухолей рыб, индуцированных человеческими ортологами *TSEEN*, нами было показано приобретение опухолями рыб новых прогрессивных функций (Matyunina et al., 2019). Эти данные являются прямым подтверждением теории *carcino-evo-devo*. Наконец, нами было предсказано и подтверждено в статьях, что эволюционно молодые органы млекопитающих, такие как плацента, молочная железа, простата и др., обладают целым рядом опухолевых признаков и могут быть отнесены к опухолеподобным органам (Kozlov, 2022b). Особенно интересными в этой связи оказались опухолеподобные свойства жировых тканей при ожирении (Kozlov, 2022c).

В докладе будут также рассмотрены многие нетривиальные объяснения теории *carcino-evo-devo*, её взаимоотношения с другими биологическими теориями и медициной.

ДИНАМИКА ПОПУЛЯЦИЙ ЧЕРНОМОРСКИХ МОЛЛЮСКОВ В ЭПОХУ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ И ИНТЕНСИФИКАЦИИ ИНВАЗИЙ

Колючкина Г.А., Чикина М.В., Симакова У.В., Данилова Н.А.
Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, г. Москва,
galka.sio@gmail.com

В условиях нарастающих климатических и антропогенных изменений одной из наиболее актуальных проблем современной экологии является изучение формирования отклика морских экосистем: структурных перестроек сообществ, изменения трофических взаимодействий и адаптации видов к меняющимся условиям окружающей среды. В то же время далеко не все происходящие в морских шельфовых экосистемах изменения можно объяснить действием внешних факторов, поскольку динамика экосистем, связанная с действием внутренних процессов, таких как естественные сукцессии, известна фрагментарно. Донные сообщества играют ведущую роль в функционировании экосистем, модифицируя среду обитания, влияя на круговорот питательных веществ и первичную продуктивность. С донными экосистемами связывают возможность иммобилизации и секвестра углерода, оценка которых остается фундаментальной научной проблемой. Прибрежные сообществ Черного моря являются удобной моделью для такого рода исследований. Здесь доминирующие позиции в бентосе занимают карбонат-образующие моллюски, и именно эта зона в конце XX – начале XXI в. подвергалась наибольшим изменениям. В связи с двойным прессом (хищные инвазивные желетелые – на планктонные личиночные стадии, хищные инвазивные гасторопеды – на взрослые донные стадии), к 1999 г. на шельфе северного Кавказа прежние доминанты рыхлых грунтов – двустворчатые моллюски (Киселева, 1992), на глубинах 10–30 м практически не встречались (Кучерук и др., 2002). Осенью 1999 г. в связи с массовым размножением инвазивного облигатного ктенофорофага, гребневика *Beroe ovata*, благодаря которому пресс на личиночные стадии был снят, было отмечено массовое оседание двустворчатых моллюсков по всему побережью северного Кавказа от Геленджика до Адлера (Кучерук и др., 2002; Чикина, 2009). Численность осевших особей достигала десятков тысяч экз/м². В связи с этим в Институте океанологии РАН был организован ежегодный мониторинг донных сообществ прибрежных вод северного Кавказа. Полученная к 2023 г. база данных позволяет

анализировать как пространственное распределение сообществ, так и их динамику.

Основной целью настоящей работы было исследование динамики обилия и популяционной структуры моллюсков рыхлых грунтов прибрежной зоны северо-кавказского побережья Черного моря на протяжении 23 лет. Необходимо было выделить основные доминанты, оценить вклад аборигенных и инвазивных видов, определить, какие факторы определяют эти изменения. Ряд наблюдений включал непрерывные данные по численности и биомассе макрозообентоса в районе бухты Инал и прерывающиеся ряды наблюдений в поселках Шепси и Дивноморском на глубинах 10, 15, 20, 25 и 30 м.

По нашим данным, в начале XXI в. биоценоз “венусового песка” разделился на два пояса (Чикина, 2009): на глубинах 10–15 м доминантом, как и в XX в. (Киселева, 1981, 1992), оставался автохтонный двустворчатый моллюск *Chamelea gallina*, а на глубинах 20–30 м доминирующие позиции заняли пелофильный вид-вселенец *Anadara kagoshimensis* (2000–2003 гг.) и автохтонные *Pitar rudis* и *Gouldia minima* (2008–2022 гг.). Такое разделение наблюдалось на протяжении всего исследуемого 23-летнего периода. После массового оседания двустворчатых моллюсков, в 2004–2007 гг. в сообществах макрозообентоса возросла роль хищных мигрирующих инвазивных гастропод *Rapana venosa* (до 92% биомассы макрозообентоса) (рис. 1). В сообществах на глубинах 20–30 м выявлена связь биомассы рапаны (с запозданием на год) с биомассой двустворчатых моллюсков ($R_{\text{Spearman}} = -0.45$), достоверной обратной закономерности выявлено не было. Таким образом, в 2004–2006 гг. произошла вторая волна элиминации двустворчатых моллюсков рыхлых грунтов благодаря прессу хищной рапаны. Однако из-за отсутствия прессы гребневиков на личиночные стадии двустворчатых моллюсков с начала 2010-х гг. началось постепенное восстановление таксоценоза *Bivalvia*.

Если в 2000-х гг. роль инвазивных моллюсков (*R. venosa*, *A. kagoshimensis*) в донных сообществах была высокой, то в 2010-х гг. на первые позиции вышли прежние (Киселева, 1992) автохтонные доминанты *C. gallina*, *P. rudis* и *G. minima* (рис. 1). Это указывает на постепенное восстановление структуры таксоценоза после катастрофических перестроек начала XXI в. О стабилизации популяций основных доминантов к концу 2010-х гг. свидетельствуют и изменения в их размерной структуре. Если в начале 2000-х гг. из-за массового одновременного оседания и последующей элиминации все особи популяции имели сходные размеры, то с середины 2010-х гг. в популяции отмечено присутствие нескольких размерных групп с доминированием ювенильных особей.

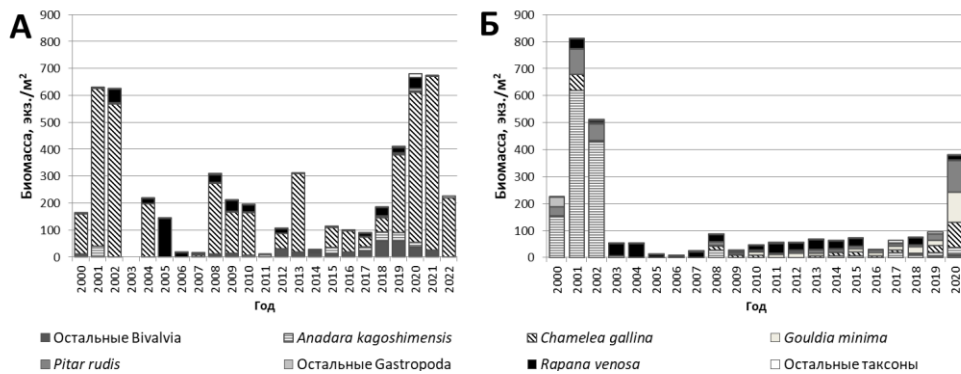


Рис. 1. Динамика биомасс основных доминантов сообществ на глубинах 10–15 (А) и 20–25 м (Б).

В 2010-х гг. отмечен рост температуры воды, снижение содержания кремния и рост содержания фосфатов (Подымов и др., 2021; Часовников и др., 2022). Эти факторы определяли изменения в фитопланктонном сообществе (Часовников и др., 2022) – основном пищевом ресурсе двустворчатых моллюсков-фильтраторов. Возможно, резкое увеличение биомассы основных доминирующих видов в таксоцене *Bivalvia* было вызвано массовым цветением диатомовых водорослей в 2021 г. (Часовников и др., 2022).

Таким образом, на протяжении исследуемого периода нам удалось наблюдать переключение факторов, руководящих динамикой таксоцена *Bivalvia*, с биотических на абиотические. В 2010-х гг., после снятия основного ограничивающего фактора (пресс желетелых на личинки), основным фактором, регулирующим обилие *Bivalvia*, стало выедание их рапаной. В 2010-х гг., в результате постоянного пополнения популяций двустворчатых моллюсков и снижения прессы рапаны, на первые роли вышли абиотические факторы, оказывающие влияние на моллюсков через планктонную составляющую экосистемы (как их основной источник пищи).

Работа поддержана грантом РФФ № 23-27-00181.

УЛЬТРАСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕРМАТОГЕННЫХ КЛЕТОК ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CORBICULA JAPONICA PRIME* (1864)

Комкова А.В., Александрова Я.Н., Вехова Е.Е., Реунов А.А.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, lina.kotckova@yandex.ru*

Corbicula japonica широко известный солоноватоводный вид моллюсков, обитающий в мягком грунте эстуариев, а также озер, лиманов и лагун, связанных протоками с морем. В странах Восточной Азии *C. japonica* считается очень ценным деликатесом из-за повышенного содержания в мясе аминокислоты таурина. Данный вид способен адаптироваться к широкому диапазону солености (эвригалинный вид), а также хорошо приспосабливается к изменению температуры (эвритермный вид). Длина раковины может достигать 40 мм, у взрослых особей в среднем 15–20 мм.

Несмотря на популярность японской корбикулы, данных по формированию половых клеток очень мало, хотя знание и понимание процессов дифференциации гамет важны для создания надежных подходов искусственной дифференцировки половых клеток. В связи с этим в данной работе мы впервые провели детальное ультраструктурное исследование сперматогенеза *C. japonica*. Особое внимание уделено изучению так называемых герминальных гранул, также известных как половые детерминанты. Эти структуры наследуются первичными половыми клетками от предыдущего поколения преформационным способом передачи половых детерминантов. Это безмембранные органеллы, которые, как известно, функционируют в течение мейотической дифференциации в сперматогенных и оогенных клетках некоторых видов позвоночных и беспозвоночных животных. Этим структурам, называемым еще мейоз-индуцирующим комплексом (МИК), у двустворчатых моллюсков уделяется большое внимание в связи с необходимостью понимания их функционирования для моделирования механизмов мейотической дифференциации. Кроме того, полученные результаты будут полезны для понимания процесса формирования мужских гамет и с точки зрения сравнительного анализа данного процесса с таковым у других двустворчатых моллюсков.

Образцы японской корбикулы (*C. japonica*) собраны из устьев рек Волчанка (залив Восток, Приморский край) и Раздольная (Амурский залив, Приморский край) в 2021 и 2022 гг. с апреля по октябрь. Для исследования сперматогенных клеток были использованы половозрелые

особи, степень развития которой определяли по длине раковин и цвету гонады.

В данной работе проведено сравнительное исследование структур МИК у двустворчатого моллюска *C. japonica* из двух географических точек методом трансмиссионной электронной микроскопии. Исследование показало, что у двустворчатого моллюска как из р. Раздольная, так и из р. Волчанка, функционирование МИК происходит в период сдвига от клеточных делений по типу митоза к клеточным делениям по типу мейоза. Процесс происходит благодаря рассеиванию герминальных гранул, фрагменты которых контактируют с некоторыми митохондриями, способствуя возникновению митохондриальных кластеров. Некоторые митохондрии кластеров выглядят разрушенными. В сперматиде и сперматозоиде структур МИК не обнаружено.

Количественная оценка показала, что в сперматогониях преобладали компактные герминальные гранулы, тогда как в первичных сперматоцитах доминировали комплексы из фрагментов гранул и митохондрий, что свидетельствует в пользу ранее выдвинутой гипотезы о вероятном участии этих структур в мейотической дифференциации.

Таким образом, обнаружено, что функционирование МИК сходно у двух географических форм моллюска, а также согласуется с уже известными данными. Сходство этих стадий у разных представителей животных позволяет сделать предположение об универсальности МИК, клеточно-молекулярные механизмы которого остаются неизменными в процессе эволюции.

РАКИ-ОТШЕЛЬНИКИ УМЕРЕННЫХ ШИРОТ: СТРАТЕГИЯ И НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ

Корниенко Е.С.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, kornielena@mail.ru*

Для раков-отшельников, как и для других декапод, относящихся к подотряду Pleoconemata, характерна забота о потомстве: их самки вынашивают яйца на плеоподах до вылупления планктотрофных личинок. У всех декапод количество отложенных яиц (реализованная плодовитость) физически ограничено доступным пространством на плеоне самки. У раков-отшельников это ограничение усиливается из-за обитания в раковинах гастропод и сокращения числа плеоподов в результате асимметрии плеона. Возраст (размер) наступления половозрелости этих гидробионтов определяется риском смертности, связанной с использованием раковин разного размера. Мелкоразмерные виды используют небольшие хрупкие раковины и на протяжении всей жизни подвергаются риску нападения хищников. Достичь репродуктивного успеха позволяют ранняя половозрелость и высокое репродуктивное усилие. Для крупноразмерных видов, живущих в крепких раковинах, хищники представляют большую опасность в первые годы жизни, поэтому для них характерны позднее созревание и относительно небольшое репродуктивное усилие.

Сезон размножения раков-отшельников – это период, когда в популяции присутствуют самки с яйцами на плеоподах. Время появления прекопулятивных пар позволяет определить начало сезона размножения. Продолжительность сезона размножения – один из аспектов репродуктивной стратегии вида, который зависит от длительности инкубационного периода и от количества кладок, продуцируемых в течение сезона. Длительность инкубационного периода у раков-отшельников зависит от температуры и в холодных или умеренных водах может занимать от нескольких недель до нескольких месяцев. У видов, производящих несколько кладок в течение сезона размножения, длительность эмбрионального развития в одной и той же местности может в несколько раз снижаться по мере повышения температуры. Репродуктивные параметры разных популяций раков-отшельников вдоль широтных градиентов демонстрируют внутривидовые различия, которые в первую очередь касаются размеров наступления половой зрелости у самок, объема яиц и количества яиц в кладке. Низкая температура замедляет темпы роста и приводит к

отсроченному достижению половой зрелости самок в высоких широтах. Количество яиц в кладке у одинаковых по размеру самок снижается от низких широт к высоким, а размер яиц отрицательно коррелирует с их количеством. Ограничение количества энергии, которую можно вложить в размножение, приводит к компромиссу между качеством и количеством потомства. В высоких широтах более крупные яйца обладают достаточным количеством желтка, чтобы поддерживать длительный период инкубации эмбрионов, характерный для развития беспозвоночных в холодных регионах.

Интересной особенностью репродуктивной стратегии некоторых видов раков-отшельников умеренных широт является появление в развитии яиц эмбриональной диапаузы. Период покоя, возникающий на стадии поздней гастролы, может длиться до нескольких месяцев, заметно увеличивая инкубационный период. Наличие эмбриональной диапаузы не является видоспецифическим признаком; у одного и того же вида раков-отшельников продолжительность диапаузы может отличаться даже внутри одной и той же популяции. Обитание в районах с ярко выраженной сезонностью и периодическими низкими температурами не обязательно приводит к появлению эмбриональной диапаузы. Среди 13 видов раков-отшельников залива Петра Великого репродуктивные характеристики изучены у четырех прибрежных видов: *P. proximus*, *P. brachiomastus*, *P. minutus* и *P. middendorffii*. Сезон размножения *P. proximus* начинается в конце ноября–начале декабря, температура воды в это время опускается ниже 5°C. В начале марта, когда температура воды близка к 0°C, нерестится *P. brachiomastus*. Показано, что у этих видов после достижения стадии поздней гастролы в эмбриональном развитии возникает период покоя. Известно, что у берегов Японии, где *P. proximus* размножается в диапазоне температур от 6 до 21°C, эмбриональная диапауза в развитии отсутствует. Самки *P. minutus*, самого мелководного среди исследованных видов, за сезон размножения откладывают несколько кладок, начиная нереститься в мае, когда температура воды достигает 10°C и выше; в разных популяциях различаются время и продолжительность нерестового периода, но развитие яиц всегда идет без периода покоя и продолжительность эмбриогенеза занимает от 16 до 34 сут в зависимости от температуры воды. Самки *P. middendorffii* откладывают единственную кладку в конце октября–начале ноября, когда температура воды составляет 10–15°C. Хотя эмбриогенез у них приурочен к самому холодному времени года и длится около 5 месяцев, эмбриональная диапауза в развитии отсутствует, а столь длительный инкубационный период определяется низкой температурой окружающей среды.

Биология личинок – это неотъемлемая часть исследований жизненного цикла морских организмов. Тип развития и способ питания

личинок характеризуют репродуктивную стратегию морских беспозвоночных. Планктонная личиночная стадия развития – это наиболее уязвимый период жизненного цикла декапод, поэтому появление личинок приурочено к наиболее благоприятному периоду, ограниченному определенным диапазоном температур. Раки-отшельники могут максимизировать успех размножения за счет выживаемости личинок или благодаря увеличению количества кладок за сезон размножения. Эмбриональная диапауза синхронизирует выход личинок, сдвигая его к периоду обилия первичной продукции и тем самым увеличивая выживаемость потомства. Во втором случае личинки появляются в планктоне несколько раз и в разное время, что позволяет скорректировать влияние негативных последствий непредсказуемых условий среды. Вариации длительности эмбрионального периода, характерные для разных видов, позволяют личинкам раков-отшельников снизить конкуренцию за раковины гастропод при оседании, что также благоприятствует репродуктивному успеху.

Таким образом, учитывая, что традиционно жизненные циклы организмов классифицируются в двух группах: r-стратегия (ранний возраст половозрелости, большое количество потомства, отсутствие родительской заботы и большое репродуктивное усилие) и K-стратегия (отсроченное половое созревание, небольшое число потомков, родительская забота и небольшое репродуктивное усилие), стратегию раков-отшельников можно рассматривать, как компромисс между этими вариантами. Смена климатических условий, характерная для умеренных широт, определяет сезонность размножения раков-отшельников. Приуроченность к определенному сезону в большей степени касается периода нахождения личинок в планктоне. Длительность же сезона размножения зависит от продолжительности инкубационного периода и количества кладок, генерируемых самкой за сезон. Инкубационный период у раков-отшельников умеренных широт зависит от температуры воды во время нереста, но может заметно увеличиваться за счет эмбриональной диапаузы, которая позволяет синхронизировать выход личинок в наиболее благоприятный период.

УЧАСТИЕ PARAНОХ-ГЕНОВ В РАЗНООБРАЗНЫХ СТРАТЕГИЯХ РАЗВИТИЯ АННЕЛИД

Костюченко Р. П.¹, Амосов А. В.¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, r.kostyuchenko@spbu.ru

Разнообразие стратегий развития, в том числе способность к регенерации и бесполому размножению у многоклеточных животных, представляет собой одну из главных проблем эволюционной биологии развития. К числу важнейших механизмов становления и модификации программ развития, диверсификации планов строения животных и способности к различным формам постэмбрионального развития относится дупликация ключевых транскрипционных регуляторов, их экспансия и коопция в новые морфогенетические события.

ParaНох-гены, которые играют важную роль в формировании переднезаднего паттерна нервной системы и кишечника большинства животных, являются структурно и функционально консервативными генами. У них общее эволюционное происхождение с Нох-генами, но они гораздо менее изучены. ParaНох-гены демонстрируют тенденцию к сохранению собственного кластера лишь у вторичноротых животных, но способны претерпевать дупликацию гомологов и диверсификацию функций в ряду первичноротых животных.

В настоящей работе мы идентифицировали и клонировали гомологи всех трех ParaНох-генов для нескольких видов аннелид (морских, пресноводных и почвенных), демонстрирующих разные стратегии эмбрионального и постэмбрионального развития. Наши результаты свидетельствуют в пользу дупликации ParaНох-генов в линии олигохет. Анализ показал значительные различия доменов экспрессии дуплицированных гомологов, что позволяет предположить дивергенцию их функций и возможное участие в контроле разных процессов, в том числе и в постэмбриональных морфогенезах, таких как рост, регенерация и бесполое размножение. Результаты экспериментов по фармакологическому влиянию на компоненты сигнального пути по типу Wnt/b-catenin говорят о возможном участии канонического Wnt сигналинга в регуляции активности ParaНох-генов.

Проект выполняется при поддержке гранта РФФ 22-24-00443 с использованием оборудования РЦ РМиКТ СПбГУ.

ЗАГАДКИ ЭВОЛЮЦИИ ЛИЧИНОК МШАНОК

Котенко О. Н., Островский А. Н.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, o.kotenko@spbu.ru, a.ostrovsky@spbu.ru

Тип Bryozoa (мшанки) – одна из доминантных групп бентосных беспозвоночных-обрастателей, для его представителей характерен удивительно широкий спектр личиночных форм. Молекулярные данные и данные биологии развития свидетельствуют о том, что мшанки относятся к группе Spiralia (*Lophotrochozoa sensu stricto*), хотя и не имеют спирального дробления (Kocot, 2016; Vellutini et al., 2017). Тем не менее, как показали Веллютини с соавторами (2017), судьба бластомеров в раннем развитии мшанок сходна с таковой у типичных спиралий (аннелид, моллюсков и др.). Эти данные, а также некоторые данные по строению личинок (Kotenko et al., 2022), позволяют нам сближать мшанок с другими представителями Spiralia, для которых характерны личинки трохофорного типа, а именно, с группой Trochozoa (Rouse, 1999; Dunn et al., 2014).

Считается, что исходно мшанки имели пелагическое развитие с долгоживущей планктотрофной личинкой (Human, 1959). Среди трех современных классов мшанок Gymnolaemata, Stenolaemata и Phylactolaemata подобное развитие характерно лишь для небольшого числа видов гимнолемных мшанок, вымётывающих зиготы непосредственно в воду. Их личинки (цифонаут и парацифонаут) имеют характерную двустворчатую раковину, развитую пищеварительную систему и специализированный фильтрационный аппарат питания (велюм и ресничные гребни, а также вводную и выводную камеры с ресничками) (Zimmer, Woollacott, 1977; d'Hondt, 2012). Остальные Gymnolaemata и все виды из классов Stenolaemata и Phylactolaemata вынашивают эмбрионы, развитие которых зависит от накопленного в ходе оогенеза желтка (лецитотрофия), и/или от питательных веществ, поступающих от материнского организма (матротрофия). У таких мшанок из выводковых структур выходят полностью сформированные, не питающиеся планктоном личинки или маленькие колонии (как у некоторых Phylactolaemata), которые оседают после непродолжительного периода плавания.

Сравнительный морфофункциональный анализ свидетельствует, что у мшанок, как и у многих других морских беспозвоночных, переходы от планктотрофных к эндотрофным личинкам осуществлялись неоднократно и, очевидно, основывались на изменениях оогенеза –

переходах от олиголецитального к макролецитальному типу (McEdward, 1995; Ostrovsky, 2013, 2021). Кроме того, мы предполагаем, что в этой группе колониальных фильтраторов приобретение нового личиночного типа всегда происходило в связи с возникновением инкубации эмбрионов и, в ряде случаев, появлением матротрофии (Ostrovsky, 2013; Kotenko, Ostrovsky, in press). На основе оригинальных материалов и опубликованных данных, мы реконструировали эволюционные изменения личинок представителей разных клад Gymnolaemata и Stenolaemata и показали, что основными тенденциями в эволюции эндотрофных личинок были: (1) редукция и исчезновение личиночной кишки, (2) утрата личиночной защитной кутикулы/раковины, (3) инвагинация эпителия эписферы с формированием паллиального синуса и (4) увеличение размеров или числа клеток короны. Кроме того, у личинок Stenolaemata произошла утрата аборального и грушевидного органов. Также в связи с наличием вынашивания и переходом от пелагического к эпибентосному/демерсальному существованию, у личинок мшанок происходило изменение пропорций тела и осевых отношений. У Phylactolaemata изменения раннего развития связаны с процессами гетерохронии. Фактически, их свободноплавающая стадия является химерой, которая представлена анцеструлой или даже ювенильной колонией, но сохраняет провизорную ресничную мантию.

Мы предполагаем, что предковая личиночная форма мшанок была подобна некоторым планктотрофным трохофорам спиралей типа эндоларв, с хорошо развитой эписферой и слегка уплощенной (или даже впяченной) гипосферой. Эписфера была покрыта кутикулой или двустворчатой раковиной. Как и у других планктотрофных трохофор, у исходной формы личинок мшанок между эписферой и гипосферой располагалось узкое ресничное кольцо из небольшого числа клеток (гомолог прототроха), имелись апикальный сенсорный орган, сквозная кишка и протонефридии. В попытках приблизиться к пониманию ранних этапов эволюции личинок мшанок, мы выяснили, что большая часть признаков такой архетипичной формы сохраняется у цифонаутов и парацифонаутов, а также у «шляпковидных» личинок некоторых клад гимнолемных мшанок (в частности, у Alcyonidioidea, Walkerioidea и Scruparia). Тем не менее, мы считаем, что ввиду их глубокой специализации нельзя утверждать, что какая-либо из этих форм полностью воспроизводит исходную форму личинок Bryozoa.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-14-00351, <https://rscf.ru/project/23-14-00351/>

ВИДОВОЙ СОСТАВ ПРОМЫСЛОВОЙ ИХТИОФАУНЫ В ПОДЗОНЕ ПРИМОРЬЕ

Кравченко Д. Г., Асеева Н. Л., Измятинский Д. В.

*Тихоокеанский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ТИНРО),
г. Владивосток, nadezhda.aseeva@tinro-center.ru,
denis.izmyatinskiy@tinro-center.ru*

По результатам учетных траловых съемок 2009–2022 гг., выполненных в подзоне Приморье от м. Поворотный до м. Золотой, зарегистрировано 159 видов рыб. Общее количество видов, известных в морских водах Северного Приморья, по нашим подсчётам составляет 266 видов круглоротых и рыб. Таким образом, в траловых съемках не отмечаются около 100 видов, известных для района.

Виды, представляющие промысловую ихтиофауну, относятся к 11 отрядам. Доминируют по числу видов два отряда – скорпенообразные Scorpaeniformes, на долю которых приходится более 50% всех зарегистрированных видов, и окунеобразные Perciformes, которые составляют 27% в общем видовом списке промысловой ихтиофауны Северного Приморья. Эти два отряда характеризуются наибольшим числом видов и во всей северо-западной части Тихого океана, а преобладание скорпенообразных над окунеобразными по числу видов свидетельствует, что исследуемая зона находится в бореальной области, так как в субтропических водах более многочисленны окунеобразные. Кроме двух упомянутых отрядов относительно большой вклад в общий видовой список промысловой ихтиофауны вносят камбалообразные Pleuronectiformes – 9.4%. На доли остальных восьми отрядов в траловых уловах приходится по 1–4 вида. Согласно нашим и литературным данным, в составе ихтиофауны Северного Приморья встречаются представители 21 отряда рыб. Следовательно, в составе промысловой ихтиофауны представлено только около 50% от всего количества отрядов рыб, зарегистрированных в Северном Приморье.

В составе промысловой ихтиофауны Северного Приморья по числу видов доминируют семейства рогатковые Cottidae – 33 вида (более 10%) и стихеевые Stichaeidae – 22 вида. Кроме них в списке рыб из траловых уловов выделяются доли лисичковых Agonidae – 14 видов, камбаловых Pleuronectidae – 13 видов и бельдюговых Zoarcidae – 13 видов. Подавляющее число семейств, встреченных в учетных съемках, представлены 1–3 видами. В общей сложности в уловах зарегистрировано 31 семейство, но 60% видов в списке промысловой

ихтиофауны принадлежат 5 семействам упомянутым выше. По обобщенным данным (нашим и литературным), в морских водах Северного Приморья отмечено 63 семейства рыб. Таким образом, как и количество отрядов, количество семейств в учетных съемках оказывается примерно в два раза меньше реального.

Представители ихтиофауны Приморья относятся к трем классам круглоротых и рыб. Класс круглоротых *Cephalospidomorpha* в морских водах Северного Приморья представлен одним видом – тихоокеанской миногой *Lethenteron camtschaticum*. Основная доля видового состава промысловой ихтиофауны приходится на класс костных рыб. Виды из класса хрящевых рыб в списке промысловой ихтиофауны Северного Приморья составляют около 3%.

Поскольку акватория Северного Приморья преимущественно находится в низкобореальной подобласти бореальной географической области, наибольшую долю списка промысловой ихтиофауны (46.2%) здесь образуют виды низкобореального приазиатского происхождения. Кроме них по количеству видов доминируют представители широкобореальной приазиатской (20.7%) и широкобореальной тихоокеанской (15.9%) ихтиофаун, так как исследуемая зона входит в число основных мест распространения рыб этого происхождения. Виды относительно более северного, как и более южного происхождения в траловых уловах на акватории Северного Приморья представлены меньшим числом видов. Среди них по количеству выделялись арктическо-бореальные виды (9.7%) и низкобореально-субтропические (4.1%). Рыбы из других зоогеографических комплексов в донных тралениях характеризовались 1–2 видами.

По образу жизни в промысловой ихтиофауне Северного Приморья преобладают представители донной ихтиофауны. Среди них на первом месте по количеству находятся тяготеющие к глубинам 50–200 м элиторальные виды (64 вида), на их долю приходится 44.1% видового списка промысловой ихтиофауны. Сублиторальных видов, предпочитающих глубины до 50 м, меньше (39 видов), еще меньше (21 вид) мезобентальных видов, основным местом обитания которых является континентальный склон. Самая малочисленная группировка литоральных видов образована 6 представителями, что составляет 4.1% видового списка.

Представители пелагической ихтиофауны тоже присутствуют в донных учетных съемках, благодаря тому, что на малых глубинах (до 30 м) большинство видов, в том числе и пелагических, придерживаются придонных слоев воды. Основу пелагической части видового списка образуют неритопелагические виды, которые обитают в толще воды над шельфом. На их долю приходится 7 видов. Кроме того, в списке

промысловой ихтиофауны присутствуют 5 проходных видов и 2 полупроходных.

Основу промысловой ихтиофауны в районе работ формируют донные виды – 75%. Во-первых, потому что в умеренных широтах донные виды – самые распространенные, а во-вторых, в связи с наибольшим развитием в исследуемых водах именно донного промысла. Количество видов, имеющих иную приуроченность к водной толще, на порядок меньше, чем донных. Вклад придонно-пелагических видов в промысловую ихтиофауну составляет 10% видового списка, пелагических – 9% и придонных – 6%.

Сравнивая количество мелкоразмерных (максимальные размеры до 26 см), среднеразмерных (максимальные размеры от 26 до 70 см) и крупноразмерных (максимальные размеры более 70 см) видов, можно констатировать, что около 50% видов в промысловой ихтиофауне Северного Приморья являются среднеразмерными. Доля мелкоразмерных видов составляет 39%, а доля крупноразмерных – 10% списочного состава промысловой ихтиофауны.

Таким образом, в промысловой ихтиофауне Северного Приморья зарегистрировано 159 видов из 31 семейства и 11 отрядов. Наибольшим числом видов представлены отряды скорпенообразных, окунеобразных и камбалообразных, а внутри них семейства рогатковых, стихеевых, лисичковых, камбаловых и бельдюговых. Представители промысловой ихтиофауны относятся к 9-ти зоогеографическим комплексам и 8-ми экологическим группировкам, из которых наиболее представительными являются низкобореальный приазиатский зоогеографический комплекс и элиторальная экологическая группировка. Промысловая ихтиофауна Северного Приморья большей частью образована среднеразмерными видами (51%), максимальные размеры которых варьируют от 26 до 70 см. Доля мелкоразмерных видов в промысловой ихтиофауне составляет 39%, а крупноразмерных – 10%.

ЛИЧИНКИ CNIDARIA: РАЗНООБРАЗИЕ И ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЭВОЛЮЦИИ

Краус Ю. А.

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.
Москва*

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва,
yulia_kraus@mail.ru*

В рамках эволюционной биологии развития широко обсуждается вопрос о том, каким был эволюционно первичный жизненный цикл Metazoa. Этот вопрос тесно связан с другими: как в жизненном цикле появилась личинка; какую личиночную форму можно считать эволюционно первичной? Приблизиться к ответам на эти вопросы позволяет сравнительный анализ жизненных циклов и личиночных форм Cnidaria – базальных многоклеточных животных, составляющих сестринскую группу по отношению к Bilateria.

Пелагическая личинка присутствует в жизненном цикле практически всех групп книдарий, причем все эти личинки (за редким исключением) носят название "планула". Классическая личинка-планула – это ресничная лецитотрофная личинка с эпителиальными экто- и энтодермой, гастральной полостью и удлинённым телом. Соответствуют ли этому описанию "планулы" различных представителей Cnidaria и насколько они на самом деле разнообразны? Какие личиночные формы эволюционно первичны для разных классов типа Cnidaria?

Для того, чтобы ответить на эти вопросы, были проанализированы собственные и литературные данные, касающиеся морфологии, внутреннего строения и метаморфоза личинок книдарий, принадлежащих к Anthozoa (Octocorallia, Hexacorallia и Ceriantharia), Hydrozoa (Hydrozoidea и Trachylina), Scyphozoa и Staurozoa. Оказалось, что личинки, отличающиеся строением от типичной планулы, имеются у книдарий, демонстрирующих нетипичный для своего таксона жизненный цикл. Хорошим примером являются личинки голопелагических книдарий, например, трахилин и сифонофор. Судя по всему, личинка и её метаморфоз независимо эволюционировали в одном и том же направлении в разных таксонах книдарий. Примером такой независимой эволюции являются Hydrozoa, обладающие сложной или пелагической колонией: и у тех, и у других в ходе метаморфоза личинки формируется первый модуль колонии, а не первичный полип. Такие случаи конвергентного изменения жизненного цикла

представляют собой "природный эксперимент" – идеальную модельную систему для сравнительного анализа процессов развития.

Можно сделать вывод, что эволюция личинок кишечнополостных связана, в первую очередь, с эволюционными изменениями жизненного цикла (например, с утратой полипа), а также с усложнением "взрослой" стадии (колонии), "встраиванием" ювенили в личиночную фазу жизненного цикла в качестве дополнительной личиночной стадии и кардинальными изменениями репродуктивного паттерна. В целом, сравнительный анализ продемонстрировал огромное (и до сих пор недооцененное) разнообразие личиночных форм и метаморфоза кишечнополостных, а также высокую эволюционную пластичность их жизненных циклов.

ТРЕМАТОДЫ МОРСКИХ РЫБ ОТ АТЛАНТИКИ ДО ПАЦИФИКИ: СКРЫТОЕ РАЗНООБРАЗИЕ

Крупенко Д. Ю.¹, Кремнев Г. А.¹, Гончар А. Г.^{1,2}, Скобкина О. С.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург,

² Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург
krupenko.d@gmail.com, ekremnyov@yandex.ru, anya.gonchar@gmail.com, levuyashyk@mail.ru

Проблема криптического биоразнообразия хоть и не нова, но в настоящий момент отнюдь не утратила свою актуальность. И если для некоторых групп живых организмов подходы к описанию криптических видов и, собственно, межвидовых границ достаточно хорошо сформулированы, то в отношении других те же вопросы начали разрабатываться сравнительно недавно. Среди последних – дигенетические трематоды (Trematoda: Digenea), паразитические черви со сложным жизненным циклом. Трематоды – один из основных компонентов паразитофауны в морских и пресноводных сообществах, по количеству описанных видов они превосходят всех остальных многоклеточных эндопаразитов (Cribb et al., 2001).

В последние годы все больше исследователей используют интегративный подход в изучении разнообразия трематод, что является важным как с практической точки зрения (определение специфичности и способности колонизации новых хозяев), так и с концептуальной (установление признаков, маркирующих межвидовые границы в данной группе) (Gilardoni et al., 2020; Gonchar, Galaktionov, 2021; Bray et al., 2022). Большую пользу при этом приносит изучение жизненных циклов трематод: часто виды, неразличимые по маритам (взрослым особям в окончательном хозяине), можно дифференцировать по стадиям из промежуточных хозяев. Использование совокупности молекулярно-генетических данных, сведений о жизненных циклах и результатов морфологического анализа, очевидно, является основным подходом, который позволит пересмотреть существующие представления о разнообразии трематод.

Цель нашего исследования – протестировать современные подходы к изучению разнообразия трематод на примере морских видов с широким кругом окончательных хозяев и большим ареалом. С точки зрения криптического разнообразия трематоды, паразитирующие в рыбах северных морей Евразии и Дальнего Востока, мало изучены, что и обусловило выбор в качестве объектов *Derogenes varicus* и *Progonus*

muelleri из семейства Derogenidae. Для обоих видов описаны масштабные ареалы обитания и очень широкий круг окончательных хозяев, однако *D. varicus*, пожалуй, является в этом смысле «чемпионом»: он отмечен во всех океанах, на глубинах от прибрежной зоны до 1800 м и использует в качестве окончательных хозяев почти 200 видов рыб (WoRMS; Bray, 2004).

Материал собран в Белом, Баренцевом и Японском морях. В работе использованы образцы как из окончательных хозяев (25 видов рыб), так и из первых промежуточных – 4 видов гастропод сем. Naticidae. Марит трематод фиксировали 96% этанолом, в дальнейшем небольшие их фрагменты использовали для выделения ДНК, а оставшуюся часть окрашивали кармином и делали постоянные тотальные препараты (ваучеры). Стадии развития трематод из промежуточных хозяев (церкарии и редии) фиксировали этанолом для выделения ДНК, а также 4% параформальдегидом и 2.5% глутаровым альдегидом для изучения морфологии. Молекулярно-генетический анализ проводился по фрагментам рДНК (28S, 18S, ITS2) и гена *cox1*.

Относительно *D. varicus* исследователи уже неоднократно высказывали предположения, что он представляет собой комплекс криптических видов (Bray et al., 2016). И действительно, наша работа показала, что мариты *D. varicus* генетически неоднородны, среди них можно выделить как минимум четыре разные линии только в морях Северной Атлантики, Арктики и Северо-Западной Пацифики. Одна из этих линий известна нам только по сиквенсу 18S из базы GenBank, однако для трех остальных мы показали, что они хорошо различаются по стадиям, церкариям и редиям, в промежуточных хозяевах, а также по видам этих промежуточных хозяев. Таким образом, данные генетические линии вполне могут называться видами.

В Белом и Баренцевом морях мы обнаружили два вида *Derogenes* cf. *varicus* (временно обозначены DV1 и DV2), один из которых использует в качестве первого промежуточного хозяина гастропод *Cryptonatica affinis*, второй – *Euspira pallida* и *Amauropsis islandica*. Редии и церкарии DV2 существенно крупнее, чем у DV1, кроме того, у их церкарий различается форма хвостовых капсул. Эти же два вида, судя по сиквенсам из базы GenBank, присутствуют и в Северной Атлантике. При этом для DV1 круг окончательных хозяев действительно оказался широким: его мариты были обнаружены в 11 видах рыб.

На Дальнем Востоке мы обнаружили еще одну линию *Derogenes* cf. *varicus* – DV3. В качестве первого промежуточного хозяина DV3 использует гастропод *Cryptonatica janthostoma*, а его церкарии в целом напоминают таковых у DV1, но отличаются характерным удлиненным выростом на хвостовой капсуле. Марит DV3 мы нашли в 6 видах рыб Японского моря. Остается открытым вопрос, присутствует ли в Тихом

океане DV1, ведь подходящий промежуточный хозяин – *C. affinis* – обитает и в Японском море, и в других морях Северной Пацифики. Однозначно можно утверждать, что *Derogenes varicus*, описанный из тропиков и из морей Южного полушария, не имеет отношения к обнаруженным нами видам комплекса *Derogenes* cf. *varicus*, поскольку их распространение с высокой вероятностью ограничено распространением конкретных видов промежуточных хозяев.

Среди образцов *Progonus muelleri* мы также обнаружили две генетические линии (PM1 и PM2), которые разошлись по проанализированным фрагментам рДНК и гена *cox1*. Однако различия между ними были не такими существенными, как между видами комплекса *Derogenes* cf. *varicus*, и в данном случае мы не можем с полной уверенностью утверждать, что это отдельные виды. Пока что стадии из первого промежуточного хозяина (*C. affinis*) получены только для PM1, так что разнести две линии *P. muelleri* на основе морфологии церкарий и редий мы пока не можем.

Интересно, что мариты PM1 и PM2 обнаружены в рыбах Белого моря, но при этом PM1 обнаружен и в Баренцевом море, а также, судя по сиквенсам, опубликованным в GenBank, в Охотском море. Для этих образцов отсутствует информация по изменчивому маркеру (*cox1*), однако по всем проанализированным рибосомальным маркерам они идентичны.

Таким образом, на примере *P. muelleri* подтверждена возможность существования видов трематод морских рыб с достаточно широким ареалом, охватывающим как западные арктические моря Евразии, так и Северную Пацифику. Кроме того, наши и опубликованные ранее молекулярные данные подтверждают низкую специфичность отдельных генетических линий внутри *Derogenes* cf. *varicus* и *P. muelleri* по отношению к окончательным хозяевам. При этом представляется маловероятным существование по-настоящему космополитичных видов морских трематод (каким считался *D. varicus*), поскольку их распространение ограничено ареалом обитания первых промежуточных хозяев, специфичность по отношению к которым обычно высока.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00376, <https://rscf.ru/project/23-24-00376/>.

**СЕКРЕТИРУЕМЫЕ ПЕПТИДНЫЕ ТОКСИНЫ КОЖНЫХ
ПОКРОВОВ НЕМЕРТИН *CEPHALOTHRIX* CF. *SIMULA* И
*KULIKOVIA ALBOROSTRATA***

Кузнецов В. Г.¹, Власенко А. Е.¹, Шабельников С. В.², Магарламов Т. Ю.¹

¹Национальный научный центр морской биологии имени А. В.
Жирмунского ДВО РАН,
г. Владивосток, vas9i-kz@mail.ru

²Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург

Немертины – тип преимущественно хищных морских червей надтипа Spiralia, включающий около 1300 видов (Kajihara et al., 2008), которые подразделяются на три основных класса: Palaeonemertea, Noplonemertea и Pilidiophora. Представители всех трех классов немертин являются источником множества токсичных соединений различной природы, используемых ими для защиты от хищников и в качестве орудия нападения. К таким соединениям относятся тетродотоксин (ТТХ) и его производные, а также пептидные токсины (Göransson et al., 2019). Согласно последним данным, наибольшая концентрация и наибольшее разнообразие токсинов ряда ТТХ характерны для палеонемертин (Ali et al., 1990; Asakawa et al., 2013; Turner et al., 2018). Пептидные токсины, специфичные для немертин, идентифицированы в основном у представителей класса пилидиофора (Kem, 1994), кроме того, во всех классах немертин обнаружены общие с другими видами животных мРНК транскрипты токсинов (Whelan et al., 2014). При изучении состава слизистого секрета кожных покровов у ТТХ-содержащих животных большой интерес представляет поиск и выявление дополнительных токсинов белковой природы. В единственной, посвящённой изучению данного вопроса с использованием протео-транскриптомного подхода работе, проведенной на синекольчатом осьминоге *Napalochlaena maculosa*, отмечено, что в его транскриптоме отсутствуют некоторые транскрипты белковых нейротоксинов, характерные для осьминогов других видов, не содержащих ТТХ (Whitelaw, 2014).

В рамках текущей работы с использованием комбинированного протеомно-транскриптомного подхода проведен поиск и сравнение пептидных токсинов в слизистом секрете кожных покровов у двух видов немертин. Палеонемертины *Cephalothrix* cf. *simula*, содержащей в слизи экстремально высокие концентрации ТТХ (Vlasenko et al., 2020), и пилидиофоры *Kulikovia alborostrata*, секрет которой содержит низкие концентрации ТТХ (Vlasenko et al., 2021). В результате анализа у *C.* cf.

simula выявлено 40 белков молекулярной массой от 6.4 до 112.9 кДа, из них 26 содержали сигнальную последовательность. В слизи *K. alborostrata* выявлено 30 белков молекулярной массой от 7.2 до 158.6 кДа, сигнальную последовательность содержали 17 из них. Подробное изучение белкового состава секрета немертину *C. cf. simula* выявило наличие двух токсинов UniProtKB/Swiss-Prot Tox-Prot с $e\text{-value} \leq 10^{-5}$. Первый пептид имел наибольшее сходство с фосфолипазой A2 (PLA2). Помимо пищеварительной роли, PLA2 обладают удивительным разнообразием токсических и фармакологических эффектов, включая нейротоксическое, миотоксическое, гемолитическое, отечное, гипераллергизирующее, провоспалительное, гипотензивное, ингибирующее агрегацию тромбоцитов, антикоагулянтное, цитотоксическое и бактерицидное действие (Gutierrez et al., 2013). Вторым выделенным из секрета немертину *C. cf. simula* токсином являлся дельта-алицитоксин-подобный пептид, проявляющий цитолитическое и гемолитическое действие (Nagai et al., 2002). В слизи немертину вида *K. alborostrata* обнаружены четыре предполагаемых пептидных токсина UniProtKB/Swiss-Prot Tox-Prot с $e\text{-value} \leq 10^{-5}$, включая немертид α -1-, U1-неметоксин- и U-немертотоксин-2-подобные пептиды, являющиеся блокаторами потенциал-зависимых ионных каналов (первые два пептида инактивируют натриевые каналы, последний – калиевые), а также астацин-подобную металлопротеиназу 1 – пищеварительный фермент, участвующий в усилении проникновения других токсинов слизи в тело жертвы. Таким образом, исходя из данных, полученных на примере видов *C. cf. simula* и *K. alborostrata*, можно предположить, что пептидный состав секрета немертин напрямую зависит от содержания в нем токсинов ряда ТТХ; в случае их высокого содержания в секрете также будут присутствовать пептидные токсины, имеющие отличные от ТТХ мишени и облегчающие его действие, либо расширяющие спектр действия экскретируемой смеси для увеличения количества потенциальных жертв. Низкое же содержание ТТХ в слизи, по-видимому, компенсируется наличием пептидных нейротоксинов со схожим с ТТХ механизмом действия.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00464.

Биоинформатическая работа выполнена с использованием вычислительных ресурсов, предоставленных ЦКП «Приморский Океанариум».

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ ВО ВРЕМЯ ВСПЫШКИ ВИБРИОЗА НА
МОРСКОМ САДКОВОМ ХОЗЯЙСТВЕ**

**Курпе С. Р.¹, Суховская И. В.^{2,3}, Борвинская Е. В.⁴, Морозов А. А.²,
Паришуков А. Н.³, Малышева И. Е.^{2,3}, Васильева А. В.³, Чечкова Н. А.²,
Кучко Т. Ю.²**

¹Институт биохимии им. Г. Бунятына НАН Республики Армении, г.
Ереван, *st.kurpe@gmail.com*

²Институт биологии, экологии и агротехнологий Петрозаводского
государственного университета, г. Петрозаводск,
sukhovskaya@inbox.ru (С.И.В.), *tche4kova.natalia@yandex.ru* (Ч.Н.А),
t_kuchko70@mail.ru (К.Т.Ю.), *i.e.malysheva@yandex.ru* (М.И.Е.),
morozov@lin.irk.ru (М.А.А.)

³Институт биологии Карельского научного центра РАН, г.
Петрозаводск,
aleksey.nik.parshukov@gmail.com (П.А.Н.), *kennard@inbox.ru* (В.А.В.);

⁴Научно-исследовательский институт биологии Иркутского
государственного университета, г. Иркутск, *borvinskaya@gmail.com*

Выращивание рыб в природных водоемах приводит к их стремительной эвтрофикации, из-за чего количество внутренних пресноводных водоемов пригодных для аквакультуры весьма ограничено и быстро сокращается, что способствует развитию рыбоводства на морских побережьях и в устьях рек. Одним из самых культивируемых видов рыб в мире является радужная форель *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), коротая в естественных условиях обитает в реках и озерах, но также может выращиваться при широком диапазоне солености воды. Эволюционно данный вид плохо адаптирован к морской микробиоте, и при содержании в море подвергается риску заражения очень вирулентной и патогенной для форели галофильной бактерией *Vibrio anguillarum*. Поэтому для развития морского форелеводства представляет интерес изучение патогенеза при вибриозе и разработка научно обоснованных мер защиты рыб от этой инфекции.

В данной работе мы изучили параметры иммунного статуса и физиологического состояния садковой радужной форели во время вспышки инфекции, вызванной *Vibrio anguillarum* на рыбоводном хозяйстве в бухте Белого моря (соленость воды 12–14‰). Для этого в августе 2020 г. на хозяйстве выловили двадцать особей одного возраста, происхождения и с одинаковым режимом кормления. Для оценки

физиологического статуса рыб использовали комплексный подход, при котором визуально оценивали тяжесть патологий, измеряли уровень экспрессии провоспалительных генов и анализировали лейкоцитарный профиль крови рыб. В результате отобранные форели были разделены на три группы: рыбы с тяжелыми поражениями, рыбы со среднетяжелым течением инфекционного процесса и бессимптомные особи. Наиболее выраженными симптомами прогрессирования заболевания были лимфопения, гранулоцитоз и спленомегалия.

Молекулярные механизмы иммунного ответа форели на заражение исследовали путем масс-спектрометрического анализа белков плазмы крови рыб. Как и ожидалось, в остром патогенезе задействованы провоспалительные интерлейкины, компоненты системы комплемента, белки острой фазы воспаления и антимикробные пептиды. Реконструкция метаболических путей выявила также высокую потребность организма в энергии из-за гиперстимуляции иммунного ответа. В целом, соотношение белков в плазме рыб с тяжелым течением заболевания соответствовало картине системной коагулопатии, метаболического ацидоза и массивного некроза тканей.

Неожиданным результатом стали невыраженные метаболические и физиологические различия между бессимптомными особями (предположительно, устойчивыми к инфекции) и рыбами с симптомами умеренного инфекционного процесса. В крови более здоровых рыб отмечена повышенная продукция антипротеаз и усиление каскада свертывания крови, что может лежать в основе эффективного, контролируемого, несамоповреждающего иммунного ответа на инфицирование.

На основании полученных результатов мы предполагаем, что одним из механизмов, обеспечивающих высокую вирулентность *V. anguillarum*, может быть гиперстимуляция иммунитета хозяина, которая приводит к развитию синдрома мультисистемного воспаления. Несмотря на наблюдаемый мощный ответ клеточного иммунитета, активацию каскада комплемента и выработку антимикробных пептидов, тяжелобольные рыбы не способны справиться с инфекцией. Более того, чрезмерная активация иммунного ответа приводила к дальнейшему повреждению тканей. В свою очередь рыбы с бессимптомным или умеренным течением заболевания продемонстрировали способность к ранней активации каскада коагуляции, повышению проницаемости эндотелия и усиленной продукции антипротеазы альфа-2-макроглобулина, предположительно препятствующей диссеминации бактерий в крови. Белки плазмы, обилие которых зависело от тяжести течения заболевания, могут быть предложены в качестве молекулярных маркеров здоровья и иммунного статуса форели при выращивании на морских рыбных фермах. В свою очередь, тот факт, что высокая

индивидуальная чувствительность к бактериальному антигену и усиленный иммунный ответ усугубляют течение вибриоза, следует учитывать при селекции радужной форели по устойчивости к болезням.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (междисциплинарный проект № 20-66-47012, выполнен совместно с Иркутским государственным университетом, Иркутск, Россия). Ссылка на информацию о проекте: <https://rscf.ru/ru/project/20-66-47012/>).

ФОРМИРОВАНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У ГОЛОТУРИИ С ПРЯМЫМ РАЗВИТИЕМ: ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ МАРКИРОВАНИЕ И HCR *IN SITU* ГИБРИДИЗАЦИЯ

Куртова А. И.¹, Гирич А. С.², Долматов И. Ю.², Воронежская Е. Е.¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва, reptofly@gmail.com

² Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток

Среди вторичноротых животных иглокожие выделяются необычным радиально-симметричным планом строения нервной системы, возникновение которого является одним из нерешенных вопросов эволюционной биологии. У большинства иглокожих не прямое развитие; нервная система личинки и взрослого организма кардинальным образом различаются. Радиально-симметричная нервная система появляется после катастрофического метаморфоза, при этом этапы ее формирования остаются неизученными. Голотурия *Eupentacta fraudatrix* относится к немногочисленной группе иглокожих с прямым развитием, что позволяет на данном объекте отследить непрерывный процесс нейрогенеза от гастрюляции до ювенильной особи. Закладка нервной системы *E. fraudatrix* была изучена ранее с помощью электронной микроскопии (Mashanov et al., 2007), но специфическое маркирование нервных клеток не проводилось. В данной работе мы исследовали развитие нервной системы *E. fraudatrix* с помощью методов иммунохимического маркирования и гибридационной цепной реакции (HCR) на криосрезах и целых особях с последующим сканированием на конфокальном микроскопе.

На ювенильных особях (1 месяц после оседания) проведен скрининг иммунохимических маркеров, характерных для взрослой и развивающейся нервной системы голотурий (Díaz-Balzac et al., 2016; Hoekstra et al., 2012). Из протестированных доступных 12 антител (Synapsin II, Synaptophysin, β -III-tubulin, TH, Serotonin, SERT, FMRF, Pax6, Sox2, Sox10, acetylated α -tubulin, Vimentin) сработали антитела против ацетилированного α -тубулина (α -tub), синапсина II (SynII) и пептида FMRFамида (FMRF). У ювенильной голотурии SynII и α -tub выявляют околوجلочное нервное кольцо и 5 радиальных нервных тяжей. Вентральный ствол на данной стадии развития самый крупный, в каудальной части его волокна сливаются с дорсо-латеральными стволами, образуя небольшое каудальное кольцо. Кроме нервных структур α -tub четко выявляет все ресничные структуры, как на

поверхности, так и внутри тела ювенильной особи (внутренняя поверхность соматоцеля и канала гидропоры, а также отдельные ресничные клетки). Двойное маркирование SynII и α -tub показало, что данные маркеры колокализуются в толстых нервных стволах. При этом SynII является более слабым маркером, но выявляет тонкие периферические нервы. FMRF обнаружен в телах отдельных нейронов, сосредоточенных преимущественно в окологлоточном нервном кольце и вентральном стволе, а также в отходящих от них тонких нервных волокнах.

В развитии SynII и FMRF положительные нейроны впервые обнаруживаются в нервном кольце и в зоне вентрального тяжа на стадии ранней пентакуты (3й день после оплодотворения). На стадии пентакуты (4й день после оплодотворения) отдельные SynII и FMRF нейроны и их отростки появляются в остальных нервных тяжах и периферических нервных волокнах. Также на данной стадии развития в нервном кольце и радиальных стволах начинает выявляться α -tub. После оседания личинки α -tub появляется также в нервах щупальцев. Ацетилирование тубулина в процессе нейрогенеза улучшает транспорт нейрональных везикул, повышает механическую устойчивость нервных волокон и регулирует ветвление дендритов и аксонов (Moutin et al., 2020). По-видимому, появление α -tub в нервных стволах и окологлоточном кольце является одним из финальных этапов их дифференцировки.

Для анализа раннего развития нервной системы *E. fraudatrix* мы изучили экспрессию гена *elav* с помощью HRC. Данная вариация гибридизации *in situ* на *E. fraudatrix* опробована впервые. Ген *elav* является общепризнанным ранним нейрональным маркером, участвует в коммитировании, дифференцировке и дальнейшей специализации нейронов (Pascale et al., 2008; Colombrita et al., 2013). Экспрессия *elav* впервые обнаружена на стадии ранней гастрюлы. Со стадии поздней гастрюлы *elav*-позитивные клетки концентрируются в области энтероцеля. В процессе развития число *elav*-позитивных клеток возрастает, и они формируют скопления вокруг амбулакральных каналов. К стадии пентакуты *elav*-позитивные клетки образуют окологлоточное нервное кольцо, мощный вентральный нервный тяж и дорсо-латеральные тяжи. К моменту оседания *elav* выявляется в нервном кольце и во всех пяти радиальных тяжах, а также внутри формирующихся щупалец и амбулакральных ножек. Наиболее мощным является скопление *elav*-позитивных клеток в каудальной части вентрального нервного ствола.

Полученные нами результаты, начиная со стадии поздней гастрюлы, совпадают с реконструкциями нервной системы *E. fraudatrix*, сделанными по ультратонким срезам (Mashanov et al., 2007). Однако

elav-позитивные клетки выявляются значительно раньше морфологического обособления зачатка нервного кольца (Mashanov et al., 2007) и раньше, чем использованные нами иммуногистохимические маркеры. По-видимому, нейрональные предшественники у *E. fraudatrix* появляются уже на стадии ранней гаструлы. Данное предположение можно подтвердить с помощью изучения экспрессии других генов ранней нейрональной дифференцировки, которое планируется в ближайшем будущем.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-14-00375.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВРЕМЕННОЙ, ГЕОГРАФИЧЕСКОЙ И
МЕЖВИДОВОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИКРОБИОМОВ *LITTORINA*
FABALIS И *L. OBTUSATA*

Курячий Д. С., Гафарова Е. Р., Гранович А. И., Мальцева А. Л.
Санкт-Петербургский государственный университет,
г. Санкт-Петербург,
dkuracij@gmail.com

Хорошо известно, что микроорганизмы, ассоциированные с многоклеточными, могут влиять на адаптивный потенциал хозяев. Пищевые предпочтения близкородственных видов хозяев и их микробиотическое распределение влияют на спектр встречающихся, поглощаемых и задерживающихся в ассоциации микроорганизмов, то есть на формирование видоспецифического микробиома. Это ставит важный вопрос о судьбе ассоциированного микробиома во время экологически-опосредованного видообразования. Сравнительный анализ микробиомов, ассоциированных с недавно дивергировавшими симпатрическими видами может помочь прояснить этот вопрос. При описании ассоциированного микробиома необходимо учитывать его временную и пространственную изменчивость. В нашем исследовании проанализированы микробиомы, ассоциированные с родственными видами брюхоногих моллюсков *Littorina fabalis* и *L. obtusata*, собранные в двух отдаленных регионах (Баренцево и Белое моря); в последнем регионе образцы были отобраны в летний и осенний сезоны. Образцы кишечника моллюсков фиксировали индивидуально, в анализе также использовали образцы мантии моллюсков (пулированные) и биопленки окружающей среды, взятые с живых (фукоиды) и неживых (камни) субстратов. Бактериальный состав анализировали с помощью метабаркодирования 16S-рДНК с последующей идентификацией ASV в базе данных SILVA. Из полученных результатов можно сделать несколько основных выводов. [1] Микробиомы окружающей среды и поверхности тела значительно отличаются от микробиомов кишечника. Видовое богатство и равномерность сообщества в образцах окружающей среды оказались выше, чем в образцах, связанных с кишечником литторин. [2] При анализе микробиоты двух видов обнаружены слабые, но значительные различия между микробиотой, ассоциированной с кишечником *Littorina fabalis* и *L. obtusata*. Интересно, что количество бактериальных линий, преимущественно ассоциированных с *L. obtusata*, было значительно выше, чем тех, которые характерны для *L. fabalis*. [3] Сезонная изменчивость микробиоты, связанной с кишечником, хорошо

выражена у обоих анализируемых видов. Осенью богатство линий бактериальных сообществ, ассоциированных с моллюсками, значительно снижалось; кроме того, межвидовые различия в составе микробиоты в этот сезон переставали быть значимыми. Возможные интерпретации этих явлений будут представлены на конференции.

Проект выполняется при поддержке гранта РФФИ 19-14-00321, рук. А.И. Гранович.

**КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ
ИЗВЕСТКОВОЙ ГУБКИ *LEUCOSOLENIA CORALLORRHIZA***

**Лавров А. И.^{1*}, Скоренцева К. В.², Мельников Н. П.¹, Большаков Ф. В.¹,
Ересковский А. В.^{2,3}**

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

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-
Петербург, Россия

*lavrovai@my.msu.ru

Губки (тип Porifera) демонстрирует высокий регенеративный потенциал и способны восстанавливать исходную организацию после различных типов ранений. При этом наборы клеточных механизмов, которые обеспечивают процесс регенерации, отличаются в разных классах губок. Для представителей класса Demospongiae характерны морфогенезы эпителиально-мезенхимального типа, в то время как для представителей классов Homoscleromorpha и Calcarea – эпителиальные морфогенезы.

Центральным процессом в регенерации известковых губок (кл. Calcarea) является быстрое формирование регенеративной мембраны, которая закрывает рану, а затем преобразуется в интактную стенку тела. Цель данной работы – оценить вклад клеточной пролиферации, программируемой клеточной гибели и клеточной подвижности в процесс регенерации стенки тела известковой асконоидной губки *Leucosolenia corallorrhiza*.

Исследованы процессы регенерации после двух типов операций: 1) удаление небольшого (0.3–0.5 мм × 0.3–0.5 мм) фрагмента стенки тела в проксимальной части оскулярных трубок; 2) разрезание оскулярной трубки перпендикулярно основной оси на кольца шириной 2–4 мм. Структуру систем актиновых филаментов и микротрубочек в клетках интактных тканей и регенеративной мембраны (РМ) визуализировали иммуноцитохимическим методом с использованием антител против цитоплазматической изоформы β-актина, немышечного миозина II типа и α-тубулина. Морфологию клеток интактных тканей и РМ описывали с использованием 3 параметров: площадь, округлость и вытянутость. Для функциональной оценки вклада сократительной активности актомиозиновых комплексов в процесс формирования РМ использовали блеббистатин – специфический ингибитор миозина II. Для описания характера пролиферации клеток в интактных тканях губки и в ходе

регенеративных процессов использовали 5-этинил-2'-дезоксидеоксиуридин (EdU) (6 ч инкубации в 20 мкМ EdU) и антитела против фосфорилированного гистона H3 (pH3). Для функциональной оценки вклада клеточной пролиферации в процессы регенерации стенки тела проведены эксперименты по долговременной блокировке пролиферации с помощью афидиколина. Для оценки интенсивности программируемой клеточной гибели в ходе регенеративных процессов использовали метод визуализации апоптотических клеток TUNEL.

В процессе регенерации *L. corallorrhiza* раневые отверстия в течение 24–48 ч после операции (чпо) затягиваются регенеративной мембраной (РМ). РМ состоит из трех слоев: экзопинакодермы, эндопинакодермы (формирующейся за счет трансдифференцировки хоаноцитов) и разделяющего их тонкого слоя мезохила, в котором практически отсутствуют клетки. Через 144–168 чпо происходит преобразование РМ в интактную стенку тела: эндопинакодерма замещается хоанодермой; порциты формируют новые остии; мезохил утолщается, в нем появляются амебоидные клетки и скелетные элементы.

В основе формирования РМ и ее последующего преобразования в интактную стенку тела лежат эпителиальные морфогенезы – растяжение, уплощение и слияние эпителиальных пластов (экзопинакодермы и хоанодермы). Эти морфогенезы происходят благодаря активному изменению формы клеток в интактных тканях, лежащих около раны. Изменения формы клеток сопровождаются значительными перестройками их цитоскелета, в первую очередь, системы актиновых филаментов. На лидирующем крае регенеративной мембраны формируется актомиозиновый тяж с характерным прерывистым паттерном распределения немышечного миозина II типа на пучках актиновых филаментов. Функциональный анализ с использованием ингибитора миозина II (блеббистатина) демонстрирует, что формирование мембраны зависит от сократительной активности тяжа.

Для интактных тканей *L. corallorrhiza* характерен высокий уровень пролиферативной активности, в них постоянно присутствуют как EdU-, так и pH3-положительные клетки. Абсолютное большинство пролиферирующих клеток – хоаноциты; изредка встречаются пролиферирующие клетки вне хоанодермы, принадлежащие мезохилу или экзопинакодерме. Регенерирующие губки сохраняют описанный паттерн пролиферации во всех исследованных временных точках регенерации, значимых изменений не наблюдается ни в доле пролиферирующих клеток, ни в их распределении. Эксперименты по долговременной блокировке пролиферации в ходе регенерации стенки тела показали, что полное восстановление утерянного фрагмента может нормально проходить при условии отсутствии клеточных делений. При

этом процессы регенерации у губок с заблокированной пролиферацией и у контрольных губок происходят с одинаковой скоростью.

Апоптоз отмечен на всех стадиях регенерации стенки тела *L. corallorrhiza*, однако его уровень очень низок. Количество апоптотических клеток несколько выше на ранних стадиях регенерации. На всех исследованных стадиях апоптотические клетки находятся непосредственно по краю раны. В тканях, удаленных от раны, TUNEL-положительные клетки встречаются крайне редко.

Полученные нами данные демонстрируют, что ни клеточная пролиферация, ни программируемая клеточная гибель не играют значительной роли в регенеративных процессах у асконоидной известковой губки *Leucosolenia corallorrhiza*. Основной движущей силой регенерации, судя по всему, является коллективное изменение формы и миграция клеток в составе хоанодермы и экзопинакодермы около раны. Таким образом, регенерация *L. corallorrhiza* происходит только за счет перестройки прилежащих к ране интактных тканей и может представлять собой редкий пример «чистого» морфаллаксиса.

Работа поддержана грантом РФФИ № 21-54-15006 и грантом Президента РФ МК-1096.2021.1.4.

МИКРОВОДОРОСЛИ – ЖИВОЙ КОРМ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МОРСКИХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ В ПИТОМНИКЕ

Ладыгина Л. В.¹, Масленников С. И.², Рябушко В. И.¹

¹*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, lvladygina@yandex.ru*

²*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток*

При выращивании морских двустворчатых моллюсков микроводоросли – основной источник пищи на всех стадиях развития личинок, а также при подращивании спата до товарного размера и кондиционировании производителей. Интенсивное разведение двустворчатых моллюсков зависит от производства живых водорослей, на которое приходится в среднем 30% от эксплуатационных расходов в питомнике (FAO, 1996). Относительные потребности двустворчатых моллюсков в водорослях зависят от производственной мощности питомника, т.е. количества экземпляров спата размером 1 – 6 мм. На личиночных стадиях развития питание моллюсков – одно из узких мест, препятствующих полной коммерциализации многих выращиваемых видов, поскольку молодь потребляет наибольший объем культивируемых водорослей. На каждом этапе выращивания двустворчатых моллюсков необходимы микроводоросли, соответствующие следующим требованиям: правильный размер и форма клеток, легко перевариваемая клеточная стенка, простота культивирования, отсутствие токсичных веществ и высокие питательные свойства (Raja et al., 2004b; Patil et al., 2007; Холодов и др., 2017). Рацион личинок и спата моллюсков должен состоять из микроводорослей, относящихся к разным таксонам (табл. 1).

Число культивируемых видов зависит от возможностей питомника, но целесообразно использовать не менее 4–5 видов: *Isochrysis galbana* Parke, 1949, *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butcher, 1959 или *Tetraselmis viridis* Rouch, 1966, *Phaeodactylum tricornerutum* Bohlin, 1897, *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* Takano, 1968 и *Chlorella vulgaris* f. *suboblonga* Andreeva, 1975.

Личинки большинства видов двустворчатых моллюсков имеют схожие пищевые рационы. Состав корма из жгутиковых и диатомовых водорослей обеспечивает им хорошо сбалансированную диету, которая ускоряет темпы роста личинок и позволяет успешно проходить метаморфоз.

Таблица 1. Микроводоросли, используемые в качестве корма при выращивании личинок и спата гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в питомнике ИнБЮМ

| Таксон | Вид водорослей | Размер клеток, мкм d – h | Максимальные концентрации клеток, 10 ⁶ кл/мл | Применение на разных стадиях развития |
|---|----------------------------------|--------------------------|---|---------------------------------------|
| Haptophyta: Prymnesiophyceae Pavlovophyceae | <i>Isochrysis galbana</i> | 5.9 – 4.4 | 24.05 | В, ++ |
| | <i>Monochrysis lutheri</i> | 3.0 – 2.1 | 30.25 | В, ++ |
| Chlorophyta: Chlorophyceae | <i>Tetraselmis suecica</i> | 11.5 – 8.3 | 6.41 | ПВ, С, + |
| | <i>Tetraselmis viridis</i> | 8.5 – 7.6 | 6.94 | ПВ, С, + |
| | <i>Dunaliella viridis</i> | 11.1 – 8.1 | 6.85 | ПВ, С, + |
| | <i>Chlorella vulgaris</i> | 5.5 – 4.5 | | ВЛ, + |
| Bacillariophyta: Bacillariophyceae | <i>Chaetoceros calcitrans</i> | 9.2 – 4.2 | 11.22 | ВЛ, + |
| | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | 2.5 – 10.1 | 40.37 | ВЛ, + |
| Cryptophyta: Cryptophyceae | <i>Rhodomonas salina</i> | 12.5 – 7.5 | | ПВ, + |

Примечание: В – велигер; ВЛ – великонхи; ПВ – педивелигер; С – спат; ++ – индивидуальная диета; + – как компоненты смешанной диеты

Содержание белка, углеводов, липидов и полиненасыщенных жирных кислот в микроводорослях является основным фактором, определяющим их пищевую ценность. Качественный состав кормовых водорослей зависит от вида водорослей и условий культивирования. По суммарному содержанию белка, углеводов и липидов кормовые водоросли в порядке убывания можно расположить следующим образом:

I. galbana → *M. lutheri* → *R. salina* → *Ch. calcitrans* → *Ph. Tricornutum*
→ *C. vulgaris* → *T. suecica* → *T. viridis* → *D. viridis*.

Для улучшения качественного состава микроводорослей целесообразно использовать два режима культивирования – полунепрерывный и накопительный. При полунепрерывном режиме культивирования в клетках водорослей накапливается максимальное количество белка и углеводов, а при накопительном – максимальное содержание липидов (табл. 2).

Таблица 2. Биохимический состав микроводорослей при разных режимах культивирования на питательной среде Конвея

| Вид водорослей | Полунепрерывный режим культивирования | | Накопительный режим культивирования | |
|-----------------------|---------------------------------------|--|-------------------------------------|--------------------------------------|
| | Содержание белка, % от сухого веса | Содержание углеводов, % от сухого веса | Содержание белка, % от сухого веса | Содержание липидов, % от сухого веса |
| <i>I. galbana</i> | 49.8 ± 1.21 | 28.4 ± 0.21 | 26.3 ± 0.24 | 25.6 ± 0.09 |
| <i>D. viridis</i> | 37.1 ± 0.21 | 15.2 ± 0.17 | 13.5 ± 0.17 | 18.0 ± 0.10 |
| <i>T. suecica</i> | 30.4 ± 0.31 | 17.2 ± 0.16 | 15.9 ± 0.16 | 20.9 ± 0.21 |
| <i>P. tricornutum</i> | 40.7 ± 0.2 | 20.8 ± 0.24 | 23.4 ± 0.04 | 20.0 ± 0.08 |
| <i>C. calcitrans</i> | 40.3 ± 0.28 | 21.3 ± 0.13 | 25.2 ± 0.24 | 27.0 ± 0.09 |
| <i>R. salina</i> | 29.0 ± 0.15 | 30.1 ± 0.21 | 29.2 ± 0.12 | 41.0 ± 0.06 |

Качественный состав липидов в микроводорослях определяется содержанием в них полиненасыщенных жирных кислот. Содержание жирных кислот у водорослей, принадлежащих к разным таксонам, существенно различается. У *I. galbana* и *M. lutheri* концентрация эйкозапентаеновой кислоты 20:5(n-3) варьирует от 7 до 34%, а докозагексаеновой кислоты 22:6(n-3) составляет 10–12%. Содержание этих кислот у *P. tricornutum* и *C. calcitrans* более 9%, а у *T. suecica* и *D. viridis* – 3–5% (Volkman, 1989). Одноклеточные водоросли отдела Chlorophyta имеют низкую пищевую ценность по сравнению с водорослями отделов Haptophyta и Bacillariophyta и не могут быть использованы в монодиетах.

В настоящее время культивирование живых кормов для марикультуры – хорошо отработанный технологический процесс, но высокие эксплуатационные расходы вынуждают использовать альтернативные корма, например, концентраты из водорослей, которые позволяют обеспечить более широкое разнообразие водорослевых культур, и следовательно, улучшить рацион личинок на поздних стадиях развития и спата при подращивании в питомнике до определенного размера.

**РАК МОЗГА РАКА: К ЧЕМУ ПРИВОДИТ ЗАРАЖЕНИЕ
ДЕСЯТИНОГИХ ХОЗЯЕВ КОРНЕГОЛОВЫМИ
РАКООБРАЗНЫМИ (МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И
ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ)**

Лянгузова А. Д.¹, Гафарова Е. Р.¹, Голофеева Д. М.², Миролюбов А. А.³,
Нестеренко М. А.⁴

¹Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, reinhardtlennon@gmail.com; orhidea-palma@yandex.ru

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, г. Санкт-Петербург, golofeevad@gmail.com

³Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург, alexmiroliubov@gmail.com

⁴Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург, maxnest.research@gmail.com

Корнеголовые ракообразные (Cirripedia: Rhizocephala) одни из наиболее высокоспециализированных паразитов среди всех Metazoa. В качестве хозяев ризоцефалы используют морских ракообразных (чаще всего, представителей Decapoda). Паразитирующая стадия представлена взрослой самкой, тело которой разделено на две функциональные части: экстерну – мешковидное репродуктивное образование, вынесенное за пределы тела хозяина, и интерну – систему трубковидных столонов, расположенных в гемоцеле хозяина. Столоны интерны редко механически повреждают ткани и органы зараженных особей. Исключение составляет нервная ткань, в которую столоны прорастают, образуя специализированные сайты контакта с нервной системой. Вероятно, наличие таких сайтов позволило корнеголовым достичь значительного успеха в манипулировании хозяином. Интенсивное взаимодействие с организмом хозяина приводит к тому, что корнеголовые способны влиять на многие аспекты биологии зараженных особей: морфологию, физиологию (гормональный статус, линочный и репродуктивный циклы и др.) и поведение. Заражение ризоцефалами приводит к феминизации самцов, которая выражается в изменении внешнего вида зараженных раков, а также в появлении поведенческих паттернов, характерных для вынашивающих потомство самок.

К сожалению, очень мало известно о молекулярных механизмах, лежащих в основе данного паразито-хозяинного взаимодействия. Большинство имеющихся исследований затрагивают в основном представителей сем. Sacculinidae, паразитирующих на настоящих

крабах. Корнеголовые из сем. *Peltoastridae* представляют одну из самых базальных семейств *Rhizocephala*. В качестве хозяев для пелтогастрид выступают представители *Anomura*, а раки-отшельники считаются предковыми хозяевами для корнеголовых. Таким образом, исследование механизмов взаимодействия в системе паразит-хозяин: *Peltoastridae*–*Anomura* позволит не только выделить ключевые молекулярные процессы, характерные для конкретных представителей, но и, вероятно, поможет пролить свет на эволюционные аспекты паразито-хозяинных отношений.

Мы исследовали как морфологические, так и молекулярные механизмы взаимодействия *Peltogaster reticulata* (*Rhizocephala*: *Peltoastridae*) с нервной системой раков-отшельников *Pagurus minutus*, собранных в Японском море. Столоны интерны прорастают в первые абдоминальные ганглии зараженных особей. Как и у всех базальных ризоцефал, дистальная часть таких столонов модифицирована в бокаловидные органы, расположенные на периферии ганглия. Клеткам бокаловидного органа характерна высокая синтетическая активность: в цитоплазме найдены многочисленные везикулы, мультиламеллярные тельца и митохондрии. Выделение активных соединений, по-видимому, происходит как за счёт клеток, выстилающих внутреннюю поверхность бокаловидного органа, так и за счёт внешнего клеточного слоя. В нервной ткани, расположенной вблизи бокаловидного органа, мы наблюдали образование многочисленных мультимембранных тел, по своей морфологии схожих с образованиями, характерными для лизосомальной аутофагии нейронов.

Для изучения молекулярных механизмов регуляции паразито-хозяинных отношений произведена сборка *de novo* транскриптома абдоминальных ганглиев зараженных и здоровых раков-отшельников обоих полов. Для дальнейшего анализа использована комплексная сборка: объединены полученные от 3 ассемблеров последовательности, имеющие высокие показатели качества и полноты сборки. Анализ дифференциальной экспрессии белок-кодирующих генов включал попарные сравнения зараженных и здоровых особей хозяина, а также особей разных полов. Мы определили биологические процессы, в которых участвуют гены со статистически значимым изменением экспрессии между парами сравнения. Для зараженных раков-отшельников обоих полов характерна тенденция к снижению числа активных биологических процессов. Среди процессов, подавленных у зараженных хозяев по сравнению со здоровыми, можно выделить ответственные за регуляцию жизненного цикла (размножение, старение и продолжительность жизни), а также участвующие в цитокиновых и апоптотических путях. Полученные результаты согласуются с данными о паразитарной кастрации, в некоторых случаях, вплоть до полного

разрушения гонад инфицированных раков. При этом столоны интерны механически не повреждают половые органы хозяина, а подавление работы репродуктивной системы, возможно, происходит за счёт первоначального ингибирования связанных с размножением процессов в нервной ткани.

Сравнение здоровых самцов и самок *P. minutus* показало значительные отличия в количестве молекулярных процессов сравниваемых групп. Примечательно, что разница в транскриптомах зараженных самок и зараженных самцов определена небольшим числом процессов. Таким образом, заражение *P. reticulata*, по-видимому, нивелирует на молекулярном уровне половые различия, характеризующие здоровых раков-отшельников. Схожие паттерны ранее были описаны на морфологическом уровне: инфицирование пелтогастридами приводит к феминизации самцов и гипофеминизации самок.

В настоящее время ведется работа над ассемблированием генома *P. reticulata*. Предварительные результаты показывают, что общая протяженность генома равна 361620408 нуклеотидам, что значительно превышает значения, полученные для *Sacculina carcini* (Rhizocephala: Sacculinidae). Мы предполагаем, что выявленные различия обусловлены наличием большого числа повторов, отмеченных ранее в исследованиях геномов корнеголовых ракообразных. Улучшение качества и полноты сборки может быть достигнуто с использованием *in silico* библиотеки прочтений с размером вставок от 1000 пн до 200000 пн.

РАЗНЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ МОРСКИХ ДОННЫХ ОСАДКОВ НА ОСНОВЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭМБРИОТЕСТА С МОРСКИМИ ЕЖАМИ

Мазур М. А.¹, Журавель Е. В.²

*¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, proshinamarina94@gmail.com*

*²Дальневосточный федеральный университет,
г. Владивосток, zhrvl@rambler.ru*

Морские ежи являются общепризнанными и широко используемыми во всем мире тест-организмами для биологического анализа токсичности и загрязнения морских вод и донных отложений (ДО) (Morigoni et al., 2016). Оценку токсичности проводят как на взрослых особях, так и с использованием гамет, эмбрионов и личинок. В настоящее время большинство исследователей в своих работах оценивают токсические эффекты исследуемых образцов на эмбриональных и личиночных стадиях развития морских ежей. Это связано с рядом преимуществ, а именно простотой наблюдения, высокой скоростью ответной реакции, высокой чувствительностью и точностью, а также однозначностью полученных данных. Эмбрионы и личинки морских ежей включены в отечественные и зарубежные нормативы и протоколы биологической оценки загрязнения морской среды (Временные методические рекомендации..., 2003; U.S. EPA, 2009; Environment Canada, 2011; ASTM, 2012; NBR/ABNT, 2012).

В настоящее время существует ряд методик, позволяющих определить токсичность среды с помощью эмбрионов и личинок морских ежей. Они основаны на регистрации аномалий раннего развития на критических стадиях – образования бластулы, гастрюлы и среднего плутеуса, когда личинка переходит к активному питанию (Светлов, 1978; Жирмунский, Кузьмин, 1982). Одним из наиболее популярных является тест с использованием гамет, прослеживающий раннее развитие до образования среднего плутеуса (Kobayashi, 1980). В данном подходе экспозиции в тестируемых растворах подвергаются яйцеклетки и спермии. В процессе эксперимента регистрируют процент аномалий развития, выражающихся в грубых нарушениях развития скелета (отсутствие личиночных рук, асимметрия и т.д.) и задержек в росте.

Группой итальянских ученых (Morigoni et al., 2016) разработан интегральный индекс токсичности (ИТ 1.0), основанный на детальном анализе развития личинок морских ежей на стадиях гастрюлы и среднего плутеуса с помощью специальной шкалы, в которой каждому из выделенных

типов аномалий или задержек в развитии присвоен определенный балл. Критерий рассчитывается с помощью интеграции частоты встречаемости аномальных личинок и выраженности данных отклонений. Полученные результаты оценивают с помощью десятибалльной шкалы. Позже были предложены модификации данного индекса (ІТІ 2.0, ІТІ 3.0, ІТІ 4.0), основанные на расчете критерия по упрощенной пятибалльной шкале (Bonaventura et al., 2021). Преимуществами модифицированных версий является более быстрая оценка аномалий развития и получение итогового результата.

Целью данной работы являлось сравнение результатов разных подходов для оценки токсичности ДО с использованием личинок плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis* (Agassiz, 1864).

Из образцов донных осадков, отобранных в 2022 г. с шести станций в прибрежных районах зал. Находка, готовили водные вытяжки. Взрослых особей *S. mirabilis* для биотестирования собирали в б. Средняя (зал. Восток).

Для приготовления вытяжек и проведения тестирования использовали профильтрованную и обработанную ультрафиолетом морскую воду, отобранную в районе биостанции «Восток» Национального научного центра морской биологии ДВО РАН с глубины 6 метров. На основе стандартной методики проводили нерест морских ежей, подготовку половых продуктов к эксперименту и оплодотворение (Morrone et al., 2016). Полученные зиготы помещали в исследуемые экстракты, где происходило их дальнейшее личиночное развитие. В течение всего эксперимента поддерживали температурный режим на уровне 18–19°C.

После 48 ч от начала эксперимента подсчет результатов биотестирования проводили несколькими способами. В первом (стандартном) подходе для подсчета личинок на стадии плутеуса 1 использовали два критерия: N – нормально и A – аномально развивающиеся личинки. Вытяжки считали нетоксичными при доле нормально развитых личинок 96–100%, слаботоксичными – 71–95%, среднетоксичными – 51–70% и высокотоксичными – менее 50% (Kobayashi, 1980). Во втором подходе использовали расчет ІТІ 1.0. Оценку личинок на стадии 1 среднего плутеуса выполняли по следующим критериям: 0 баллов – нормально развивающиеся плутеусы; от 1 до 5.5 – отстающие в развитии личинки, достигшие к окончанию эксперимента стадии раннего плутеса, призмы, бластулы и морулы; от 6 до 10 – отстающие в развитии личинки с аномалиями (Morrone et al., 2016). Также для подсчета использовали модифицированный интегральный индекс ІТІ 4.0 по следующим критериям: 0 баллов – нормально развивающиеся плутеусы; 1 – плутеусы и ранние плутеусы с аномалиями развития; 2 – личинки, отстающие в развитии и достигшие стадии призмы; 3 – призмы с аномалиями в развитии; 4 и 5

баллов – личинки и эмбрионы с задержкой от зиготы до стадии гастрюлы или аномалиями развития (Bonaventura et al., 2021).

В результате расчета уровня токсичности осадков по стандартной методике на всех станциях отмечен слабый уровень токсичности. Максимальный процент аномально развитых личинок (11.25 %) выявлен в районе б. Козьмина. Оценка эмбриотоксичности на основе ИТІ 1.0 не подтвердила результаты, полученные стандартным методом. Значение критерия на каждой из станций соответствовало уровню отсутствия токсического воздействия ($ИТІ < 1$). Наибольшее значение индекса было рассчитано для осадков из б. Козьмина ($ИТІ = 0,65$). Расчет индекса ИТІ 4.0 показал схожую картину, с максимальным значением на станции в б. Козьмина ($ИТІ 4.0 = 0,15$), подтверждающую результаты, полученные в ходе расчета ИТІ 1.0. Небольшое различие отмечено для осадков из района устья р. Партизанской. ИТІ 1.0 на этой станции был близок к максимальным значениям для исследуемых образцов, а значение ИТІ 4.0 находилось на уровне контроля. Такие различия могут быть связаны с тем, что в экстрактах из донных осадков данной станции по окончании эксперимента отмечены аномально развитые личинки на стадиях среднего и раннего плутеуса. При расчете ИТІ 1.0 для личинок с подобными аномалиями присваиваются более высокие баллы (6 и 7 баллов соответственно), а при ИТІ 4.0 – 1 балл.

Известно, что более ранние эмбриональные стадии развития морских ежей (от момента оплодотворения до стадии гастрюлы) с задержками и/или аномалиями в развитии с большой долей вероятности не смогут продолжить нормальное развитие, а личинки на стадиях от призмы до раннего плутеуса имеют более высокую вероятность дальнейшего развития (Bonaventura et al., 2021). Данные закономерности отражены в балльной градации аномалий и задержек развития для расчета ИТІ 4.0, который характеризуется более высокой точностью оценки для образцов со средней и высокой токсичностью. Индекс ИТІ 1.0 является более универсальным и может быть использован для оценки образцов разной степени токсичности.

Таким образом, ИТІ 1.0 и ИТІ 4.0 являются более чувствительными в сравнении со стандартным подходом, что подтверждается нашим исследованием. Именно поэтому использование интегральных подходов при оценке качества морских осадков позволяет получить более полную информацию об их токсичности.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕСКОЛЬКИХ ВИДОВ НЕОПЛАЗИИ У МИДИЙ *MYTILUS TROSSULUS* ИЗ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ

Майорова М. А.¹, Фролова Л. Т.¹, Одинцова Н. А.¹, Сказина М. А.²,
Стрелков П. П.²

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,

г. Владивосток

²Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

Трансмиссивная неоплазия двустворчатых моллюсков (BTN) – заразное заболевание, которое представляет собой диссеменированную неоплазию (лейкемия-подобный рак). Заражение происходит через воду, посредством передачи неопластических клеток от больных особей здоровым (Metzger et al., 2016). На сегодняшний день это заболевание выявлено у нескольких видов двустворчатых моллюсков, в том числе у мидий рода *Mytilus*. Для моллюсков с диссеменированной неоплазией характерно наличие циркулирующих в гемолимфе крупных неопластических клеток с увеличенным ядром. С током гемолимфы эти клетки разносятся по всему организму и инфильтрируют соединительные ткани (Odintsova et al. 2011, Carballal et al. 2015). На генетическом уровне у больных особей обнаруживается химеризм – генотип неопластических клеток отличается от генотипа особи-хозяина. Существует несколько линий трансмиссивной неоплазии у мидий – MtrBTN1 и MtrBTN2 (Yonemitsu et al., 2019). Популяции мидий из Дальневосточных морей интересны именно тем, что в них встречаются обе линии заразного рака, а также спонтанный рак (Skazina et al. 2022). Литературные данные по диссеменированной неоплазии мидий говорят о значительной изменчивости неопластических клеток по размерам, ploидности (1.4n- 18.8n) и размерам ядер внутри и между популяциями мидий, а также у одних и тех же мидий (Vassilenko, Baldwin 2014, Burioli et al. 2019).

Цель настоящей работы – провести сравнительное исследование диссеменированной неоплазии мидий разной этиологии методами цитологии и гистологии.

Для выявления диссеменированной неоплазии гемолимфу моллюсков анализировали с помощью световой микроскопии и проточной цитометрии. Ткани образцов с признаками неоплазии (наличие субпопуляции гемоцитов с повышенной ploидностью)

анализировали с помощью стандартной гистологической техники, как описано ранее (Ушева, Фролова, 2000). При гистологическом анализе наблюдалась массивная инфильтрация гемоцитами соединительной ткани, особенно в пространстве между ацинусами пищеварительной железы, а также в мантии и жабрах. Средний диаметр ядер неопластических гемоцитов находится в диапазоне 5.5–5.9 мкм, в то время как нормальные гемоциты имеют средний диаметр ядра 2.8–3.3 мкм. Морфометрические показатели атипичных гемоцитов отличаются у разных особей. Единичные митозы обнаружены среди неопластических гемоцитов почти у всех больных особей. С типом трансмиссивной неоплазии хорошо соотносится ploидность атипичных клеток: в образцах с VTN2 ploидность основного пика в диапазоне 4.55n–4.94n, в образцах с VTN1 ploидность основного пика меньше и находится в диапазоне 3.41n–3.98n. Кроме того, неопластические гемоциты мидий с VTN1 имеют несколько большее ядерно-цитоплазматическое отношение, чем неопластические клетки мидий с VTN2.

При иммуноцитохимическом окрашивании клеток гемолимфы на стеклах было обнаружено, что неопластические клетки обеих линий имеют округлую форму и множество тонких выростов с заходящими в них пучками актина, но эти выросты не образуют контактов с поверхностью стекла. В норме гемоциты образуют ламеллоподии, имеют многочисленные фокальные адгезионные контакты и могут иметь стрессфибриллы. В ядрах многих неопластических гемоцитов присутствует интенсивная PCNA-позитивная метка, в то время как в ядрах нормальных распластывающихся гемоцитов подобная метка полностью отсутствует. PCNA координирует многие реакции во время репликации или репарации ДНК (Tsurimoto, 1998). Хотя уровень PCNA напрямую и не отражает скорость деления клеток, известно, что клеточная трансформация сопровождается значительным увеличением количества PCNA (Garrels, Franza, 1989).

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ СИСТЕМ ДЕПОНИРОВАНИЯ И
ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ТЕТРОДОТОКСИНА У ЛИЧНОК И
ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ НЕМЕРТИН *CERHALOTHRIX SIMULA*.**

Малыкин Г. В., Мельникова Д. И., Веланский П. В., Магарламов Т. Ю.

Национальный научный центр морской биологии имени А. В.

Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток

e-mail: grinch95vl@mail.ru.

Тетродотоксин (ТТХ) – один из самых известных и изучаемых природных низкомолекулярных нейротоксинов, имеет высокую активность и широко распространен в водных экосистемах (Melnikova, Magarlamov, 2022). Несмотря на повышенный интерес научного сообщества и многолетние исследования особенностей накопления ТТХ в организме животных, многие аспекты, касающиеся функций и происхождения токсина, остаются неизвестными. Исследования локализации ТТХ у морских организмов помогают пролить свет на данные вопросы (Biessy et al., 2018; Tanu et al., 2004). В настоящей работе с помощью световой и электронной микроскопии, а также конфокальной лазерной сканирующей микроскопии проведен анализ изменений в клеточной локализации ТТХ у личинок высокотоксичной немертин *Cephalothrix simula* (тип Nemertea) на разных стадиях развития, а также сравнительный анализ ТТХ-содержащих структур у личинок и взрослых особей. Методом высокоэффективной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией исследована динамика токсификации животного на разных стадиях развития. У личинок ТТХ выявлен в желточных гранулах мезодермальных клеток и апикальном цилиндре – структурах, не присущих взрослым животным. Взрослые особи содержали токсин в органах, еще не сформировавшихся на личиночных стадиях – фронтальных железах, железистом эпителии хобота, фагосомах энтероцитов, мышечной стенке кровеносных сосудов и нейропиле. Экстракты взрослых особей *C. simula* содержали ТТХ и 7 его аналогов с их общей концентрацией 365.36 мкг/г массы тела для самцов и 496.07 мкг/г массы тела для самок. Доля отдельных токсинов различалась у разных полов, но более 90% содержания токсинов приходилось на ТТХ, 5-деоксиТТХ и 5,6,11-тридеоксиТТХ. Сперма и яйцеклетки немертин содержали пять токсинов, среди которых преобладали ТТХ и 5,6,11-тридеоксиТТХ. После оплодотворения и на последующих стадиях развития профиль и содержание токсинов у личинок не менялись и совпадали с таковыми в яйцеклетках. Количество секреторных желез, содержащих ТТХ, у личинок увеличивается от ранних к поздним срокам

развития. Полученные данные указывают на то, что морфологические структуры, позволяющие немертинам накапливать и удерживать ТТХ, закладываются уже на ранних этапах развития. На протяжении всего жизненного цикла *C. simula* содержит ТТХ, а также с самых ранних стадий развития способен его использовать в качестве оружия и защиты от хищников. Данные по профилю токсинов свидетельствуют о наличии специфических механизмов накопления различных аналогов ТТХ в половых продуктах немертин.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00464. Исследования, проведенные с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, выполнены на базе ЦКП «Приморский Океанариум».

ОКАЗАНИЕ ПРОФОРИЕНТАЦИОННОЙ ПОДДЕРЖКИ, ЧЕРЕЗ МАСТЕР-КЛАСС «Я-ТРЕНЕР» В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО ОКЕАНАРИУМА

Маслова М.Б.

*«Приморский океанариум» – филиал ННЦМБ ДВО РАН,
г. Владивосток, maslova-dvo@mail.ru*

Приморский океанариум выступает как широкоформатная площадка, предоставляющая новому поколению уникальные возможности для выбора направлений движения и дальнейшего развития своих талантов, умений и знаний. Ориентируясь на потребности школьников среднего и старшего звена, которые в недалёком будущем, встанут перед выбором профессии, в Приморском океанариуме реализуются эксклюзивные профориентационные мастер-классы эколого-биологической направленности. В частности в 2020 году был запущен мастер-класс «Я – тренер».

Занятие уникально тем, что охватывает несколько направлений профессиональной ориентации, даёт представления о работе тренера с дельфинами, рассматривает палеонтологические и исторические сведения, затрагивает ветеринарные, биологические и зоологические аспекты. Структура мастер-класса включает в себя 4 этапа: организационный, теоретический, практический этап, а также подведение итогов.

Теоретическая часть занятия проходит в учебной аудитории и экспозиции «Эволюция жизни в океане», в зале, посвященном Кайнозойской эре, а практическая – в Дельфинарии под руководством тренеров морских млекопитающих. Вторая часть включает в себя лекцию об особенностях профессии «тренер», освоение базового элемента (таргет) в работе с дельфинами и наблюдение за тренировочным процессом. Каждый этап мастер-класса наполнен разнообразными формами деятельности (лекции, тесты, игры, просмотр видео материала, квест).

Наличие выверенного и точного сценария, разнообразие способов подачи информации, использование интерактивных стендов, и главное — научное обоснование тем — всё это позволяет качественно раскрыть особенности морфологии, анатомии и физиологии дельфинов, а также познакомить обучающихся с несколькими направлениями этологии и биологии морских млекопитающих.

В задачи мастер-класса входит создание для участников условий, формирующих развитие творческого мышления, познавательной

активности, личностного самоопределения, положительной мотивации для выбора профессии, повышение уважительного отношения к морским млекопитающим путём устранения предрассудков и стереотипных ассоциаций о различиях между человеком и дельфином, а также о возможностях взаимодействия между нами.

Анализ полученных отзывов от участников мастер-класса даёт возможность оценить пользу полученных ими знаний, умений, эмоций и продолжать разработку новых профориентационных мастер-классов в этом направлении.

АНАЭРОКОНТУР ЧЕРНОГО МОРЯ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛОБАЛЬНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Мельников В. В.¹, Белокопытов В. Н²

¹*Институт биологии южных морей РАН им. А.О. Ковалевского, г. Севастополь, sevlin@rambler.ru*

²*Морской гидрофизический институт РАН, г. Севастополь*

Анаэроконтур – это недавно открытый биотоп субкислородного слоя Черного моря. Этот биотоп имеет две контактные зоны: верхнюю – субоксидную (σ_t 15,8) и нижнюю – анаэробную (σ_t 16.2). В результате антропогенной эвтрофикации и климатических изменений за последние 50 лет количество кислорода в глубинах Черного моря сократилось на 44%. Это привело к тому, что глубина проникновения кислорода уменьшилась со 140 м в 1955 г. до 90 м в 2013 г. (Carpet et al., 2015). Ранее считалось, что эти катастрофические изменения экосистемы начались под влиянием антропогенной эвтрофикации в 1980–1990 гг., которая привела к потоку органики в глубины моря и на окисление которой потребовался дополнительный кислород (Konovalov et al., 2003, 2005, 2006). Затем пик эвтрофикации прошел, но стремительная деоксигенации глубин Черного моря не остановилась и продолжается в наши дни (Видничук, Коновалов, 2021). В недавней работе «Динамика кислорода в основном пикноклине Черного моря» (Масевич, 2022) впервые показано, что в результате изменения климата процесс деоксигенации глубин Чёрного моря в последние два десятилетия вступил в новую фазу, когда уже не биогеохимические процессы (как это было в 1980–1990 гг.) определяют дефицит кислорода в глубинах моря, а преимущественно физические. Несмотря на снижение уровня трофности вод в последние годы, регистрируется никогда прежде не наблюдавшийся интенсивный прогрев, а также распреснение вод верхней части основного пикноклина (Полонский и др., 2013; Белокопытов, 2017). Это увеличило вертикальный градиент плотности, в результате чего произошло значительное сокращение потока кислорода в глубины моря (Масевич, 2022). Уменьшение этого потока кислорода имеет важное значение для жизни в Черном море, основу трофического базиса которого составляют холодноводные виды копепод, концентрирующиеся у субаэробной контактной зоны. Это должно влиять на их жизненные циклы, популяционную структуру и межпопуляционные взаимоотношения. Биотопом пелагических гидробионтов является не весь водоем, а только его определенный слой и подъем этого слоя, например, на 50 м вверх представляет собой

хорическое изменение структуры вод (Безносков, 2000), часто губительное для населения водоема. Исследуя динамику изменений вертикального положения изопикны 15,8 мы использовали для расчетов многолетней динамики верхней границы анаэроконтура (рис. 1 а) непрерывный массив летних (июнь – август) данных по плотности воды за период с 1957 по 2021 гг. (6000 станций) в западной халистазе. Расчёты показали, что на протяжении всего периода наблюдений положение этой изопикны характеризуется положительным трендом. В 1959 г. ее среднее положение соответствовало глубине 124 м (с.к.о. 11.9). В 1982 г. верхняя граница анаэроконтура поднялась до глубины 91 м (с.к.о. 18.6), т.е. почти на 33 м вверх по сравнению с 1959 г. В наше время верхняя граница анаэроконтура в западной халистазе находится на глубине 79 м (с.к.о. 10.0), а это уже почти на 50 м выше, того, что наблюдалось в 1959 г. Расчет перспективных изменений положения плотностного положения верхней границы анаэроконтура, выполненный до 2050 г., показал, что процесс ее подъема может продолжиться, и через 25 лет субаэробная контактная зона может подняться еще на 9 метров вверх. Это может привести к катастрофическим изменениям условий для жизни холодноводного комплекса бореальных реликтов Атлантики.

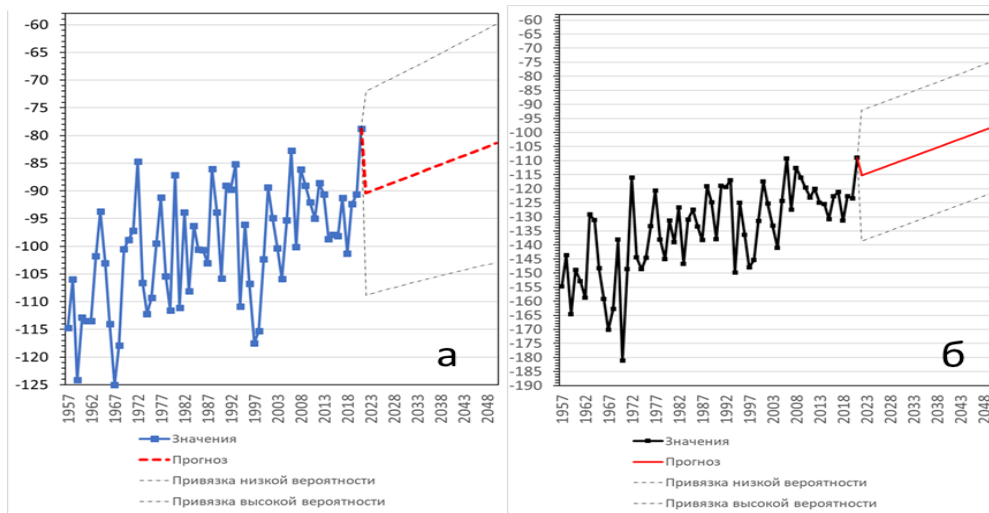


Рис. 1. Перспективные изменения границ анаэроконтура Черного моря

Аналогичным образом изменится плотностной положение (σ_t 15.2) аэробной контактной зоны. В 1959 г. ее среднее положение соответствовало глубине 164 м (с.к.о. 25.6); в 1982 г. она поднялась до глубины 126 м (с.к.о. 21.0), то есть почти на 30 м вверх по сравнению с 1957 г. В 1988 г. нижняя граница анаэроконтура поднялась до глубины 119 м (с.к.о. 12.0), следовательно, уже на 35 м вверх. Расчет

перспективных изменений положения нижней границы анаэроконтура до 2050 г. (рис. 1 б) показал, что тенденция ее подъёма может сохраниться, и тогда через 25 лет сероводородная зона поднимется еще на 15 метров вверх и будет находиться уже в 100 м от поверхности. Верхняя граница анаэроконтура соответствует также изооксигене 0.2 мл/л, у которой регистрируются сверхплотные скопления мигрирующего зоопланктона, который опускается сюда во время суточных вертикальных миграций и находится здесь в диапаузе. Эти виды зоопланктона относятся к бореальным реликтам последнего оледенения и поэтому подъем анаэроконтура к поверхности может привести их к вымиранию. Холодноводные копеподы составляют основу кормового зоопланктона Черного моря, и поэтому дальнейшая деоксигенация и нагревание среды их обитания на фоне распреснения верхних слоев моря может вызвать каскадные изменения всей существующей экосистемы Черного моря.

Работа выполнена по темам 121041400077-1 «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом» и 0827-2018-0003 «Фундаментальные исследования океанологических процессов, определяющих состояние и эволюцию морской среды под влиянием естественных и антропогенных факторов, на основе методов наблюдения и моделирования».

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК КРОВИ БЕЛУХИ
DELPHINAPTERUS LEUCAS (PALLAS, 1776)**

Мищенко П. В.¹, Щербакова Е. А.¹, Ячмень В. А.¹

*¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, Владивосток 690041, nscmb@mail.ru*

Цитологическое исследование крови представляет собой оценку морфологической структуры клеточных элементов и является легкодоступным диагностическим методом для определения физиологического состояния организма. Цитоморфологические особенности клеток крови описаны для наземных млекопитающих и на их основе созданы хорошо иллюстрированные ветеринарные атласы, где отображены нормальные и патологические формы клеток крови животных. Однако для морских млекопитающих такая информация в открытых источниках крайне ограничена. Поэтому в данной работе мы приводим результаты изучения морфологии клеток крови белухи *Delphinapterus leucas* (Monodontidae). Исследование мазков периферической крови, полученных в ходе ежемесячной диспансеризации с 2019 по 2022 год, проведено на восьми белухах, содержащихся в Приморском океанариуме – филиале ННЦМБ ДВО РАН. Образцы крови собирали при помощи катетеров-бабочек (размер: 0.80 × 19 мм, 21G) и шприцов на 10 мл в пробирки с ЭДТА из вены хвостового плавника и передавали в клиническую лабораторию Приморского океанариума для последующего анализа. Препараты мазков крови окрашивали бриллиантовым крезиловым синим, метиленовым синим и стандартным методом по Романовскому-Гимза. Готовые препараты изучали под микроскопом Carl Zeiss Axio Scope.A1 с использованием цифровой камеры AxioCam 105 Color и программы ZEN 2.3. Исследование морфологии клеток осуществляли при увеличении объектива 100x с масляной иммерсией (Immersol 518 N; Zeiss). Диаметр клетки в программе ZEN 2.3 измеряли с помощью инструмента “Length” вручную на готовом изображении.

В данной работе представлены результаты исследования морфологии и морфометрии всех клеток крови, присущих млекопитающим: эритроцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов, а также редко встречающихся базофилов. Результаты исследования предоставляют исходные данные для использования в мониторинге физиологического состояния и диагностике ранних стадий патологических процессов у морских млекопитающих.

Работа выполнена на базе Центра коллективного пользования «Приморский океанариум» (г. Владивосток).

ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК РАЗНЫХ ТКАНЕЙ АМФИПОД И СРАВНЕНИЕ ИХ ВЫЖИВАЕМОСТИ С РЕАКЦИЕЙ НА ОРГАНИЗМЕННОМ УРОВНЕ

Назарова А. А., Седова С. С., Гурков А. Н., Шатилина Ж. М.,
Тимофеев М. А.

НИИ биологии Иркутского государственного университета, г.
Иркутск, annazarova1995@gmail.com

Амфиподы – это один из самых разнообразных отрядов ракообразных, представители которого распространены по всему миру и обитают в морских, океанических и континентальных экосистемах. Амфиподы играют важную роль в солоноводных и пресноводных сообществах, так как имеют большую биомассу и выступают в качестве кормовой базы для других трофических уровней экосистемы. Кроме того, амфиподам принадлежит заметная роль в переработке детрита, что также важно для передачи энергии в биосфере (Glazier et al., 2014; Best and Stachowicz, 2014). В связи с глобальными климатическими изменениями, всё более актуальной темой исследований становится влияние повышенных температур на амфипод.

Первичные культуры клеток – важная тестовая система, позволяющая изучить различия между ответными реакциями разных тканей на факторы среды и то, какую роль эти различия играют в адаптивности всего организма. Несмотря на значимость амфипод для разных экосистем, работ по получению клеточных культур этих организмов практически не проводилось, как и изучения влияния температуры на выживаемость клеток из разных тканей.

Цель данной работы – сравнение влияния повышенных температур на целый организм амфипод и разные его ткани на примере голарктических амфипод *Gammarus lacustris* и байкальского эндемичного *Eulimnogammarus verrucosus*.

Протестированы процедуры выделения следующих типов клеток: мышечная ткань, клетки гепатопанкреаса и яичников, гемоциты и эмбриональные клетки. Наиболее высокую выживаемость клеток после выделения и содержания в течение суток наблюдали у гемоцитов и клеток гепатопанкреаса. Были подобраны протоколы выделения и содержания данных клеток, при которых выживаемость клеток гепатопанкреаса через сутки не падает ниже 80%, а гемоцитов – ниже 90%, что позволяет использовать их в дальнейшей работе *in vitro*.

Из предыдущих работ известно, что летние максимальные температуры в литорали озера Байкал могут достигать 18–18.5°C

(Liraeva et al., 2021). Вылов животных проводили в осенний период, когда у амфипод *E. verrucosus* наблюдается сезон размножения, а у *G. lacustris* происходит подготовка к зимней гибернации. Акклимацию контрольной группы животных проводили при температуре 6°C, а экспериментальной – при повышении температуры на 1°C в сутки до 18°C. После этого амфипод параллельно содержали при 6°C и 18°C в течение 26 сут. После завершения экспозиции получали первичные культуры гемоцитов и клеток гепатопанкреаса. Содержание клеток проводили при соответствующих температурах акклимации организма. Через сутки инкубации оценивали выживаемость клеток окрашиванием йодистым пропидием.

Выживаемость амфипод *E. verrucosus* при 18°C существенно не снижалась по сравнению с 6°C. В то же время, выживаемость амфипод *G. lacustris* снижалась при 18°C и к концу экспозиции составляла менее 10%, хотя при 6°C выживаемость сохранялась на уровне 90%. Выживаемость гемоцитов *E. verrucosus* через сутки инкубации при 18°C была статистически значимо ниже, чем при 6°C, тогда как клетки гепатопанкреаса *E. verrucosus* оказались более устойчивыми к температурному стрессу. Показано, что гемоциты *G. lacustris* выживали лучше при повышении температуры, а клетки гепатопанкреаса значительно снижали свою выживаемость. Данные, полученные по выживаемости клеток, согласуются с выживаемостью целого организма. Вероятно, выживаемость *G. lacustris* в условиях повышенных температур снижается, в том числе, из-за чувствительности клеток гепатопанкреаса.

Таким образом, с применением метода первичных культур клеток удалось показать различия в выживаемости разных тканей организма в ответ на их инкубацию при повышенной температуре, что говорит о возможной тканевой специфичности в чувствительности клеток к гипертермическим условиям у обоих видов амфипод.

Исследование было выполнено при поддержке гранта РФФ № 23-14-00165.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДВУХ ВИДОВ ФОРОНИД:
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО *PHORONOPSIS HARMERI* И
АМЕРИКАНСКОГО *PHORONOPSIS VIRIDIS* И ПРОБЛЕМА
ТАКСОНОМИИ ТИПА**

Неклюдов Б. В., Темерева Е. Н.

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
borisnekl@yandex.ru, temereva@mail.ru*

Форониды – небольшой тип морских беспозвоночных, насчитывающий всего 15 видов, большинство из которых имеет всесветное распространение. Форониды доминируют во многих морских сообществах, образуя скопления большой плотности, являются видами-эдификаторами и играют важную роль в экосистемах Мирового Океана.

Внешняя морфология форонид бедна признаками и для точной идентификации видов необходимо получить полные серии гистологических срезов и построить трехмерную реконструкцию некоторых внутренних органов. Поскольку в большинстве случаев такая работа не проводится, то определение видов форонид, обнаруженных в ходе гидробиологических работ, если и дается, то очень условно. Однако, если такие морфологические работы проводить, то становится понятным, что большинство находок форонид из ранее не обследованных акваторий являются новыми для науки видами. Другая проблема таксономии форонид – это масштабная синонимизация видов, которая во многих случаях является очень спорной, поскольку существенно повышает вариабельность видовых определительных признаков. Еще одной важной составляющей вопроса таксономии форонид является описание видов по их личиночным стадиям – актинотрохам. К настоящему времени описано более 50 личиночных «видов», что свидетельствует о существовании еще неописанных видов взрослых форонид.

Самый массовый вид дальневосточных морей России – *Phoronopsis harmeri* Pixell, 1912 был впервые описан из залива Депарчер, побережье Британской Колумбии, Канада. В настоящее время этот вид отмечен у берегов Австралии, Индокитая, в акватории Атлантического океана. *Phoronopsis harmeri* имеет несколько синонимичных названий, в том числе его младшим синонимом является вид *Phoronopsis viridis* Hilton, 1930, описанный по образцам из прибрежных вод Калифорнии. Такой широкий ареал неизбежно должен вести к изолированию отдельных удаленных популяций, что в свою очередь ведет к появлению и морфолого-анатомических, и молекулярно-генетических различий.

Настоящая работа посвящена изучению анатомии и последовательностей некоторых генов у двух популяций *Phoronopsis harmeri*: (1) из залива Восток Японского моря и (2) из Фрайди Харбор (тихоокеанское побережье Северной Америки). Морфологические исследования, выполненные с использованием методов световой микроскопии, микроскопической техники и 3D визуализации, позволили детально описать строение систем органов, важных для видовой идентификации, а так же выявить новые особенности гистологического строения у особей из обеих популяций. Для молекулярно-генетического анализа были исследованы последовательности генов 18S и 28S рРНК и COX1, полученные нами из образцов *Phoronopsis harmeri* / *viridis* из указанных локаций, а так же взятые из генбанка и принадлежащие особям этих двух видов из разных акваторий Мирового Океана. Полученные данные позволяют поднять вопрос о возможной ревалидизации *Phoronopsis viridis*. Этот результат свидетельствует о необходимости дальнейших детальных исследований различий между представителями разных популяций форонид с целью разработки новых подходов к таксономии группы. Работа выполнена при поддержке РФФ (№23-14-00020).

**ПРОДУКЦИЯ ДИАДИНОКСАНТИНА В ИНТЕНСИВНОЙ
КУЛЬТУРЕ
ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *CYLINDROTHECA CLOSTERIUM*
(EHRENB.) REIMANN ET LEWIN. И ЕГО
ПРОАПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

Нехорошев М. В., Железнова С. Н., Геворгиз Р. Г.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г.

Севастополь

zheleznovasveta@yandex.ru

Морская диатомовая водоросль *Cylindrotheca closterium* – источник целого ряда биологически активных веществ, которые представляют большой интерес для современной медицины и биотехнологии (De la Cuesta et al., 2009). Особый интерес вызывают каротиноиды морского генезиса. Например, фукоксантин (Fх), уникальный каротиноид с алленовой связью проявляет высокую противоопухолевую активность (Méresse et al., 2020), а также цитотоксическую активность по отношению к клеткам рака простаты PC-3, DU145 и LNCap (Jaswir et al., 2019). Доля Fх в биомассе *C. closterium* достигает 2% от сухой массы, технология его получения в интенсивной культуре микроводорослей, как правило, основана на двухстадийном накопительном культивировании (Gevorgizet et al., 2016): на первом этапе культивирования (экспоненциальная фаза роста) происходит накопление биомассы, а на втором (стационарная фаза роста) – биосинтез Fх. Известно, что Fх является побочным продуктом диадиноксантинового цикла у диатомовых водорослей (Kuczynska et al., 2015). Именно при неблагоприятных условиях окружающей среды из диадиноксантина (Ddx) синтезируется Fх, что обуславливает накопление Ddx в экспоненциальной фазе, а Fх в стационарной фазе роста. Такая физиологическая особенность диатомовых водорослей дает возможность при разработке промышленной технологии получения Ddx исключить этап создания стрессовых условий, что в значительной мере упрощает и удешевляет процесс. Несмотря на достаточно большое количество публикаций, посвященных исследованию проапоптотической активности каротиноидов морских организмов (Jin et al., 2018; Kim et al., 2010), данные об активности Ddx в литературе до сих пор отсутствуют.

Цель работы – изучение продукции Ddx в интенсивной культуре диатомовой водоросли *C. closterium* и оценка цитостатического эффекта Ddx методами молекулярного моделирования, а также на культурах опухолевых клеток человека. В эксперименте накопительная культура *C.*

closterium характеризовалась достаточно высокими продукционными показателями. Лаг-фаза практически отсутствовала, экспоненциальная фаза роста длилась 5 сут, стационарная фаза роста – с 5 по 11 сут, после чего культура переходила в фазу отмирания (рис. 1а). В экспоненциальной фазе роста в биомассе *C. closterium* наблюдалось накопление преимущественно Ddx, к концу стационарной фазы роста накапливался Fx (рис. 1б). Средняя скорость биосинтеза Ddx в экспоненциальной фазе роста составила 1,22 мг/(л·сут). За все время накопительного культивирования средняя скорость биосинтеза Fx составила 0,636 мг/(л сут). Таким образом, очевидно, что получение Ddx на основе накопительной культуры *C. closterium* занимает вдвое меньше времени, чем Fx. Кроме того, поскольку накопление Ddx наблюдалось именно в активно растущей культуре, еще больший выход в единицу времени возможен в проточной культуре, например, хемостате. В проточной культуре скорость биосинтеза Ddx превышает среднюю скорость биосинтеза Ddx в накопительной культуре в 7,5 раз, а Fx – в 14 раз. В дальнейшем была проведена оценка проапоптотической активности Ddx и Fx. Эксперименты на клетках, а также анализ тематических публикаций показал наличие проапоптотических процессов, индуцируемых Fx и его метаболитами (Jin et al., 2018; Kim et al., 2010).

Проведенный нами эксперимент по изучению цитостатического эффекта Ddx и Fx с культурами клеток OVCAR5, OVCAR8, KURAMOCHI и OVSAHO (Серозная аденокарцинома яичников с вариантами мутаций в ERBB2/p53/KRAS) показал, что для соединения Ddx величина IC50 достигалась при концентрации >100 мкМ (рис. 2а). Результаты анализа жизнеспособности клеточных линий рака яичников показали, что Fx проявлял цитостатическое действие с IC50 в пределах 18,75 мкМ (рис. 2б). Этот эффект воспроизводился во всех протестированных клеточных линиях. Ddx снижал жизнеспособность клеток на 40% только при наивысшей протестированной концентрации (100 мкМ). В то время как эффект от воздействия Fx более выражен уже в диапазоне физиологических концентраций, а токсический ответ был достигнут при концентрации 18,75 мкМ. Клеточная линия OVCAR4 показала самую высокую чувствительность к Fx и Ddx среди протестированных клеточных линий (рис. 2б).

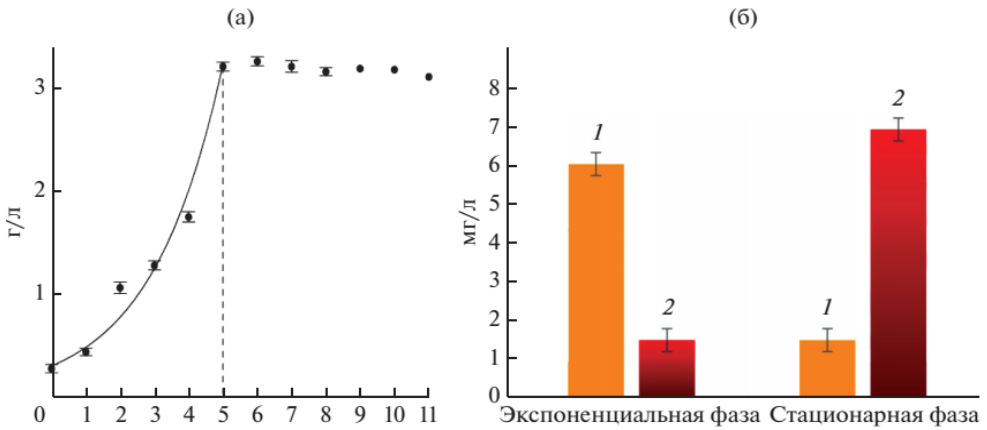


Рис.1. Динамика плотности накопительной культуры *C. closterium* в эксперименте; (б) – концентрация диадиноксантина (1) и фукоксантина (2) в экспоненциальной и стационарной фазах роста.

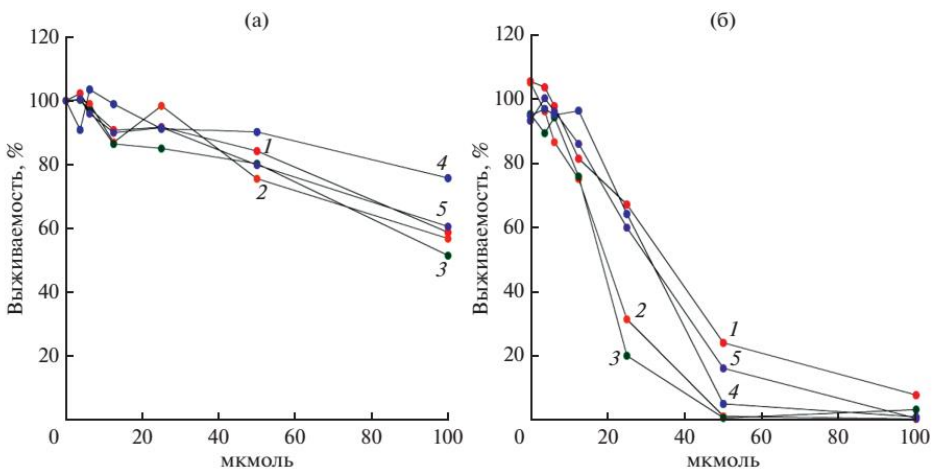


Рис. 2. Цитостатический эффект диадиноксантина (а) и фукоксантина (б) на клеточных линиях: 1 – KURAMOCHI; 2 – HEK293; 3 – OVCAR4; 4 – OVCAR8; 5 – OVSAHO.

Таким образом, можно сделать вывод, что по результатам как вычислительного эксперимента, так и эксперимента с культурами клеток диадиноксантин демонстрирует более низкую активность по сравнению с фукоксантином (более чем в 4 раза). Величина IC 50 диадиноксантина достигалась при >100 мкМ, в то время как фукоксантин проявлял цитостатическое действие в пределах 18,75 мкМ. В проточной культуре *Cylindrotheca closterium* продукция диадиноксантина может превышать продукцию фукоксантина в 14 раз, что может сделать технологию его

получения менее затратной и существенно снизить себестоимость лечебно-профилактических препаратов на основе микроводорослей.

**ПОИСК И ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ ЭКСПРЕССИИ
ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ
РЕГЕНЕРАЦИЮ ПРОДОЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ ЛЕНТЫ У
ГОЛОТУРИИ *EUPENTACTA FRAUDATRIX* (D'YAKONOV &
BARANOVA IN D'YAKONOV, BARANOVA & SAVEL'eva, 1958)**

Нижниченко В. А., Бойко А. В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток, ivanov@mail.ru*

Голотурия *Eupentacta fraudatrix* способна полностью восстанавливать целостность скелетных мышц после их поперечного рассечения. Несмотря на то, что регенерация этих структур хорошо изучена на клеточном уровне, молекулярная основа этого процесса остается неясной. Для того, чтобы выявить гены с изменяющейся экспрессией во время регенерации, мы провели секвенирование транскриптомов амбулакральных структур *E. fraudatrix*, включая продольную мышечную ленту (ПМЛ) в норме и после повреждения. Мы сфокусировались на транскрипционных факторах (ТФ) – генах, играющих ключевую роль в регенерации. С помощью анализа дифференциальной экспрессии генов выявлено шесть ТФ: *Ef-HOX5*, *Ef-ZEB2*, *Ef-RARB*, *Ef-RUNX1*, *Ef-SOX17*, *Ef-ZNF318*. Каждый из них, кроме *Ef-ZNF318*, вовлечен в развитие и регенерацию мышц у других животных. Для установления локализации этих ТФ в тканях *E. fraudatrix*, использован метод гибридизация *in situ* на срезах (SISH). В результате, установлена локализация всех изученных ТФ в ПМЛ. Мы предполагаем, что найденные ТФ могут быть вовлечены в регенерацию ПМЛ у голотурий.

СТРОЕНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ *TURTONIA MINUTA* – ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА С ПРЯМЫМ РАЗВИТИЕМ

Никищенко В. Е., Дячук В. А.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток,
niktori2000@gmail.com, slavad83@gmail.com*

Благодаря эволюционной пластичности и способности приспосабливаться к различным условиям окружающей среды представители класса двустворчатых моллюсков (*Bivalvia*) широко распространены во многих водоемах.

Для двустворчатых моллюсков характерна стратегия непрямого развития, включающая планктотрофные пелагические стадии. На стадии велигера личинка выходит в планктон, а на стадии педивелигера, который способен как к плаванию в толще воды, так и к передвижению по субстрату, происходит метаморфоз, в ходе которого личинка оседает, утрачивая ряд личиночных органов и обретая дефинитивные, и становится ювенильным моллюском. Однако у двустворчатых моллюсков встречается и прямое развитие, что является относительной редкостью среди *Bivalvia* (Касьянов, 1984).

В заливе Петра Великого в прибрежной зоне обитает двустворчатый моллюск туртония маленькая *Turtonia minuta* (O. Fabricius, 1780) из семейства *Veneridae* (Ockelmann, 1964), в его жизненном цикле пелагические стадии отсутствуют, эмбрионы развиваются в капсулах вплоть до метаморфоза (Oldfield, 1955; Ockelmann, 1964; Матвеева, 1976). Цель нашего исследования – описание эмбриональной нейроморфологии *T. minuta* и обнаружение связей между особенностями строения нервной системы и прямым развитием.

Маркирование нервной системы эмбрионов туртонии проводили методом непрямой иммуноцитохимии путем инкубации эмбрионов моноклональными первичными антителами козы, кролика и мыши против серотонина, FMRF-амида и α -ацетилированного тубулина соответственно, а также последующей инкубации со вторичными антителами осла с флюорофорами против козы (555 нм), кролика (488 нм) и мыши (647 нм).

Показано, что нервная система эмбриона туртонии представлена 4-мя парами ганглиев: церебральными, плевральными, pedalными и висцеральными. Все ганглии проявляют иммунопозитивную реакцию на

FMRF-амид, и только церебральные и педальные иммунопозитивны еще и на серотонин. Центральная нервная система (ЦНС) имеет тетранейральное строение, ганглии соединяются друг с другом двумя парами нервных тяжей: латеральными (плевро-висцеральные коннективы) и вентральными (плевро-педальные коннективы). Показано, что коннективы ганглиев эмбриона туртонии проявляют двойную иммунопозитивность на FMRF-амид и серотонин. У эмбриона туртонии обнаружен апикальный орган, он серотонин-иммунопозитивен и локализуется около церебрального ганглия, как и у велигера при непрямом развитии. Количество элементов периферической нервной системы (ПНС) относительно невелико: в зачаточной ноге обнаружены педальные нервы, ассоциированные с педальными ганглиями. От педальных ганглиев в сторону висцеральных ганглиев отходят FMRF-амид-положительные нейриты, которые соединяются с круглыми нервными клетками, не доходя до самого висцерального ганглия. При этом наблюдается отсутствие таких элементов ПНС, как иннервация велюма, передних и задних мышечных аддукторов, пищеварительной системы и паллиальных нейритов висцеральных ганглиев, которые имеются у велигеров двустворчатых моллюсков с непрямым развитием.

Важная структура, присущая только личиночным стадиям трохозойных животных (двустворчатых моллюсков в том числе) – это апикальный орган, выполняющий ряд функций, регулирующих такие аспекты жизни и физиологии личинки, как поведение и питание в ответ на внешние стимулы, а также двигательную активность велюма и личиночных мышечных аддукторов (Wanninger, 2008). Апикальный орган эмбриона туртонии может не регулировать движение и поведение, но выполнять функцию управления нейрогенезом. Важно отметить, что поскольку у эмбриона туртонии отсутствует необходимость передвижения и поиска пищи, регулирующие эти функции нейроструктуры, присущие планктотрофным личинкам, редуцируются: ряд структур ПНС, ассоциированных с церебральными, плевральными и висцеральными ганглиями.

Таким образом, впервые описана нервная система эмбриона *Turtonia minuta*, двустворчатого моллюска с прямым развитием, и выявлены морфологические особенности строения нервной системы, связанные с таким типом развития.

Исследование поддержано Российским научным фондом (грант № 21-74-30004).

ЭВОЛЮЦИОННАЯ МОРФОЛОГИЯ КОНЕЧНОГО МОЗГА ХРЯЩЕВЫХ РЫБ

Обухов Д. К.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, dkobukhov@yandex.ru

Конечный мозг рассматривается как наиболее сложная структура в ЦНС позвоночных животных, достигая своего максимального развития у высших позвоночных и человека. При этом считалось, что у низших позвоночных животных в полушариях конечного мозга еще не формируется настоящая кортикальная пластинка – предшественник неокортекса высших позвоночных. Согласно теории критических этапов в эволюции головного мозга позвоночных, считалось, что в процессе эволюции позвоночных в их ЦНС происходил процесс перемещения высших центров координации работы всей нервной системы из низших (стволовых) отделов головного мозга в высшие (передний мозг) – т.н. телэнцефализация (Карамян, 1979). При этом рыбы, как хрящевые, так и костные, рассматривались как группы позвоночных животных, имеющие низкий уровень морфофункциональной организации конечного мозга. В сообщении приводятся данные, свидетельствующие о том, что в процессе параллельной и независимой эволюции в классе хрящевых рыб в конечном мозге развились кортикальные структуры, сходные в морфофункциональном отношении с неокортикальными структурами мозга высших позвоночных животных.

С помощью анатомических, нейрористологических (окраска по Нисслию и Гольджи), электронно-микроскопических и гистохимических методов исследовали структуру дорсальных (кортикальных) отделов полушарий конечного мозга нескольких видов современных акул: акула сельдевая атлантическая *Lamna nasus* Bon.; акула сельдевая тихоокеанская *Lamna ditropis* Hub.; акула кошачья *Scyliorhinus canicula* L.; акула голубая *Prionace glauca* L.; катран черноморский *Squalus acanthias* L.; акула полярная *Somniosus microcephalus* Bl.; Первое, что обращает на себя внимание – очень высокий индекс телэнцефализации, достигающий у голубой акулы 45%, полярной акулы – 53%, сельдевой акулы – 47%. (Рис. 1А).

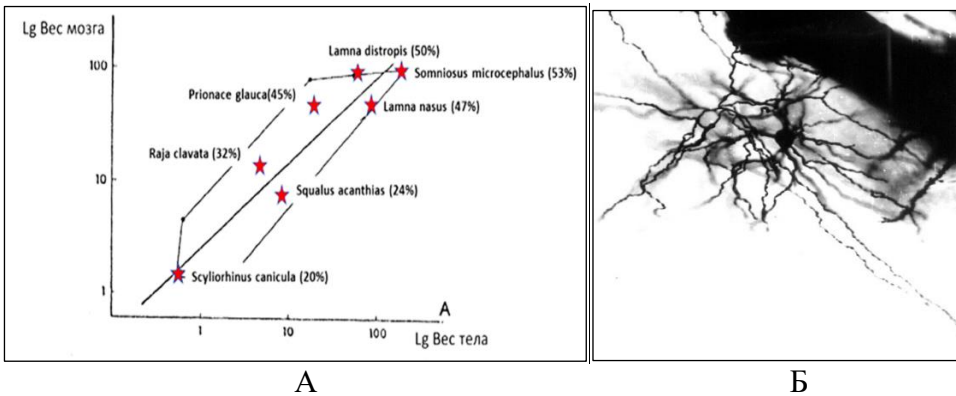


Рис. 1. Полигон энцефализации (А) ряда видов хрящевых рыб (звездочки) с указанием индекса их конечного мозга (в скобках) и фотография (Б) высокодифференцированного короткоаксонного бесшипикового звездчатого нейрона в кортикальной пластинке паллиума конечного мозга акулы *Squalus acanthias* L. Обработка по методу хром-серебрянной импрегнации по Гольджи. (Обухов, Андреева, 2019; Обухов, 2022).

Эти значения значительно выше аналогичных показателей у представителей других классов позвоночных и сравнимы с таковыми у млекопитающих, что свидетельствует о высоком уровне общей организации ЦНС хрящевых рыб.

Цитоархитектонический анализ структуры дорсальных (кортикальных) отделов полушарий хрящевых рыб показал наличие в дорсальной области полушарий у некоторых акул аналога кортикальной пластинки (неокортекса?) высших позвоночных животных. Ничего подобного нет у костных рыб, амфибий и большинства рептилий. Для нейронного состава кортикальной пластинки ряда акул также характерен чрезвычайно высокий уровень дифференцировки. В ее составе обнаружены типичные пирамидные нейроны, апикальные дендриты которых формируют пучки из 3–5 дендритов, сходные с дендритными пучками пирамид в микроколонках кортикальных модулей неокортекса млекопитающих. Особенно удивительно присутствие в кортикальной пластинке большого количества высокодифференцированных короткоаксонных бесшипиковых звездчатых нейронов (рис. 1Б). Их появление в эволюции ЦНС рассматривается как важный признак прогрессивной дифференцировки структур мозга.

Ультраструктурный анализ показал присутствие в этих пучках системы электротонических синапсов. Важным признаком высокого уровня нейронной организации мозга акул является наличие шипиков на дендритах их нейронов (впервые появляющихся у черепах). Гистохимически в паллиуме акул обнаружено большое количество ГАМК и глутаматэргических синапсов, что опять же наиболее характерно для неокортекса млекопитающих. У акул отмечается высокий уровень миелинизации аксонных систем мозга, что отличает их

от других низших позвоночных животных, где уровень миелинизации низкий (Обухов,1983; Smeets,1990; Rotenstein et al.,2009). Ранее показано, что по биохимическому составу нейрональных мембран акулы сходны с таковым у млекопитающих, особенно это касается ганглиозидов – нейроспецифических гликолипидов, качественный и количественный состав которых во многом определяет функциональные свойства нейрона (Крепс, 1984).

Сравнительная таблица особенностей морфофункциональной организации конечного мозга и его кортикальных структур у позвоночных животных (по данным разных авторов)

| | Хрящевые рыбы | Костные рыбы | Млекопитающие |
|---|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Морфологические особенности | | | |
| Индексы энцефализации и телэнцефализации | высокие | низкие | высокие |
| Наличие кортикальной пластинки в дорсальной области полушарий | есть | нет | есть |
| Миелинизация трактов | высокая | низкая | высокая |
| Наличие сложных форм нейронов | есть | нет | есть |
| Функциональные особенности | | | |
| Проекция анализаторных систем в структурах конечного мозга | Представлены все системы | Ограничены (в основном обонянием) | Представлены все системы |
| Наличие прямых таламо-кортикальных проекций | есть | намечаются | есть |
| Наличие прямых кортико-спинальных трактов | есть | нет | есть |
| Сложные формы поведения | есть | средние | есть |
| Наличие сложных фосфолипидов | есть | нет | есть |

Высокий уровень морфологической организации паллиума ряда акул коррелирует с уровнем функциональной организации их мозга и сложным поведением. В полушариях отмечены проекции всех анализаторных систем и сформированы прямые таламо-кортикальные и кортико-спинальные тракты.

Формирование у ряда видов хрящевых рыб в ЦНС структур, сходных по уровню морфофункциональной организации с высшими позвоночными животными есть проявление эволюционного феномена **«филогенетического опережения»**. Это явление в эволюции связано с появлением у представителей группы животных признаков, выходящих за рамки «типовых, средних характеристик» группы, что свидетельствует о мозаичном характере эволюции позвоночных животных (Берг, 1977, Воробьева, 1980, 1992). Также эти данные являются ярким подтверждением одного из выводов теории параллелизма тканевых систем акад. А. А. Заварзина, который говорит о возможности формирования в филогенетически различных группах животных сходных в морфофункциональном отношении тканевых систем, в данном случае – неокортикальных формаций в полушариях конечного мозга акул и млекопитающих.

БАНДИТЫ С ЧУЛКОМ НА ГОЛОВЕ ИЛИ ЗАКРЫТЫЙ ЭПИЦЕЛЛЮЛЯРНЫЙ ПАРАЗИТИЗМ У СПОРОВИКОВ (APICOMPLEXA)

Паскерова Г. Г.¹

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, gitapasker@yahoo.com, g.paskerova@spbu.ru

Эпицеллюлярный паразитизм – внеклеточное развитие паразита, прикрепленного к ткани хозяина – характерен для споровиков (Sporozoa, Apicomplexa; по Simdyanov et al., 2018) разных филогенетических линий. Специализированный аппарат прикрепления к поверхности клетки хозяина, которым обладают грегарины и бластогрегарины (паразиты беспозвоночных животных), может служить еще и питающей органеллой (Paskerova et al., 2018, 2021; Simdyanov et al., 2018). Криптоспоридии (паразиты позвоночных животных, включая человека) также обладают органеллой, служащей для прикрепления к клетке хозяина и питания. Грегарины образуют специализированный контакт между поверхностью своего прикрепительного аппарата и мембраной клетки хозяина. В отличие от них, криптоспоридии пенетрируют клетку-мишень, так что в месте контакта образуется сайт слияния мембран паразита и клетки хозяина. Подобно грегаринам и криптоспоридиям, протококцидии рода *Eleutheroschizon* (паразиты полихет) имеют сложно организованный аппарат прикрепления, который увеличивает поверхность контакта паразита и клетки хозяина. Однако, как и грегарины, протококцидии не пенетрируют клетку хозяина, и слияния цитоплазмы двух контактирующих клеток, как это наблюдается в случае криптоспоридий, не происходит (Valigurová et al. 2015).

Грегарины, эпицеллюлярно прикрепленные к тканям хозяина, обычно не окружены никакими мембранными образованиями. Криптоспоридии и протококцидии развиваются под защитой паразитофорного мешка, сформированного клеткой хозяина из слившихся микроворсинок на ее апикальной поверхности. Стенка паразитофорного мешка представляет собой слой цитоплазмы между двумя мембранами (наружной и внутренней), которые являются продолжениями плазмалеммы клетки хозяина. Паразитофорный мешок может иметь поры для связи с внутренней средой хозяина. Таким образом, паразитофорный мешок представляет собой закрытую нишу для развития эпицеллюлярно прикрепленного паразита, которая, с одной стороны, защищает паразита от агрессивной внутренней среды хозяина, а с другой стороны, осуществляет связь паразита с этой средой через

поры (Valigurová et al., 2015). Образно говоря, криптоспоридии и протококцидии ведут себя как бандиты с чулком на голове: их не опознает иммунная система хозяина, но сами они получают нужные им информацию и питательные вещества.

Некоторые кокцидии демонстрируют подобие эпицеллюлярной локализации среди микроворсинок клеток кишечника или почек рыб (*Eimeria*, *Goussia*) и рептилий (*Choleoeimeria*, *Acroeimeria*), когда по мере развития в хозяине меняют внутриклеточное расположение на внеклеточное. Вокруг таких паразитов формируется паразитофорная ниша, образованная за счет слияния микроворсинок, наподобие того, как это происходит вокруг криптоспоридий и протококцидий в хозяине (Valigurová et al., 2015). Однако такие кокцидии не имеют выраженной полярности клетки в отличие от тех же криптоспоридий и протококцидий. Их внеклеточное расположение вторично и не может считаться истинным эпицеллюлярным, а скорее, псевдоэпицеллюлярным.

Таким образом, среди споровиков встречаются следующие варианты эпицеллюлярной локализации: без формирования паразитофорной ниши вокруг паразита – открытый эпицеллюлярный паразитизм (грегарины и бластогрегарины), с формированием паразитофорной ниши вокруг паразита – закрытый эпицеллюлярный паразитизм (криптоспоридии и протококцидии). Если открытый эпицеллюлярный паразитизм предполагается как исходный для споровиков, то закрытый эпицеллюлярный паразитизм возникает у криптоспоридий и протококцидий независимо и, вероятно, вторично.

На основе оригинальных материалов и данных литературы автор представит иллюстративный ряд, подтверждающий данные тезисы, и обсудит возможные клеточные механизмы хозяина, которые активизируют криптоспоридии и протококцидии для инициации формирования паразитофорной ниши вокруг себя.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00427, <https://rscf.ru/project/22-24-00427/>.

**РАЗМЕРНО-ВЕСОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И
ВЫЖИВАЕМОСТЬ МАЛЬКОВ ЯПОНСКОГО
МОХНАТОРУКОГО КРАБА *ERIOCHEIR JAPONICA* (DE HAAN,
1835) В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ**

***Пахлеванян А. А., Масленников С. И., Борисова Д. С., Геворгян Т. А.,
Боцун Л. А.***

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,*

г. Владивосток, armanpahlevanyan@gmail.com

Мохнаторукие крабы служат ценным пищевым объектом в странах восточной Азии. Только в 2014 г. в мире произведено более 790000 тонн китайского мохнаторукого краба (основной производитель, а также потребитель этого краба – КНР), а в 2018 г. производство мохнаторуких крабов составило 8% от общей доли воспроизводимых ракообразных по всему миру.

В нашей стране мохнаторукий краб считается перспективным объектом аквакультуры. С 2019 г. два вида мохнаторуких крабов (японский и китайский) включены в Классификатор в области аквакультуры (рыбоводства) РФ (2019). В настоящее время в нашей стране технология культивирования японского мохнаторукого краба находится на стадии разработки. Целью нашей работы стало изучение пресноводной фазы роста японского мохнаторукого краба. Исследовали весовой и линейный рост, выживаемость, изменение плотности поселения и биомассы.

Мальки получены на морской биологической станции “Запад” ННЦМБ ДВО РАН в июле 2022 г. В августе того же года, в возрасте одного месяца, они были перевезены в аквариальную ННЦМБ ДВО РАН. Крабов содержали в прямоугольных аквариумах с пресной водой, площадь дна каждого 0.87 м², грунт песчаный толщиной не более 1 см с добавлением раковин устриц и камней для укрытия, а также водных растений, для создания потока воды применяли аэрацию. В качестве корма использовали филе минтая и наваги, а также мягкие ткани мидии и невооруженного морского ежа. В работе представлены данные за восемь месяцев наблюдений (по апрель 2023 г. включительно).

За весь промежуток времени температура в аквариумах изменялась от 17.5 до 23.5 °С, а водородный показатель (рН) колебался в пределах от 7 до 8.7. Стартовая посадка составила 40 экземпляров на аквариум, средний вес особи 0.026 г, ширина карапакса 5 мм. Начальная биомасса составляла 1.18 г/м², плотность поселения – 45.98 экз./м².

Таблица 1. Размерно-весовые параметры мальков японского мохнаторукого краба *Eriocheir japonica* в возрасте 9 месяцев при искусственном содержании

| Финальные показатели | Аквариум | | | Среднее |
|--|----------|-------|-------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| Средний вес, г/экз. | 1.60 | 2.21 | 1.71 | 1.84 |
| Средняя ширина карапакса, мм | 15.28 | 17.45 | 15.56 | 16.10 |
| Плотность поселения, экз./м ² | 25.29 | 17.24 | 19.54 | 20.69 |
| Выживаемость, % | 55.00 | 37.50 | 42.50 | 45.00 |
| Биомасса, г/м ² | 40.42 | 44.51 | 36.92 | 40.62 |
| Прирост биомассы, г/м ² | 39.24 | 43.33 | 35.74 | 39.44 |

На восьмом месяце содержания мальки достигли среднего веса 1.84 г, ширина карапакса составила 16.1мм. Средняя плотность поселения снизилась до значений 20 экз./м², выживаемость составила 45%. Средний прирост биомассы составил 39 г/м², при финальном значении биомасса составила в среднем около 40 г/м² (таблица 1).

Полученные результаты могут быть использованы для планирования пресноводных хозяйств по выращиванию японского мохнаторукого краба.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 21-74-30004 "Разработка современных подходов к созданию технологий устойчивого культивирования и воспроизводства ценных морских гидробионтов" (рук. Долматов И.Ю.).

РАННЕЕ ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ДВУХ МОРСКИХ ПАУКОВ РОДА *NYMPHON* (PUSNOGONIDA)

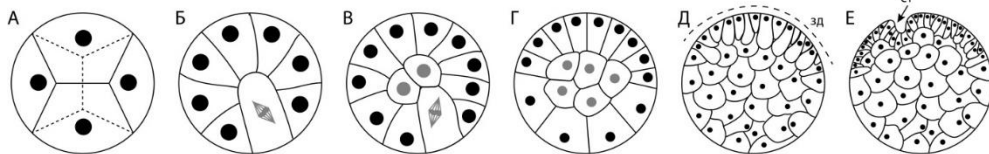
Петрова М. А.¹, Богомолова Е. В.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.
Москва, *mashkaromashka225@gmail.com*

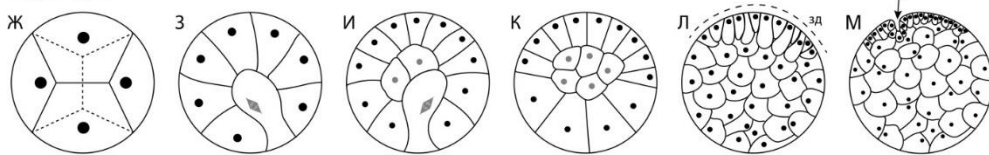
Морские пауки (*Pusnogonida*) – древняя группа членистоногих, занимающая базальное положение среди хелицероных. Пикногониды обитают только в исходной для них морской среде и благодаря этому сохранили ряд плезиоморфных черт, которые в ходе длительной независимой эволюции переплелись с апоморфными особенностями. Вот почему морские пауки представляют большой интерес для сравнительной анатомии и эмбриологии. Многообразие постэмбрионального развития пикногонид изучено относительно широко. Исходным считают вариант со свободноживущей экзотрофной олигомерной личинкой («типичный протонимфон») и длительным анаморфным периодом. В нескольких семействах развитие видоизменяется, личинки становятся крупными, лецитотрофными, с тенденцией к эмбрионизации, или же наоборот, миниатюризируются и переходят к эндопаразитическому образу жизни (Brenneis et al., 2017). По эмбриогенезу морских пауков имеется лишь несколько работ, большинство из них выполнено в конце XIX – начале XX века, и данные разных авторов по одним и тем же видам часто противоречат друг другу. Можно ожидать, что эмбриональное развитие модифицируется при изменении типа личинок и, соответственно, размера яйцеклеток (Догель, 1913). Имеющиеся в литературе скудные сведения (Morgan, 1891; Догель, 1913) не противоречат такому предположению, однако не позволяют проанализировать, коррелируют ли особенности эмбриогенеза с положением видов на филогенетическом древе: отсутствуют подробные данные об эмбриональном развитии у представителей одного семейства с разными типами личинок. В данной работе методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ) впервые изучены ранние этапы эмбриогенеза двух видов рода *Nymphon* (*Nymphonidae*): *N. brevirostre* Hodge, 1863 с экзотрофным «типичным протонимфоном» (диаметр яиц 120 мкм) и *N. grossipes* (Fabricius, 1780) с лецитотрофным развитием (диаметр яиц 400 мкм). В качестве основного объекта для сравнения выбран *Pusnogonum litorale* (Strøm, 1762), так как только для этого вида данные по раннему эмбриогенезу получены с применением КЛСМ (Ungerer, Scholtz, 2009) и сопоставимы с нашими. У *P. litorale* небольшие экзотрофные личинки (диаметр яиц 130 мкм), что сравнимо с *N. brevirostre*, однако он

представляет другое семейство – Pycnogonidae. Эмбриогенез видов с крупными яйцами и лецитотрофным развитием, к сожалению, не изучен современными методами ни в пределах Nymphonidae, ни в других семействах.

N. brevirostre



N. grossipes



P. litorale

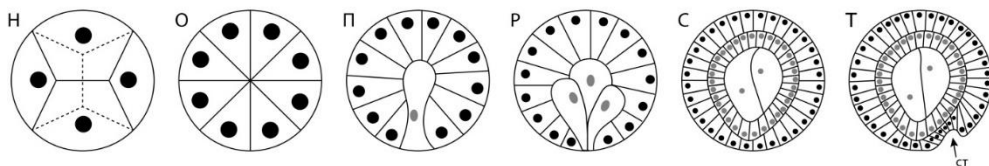


Рис. 1. Сравнение раннего эмбрионального развития представителей рода *Nymphon* (по оригинальным данным) и *Pycnogonum litorale* (по данным Ungerer, Sholtz, 2009), схема. А – Е *N. brevirostre*, Ж – М *N. grossipes*, Н – Т *P. litorale*. А, Ж, Н – 4 бластомера; Б, В, З, И, П, Р – гастрюляция; О – бластула; Г, К, С – гастрюла; Д, Л – формирование зародышевого диска; Е, М, Т – формирование стомодеума. зд – зародышевый диск, ст – стомодеум. Серым выделены ядра клеток эктодермы.

Дробление и у *N. brevirostre*, и у *N. grossipes* полное, равномерное, асинхронное, бластомеры пирамидальные, бластоцель отсутствует (рис. 1А, Ж). Точно такое же дробление описано для *P. litorale* (Ungerer, Sholtz, 2009) (рис. 1Н, О).

Существенные различия между *Nymphon* и *P. litorale* выявлены только начиная с этапа гастрюляции. У *Nymphon* на стадии около 20 бластомеров одна из клеток выделяется: меняет форму, погружается базальным полюсом в центр бластулы и делится в радиальном направлении. Затем, по одной, так же меняют форму и делятся ещё несколько клеток (рис. 1Б-В, З-И). Так в центре гастрюлы оказываются две-три клетки, которые тоже начинают делиться, их веретёна деления ориентированы в случайных направлениях. У *P. litorale* гастрюляция начинается позже, на стадии 63 бластомеров, и осуществляется путём

иммиграции нескольких клеток практически одновременно (Ungerer, Scholtz, 2009) (рис. 1О-П).

У *Nymphon* клетки эктодермы делятся с разной скоростью, за счёт чего на будущей вентральной стороне эмбриона формируется зародышевый диск из более мелких клеток. У *N. brevirostre* разница в размерах между клетками выражена слабо, место формирования зародышевого диска становится заметным только после завершения гастрюляции (рис. 1Г-Д). У *N. grossipes* разница в размерах между клетками, которые войдут в состав зародышевого диска, и остального эмбриона выражена в большей степени и становится заметна раньше, чем у *N. brevirostre*, уже в середине процесса гастрюляции (рис. 1И-Л). У обоих видов клетки эктодермы, не вошедшей в зародышевый диск, и энтодермы становятся изодиаметрическими и делятся в случайных направлениях (рис. 1Д-Е, Л-М). У *P. litorale* зародышевый диск не формируется (Ungerer, Scholtz, 2009) (рис. 1С-Т).

Раннее эмбриональное развитие *N. brevirostre* и *N. grossipes*, несмотря на значительную разницу размеров яйцеклеток, проходит практически одинаково; расхождение лишь в том, что выделение микромеров и макромеров у *N. grossipes* происходит несколько раньше. Полученные нами данные по развитию *N. brevirostre* в основном совпадают с опубликованным Догелем (1913) описанием развития *N. stroemi* Krøyer, 1844 с таким же типом личинки. В раннем эмбриональном развитии *N. brevirostre* и *N. stroemi* демонстрируют больше сходство не с *P. litorale*, у которого близкий размер яйца и сопоставимый тип личиночного развития, а с *N. grossipes* с его крупными яйцеклетками и лецитотрофной личинкой. Таким образом, у пикногонид особенности эмбрионального развития могут коррелировать с филогенетическим положением вида в большей степени, чем с его репродуктивной стратегией.

ПОЗИЦИОННАЯ ИНФОРМАЦИЯ КАК КЛЮЧ К ПОНИМАНИЮ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ АННЕЛИД

Платова С. Е.¹, Старунов В. В.², Старунова З. И.², Новикова Е. Л.¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, sofiaplato@gmail.com; elena.novikova.03.06@gmail.com

²Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург, starunov@gmail.com; z.starunova@gmail.com

Репаративная регенерация, то есть способность восстанавливать утраченные после повреждения части тела, является одним из ключевых свойств живых организмов. На данный момент превалирует гипотеза о том, что регенерация представляет собой анцестральный для всех Metazoa процесс, который утрачивался в разных ветвях в ходе эволюции (Bely, Nyberg, 2009). Механизмы этих утрат могут быть разнообразны, их изучение приближает нас к пониманию того, на каких этапах произошли нарушения восстановительных процессов у разных животных. Одним из необходимых элементов успешного прохождения восстановительных процессов является способность корректно встроить недостающую структуру в уже существующий организм. Это достигается за счет сохранения и поддержания в ювенильном или взрослом теле позиционной информации, то есть информации о распределении и положении клеток внутри тела, вдоль его осей (Flowers, Crews, 2020). Носители такой информации, морфогены, могут представлять собой матричные РНК или белки, распределенные в виде градиентов вдоль осей тела. Зачастую в роли морфогенов, поддерживающих позиционную информацию во взрослом состоянии, выступают консервативные эмбриональные факторы, например, компоненты Wnt и Hh сигналингов, Noh и ParaNoh белки (Новикова и др., 2016).

Аннелиды – удачный объект для изучения репаративной регенерации, так как демонстрируют крайне вариабильный спектр регенерационных возможностей: от способности отрастить головные и хвостовые структуры из одного сегмента тела до полной утраты репаративной регенерации (Bely, 2006).

Для своих исследований мы выбрали трех представителей Annelida. Сидячая полихета *Pygospio elegans* (сем. Spionidae) способна восстанавливать головные и хвостовые сегменты тела после операции. Относящаяся к группе Errantia *Platynereis dumerilii* (сем. Nereididae) может отращивать только утраченные хвостовые сегменты. Принадлежащая, как и *P. elegans*, к группе Sedentaria, *Arenicola marina*

после повреждения может только зарастить раневую поверхность и восстановить утраченную часть тела за счет разрастания имеющихся сегментов, без добавления новых. С помощью РНК-секвенирования мы изучили распределение мРНК дифференциально экспрессирующихся генов вдоль передне-задней оси тела описанных выше аннелид и постарались выявить корреляции характера этого распределения со способностью к регенерации. Мы также изучили перестройку паттернов экспрессии некоторых генов в ходе регенерации *P. elegans* и *P. dumerilii*.

Аннелид разрезали на 12 частей, из каждого фрагмента выделяли тотальную РНК и затем производили секвенирование на платформе Illumina NovaSeq 6000 в двух биологических повторностях для каждого фрагмента. Последовательность обработки и сборки данных описана в Chen et al., 2022. В эксперименте по регенерации червей фиксировали в разных временных точках после ампутации: 0 чпа (часов после ампутации), 4 чпа, 10 чпа, 18 чпа, 24 чпа, 48 чпа, 3 дпа (дней после ампутации), 4 дпа и 7 дпа. Анализ экспрессии генов проводили методом гибридизации *in situ* на целых животных (WMISH).

При анализе дифференциально экспрессирующихся генов у *P. dumerilii* и *P. elegans* мы видим, что большинство генов демонстрируют высокий уровень экспрессии во фрагментах тела, соответствующих постларвальным сегментам, и сниженную экспрессию в ларвальных отделах тела. В то же время выявляется группа генов, заметно повышающих свою экспрессию как в передних, так и в задних фрагментах тела. У *A. marina* картина экспрессии более размыта, четкая привязка доменов экспрессии к ларвальным и постларвальным отделам тела отсутствует. Интересно, что для всех трех животных пониженный уровень экспрессии большинства генов наблюдается в заднем конце тела, где у аннелид обычно расположены пигидий и постларвальная зона роста. Более детальный анализ транскриптов Нох- и ParaНох-генов выявляет для ряда генов градиентное распределение вдоль оси тела с выраженным уровнем экспрессии в зоне роста и пигидия у *P. dumerilii* и *P. elegans*. У *A. marina* эти градиенты имеют менее широкий размах, а экспрессия генов в задней области червя практически отсутствует.

Методом гибридизации *in situ* мы изучили экспрессию генов *post2* и *cad* у *P. elegans* и *P. dumerilii*. Оказалось, что эти консервативные маркеры задней части тела в ходе регенерации ведут себя по-разному: у *P. dumerilii* они включаются, в том числе, и в сайте роста головы, нарушая тем самым информацию о позициях частей тела вдоль передне-задней оси.

Мы предполагаем, что сохранение и поддержание молекулярного профиля ларвальных и постларвальных сегментов в ювенильном состоянии *P. elegans* и *P. dumerilii* позволяет правильно идентифицировать тип поврежденных сегментов при ранении и

запустить корректную программу восстановления. Отсутствие задней регенерации у *A. marina*, вероятно, связано в первую очередь с инактивацией множества генов, поддерживающих постларвальный рост у других аннелид.

Работа поддержана грантом РФФ 21-14-00304. Часть работ выполнена на оборудовании ЦКП «Таксон» Зоологического института РАН (Санкт-Петербург, Россия).

**ПРИЗНАКИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У
ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ *MAGALLANA GIGAS*,
ПОРАЖЕННОЙ СВЕРЛЯЩЕЙ ГУБКОЙ *PIONE VASTIFICA***

**Подольская М. С., Гостюхина О. Л., Челебиева Э. С., Кладченко Е. С.,
Лавриченко Д. С., Андреева А. Ю.**

*Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН
г. Севастополь, podolskayams@ibss-ras.ru*

Тихоокеанская устрица *Magallana gigas* (Thunberg, 1793) – самый распространенный вид двустворчатых моллюсков для выращивания на аквакультурных фермах. Эффективность культивирования устриц определяется состоянием их “здоровья”, наличием паразитов и различного рода инфекционных агентов, а также факторами окружающей среды. Для аквакультурных хозяйств Черного моря характерно массовое поселение сверлящих губок семейства *Clionaidae* на раковинах устриц *M. gigas* (Лебедовская 2013, Шубникова 2019). Губка *Pione vastifica* (Hancock, 1849) перфорирует раковину двустворчатых моллюсков, образуя в ней каналы и тоннели, в некоторых случаях просверливая ее насквозь и разрушая (Dieudonne, Carroll, 2022). Присутствие сверлящей губки *P. vastifica* сопровождается утолщением раковины моллюска и одновременным уменьшением массы мягких тканей, что приводит к снижению темпов роста организма (Лебедовская, 2013, Dieudonne, Carroll, 2022). В организмах тихоокеанских устриц, пораженных пионей, отмечают увеличение доли анаэробных микроорганизмов, а также снижение скорости потребления кислорода и интенсивности метаболизма. Нарушения скорости роста и изменения уровня метаболизма могут быть связаны с инвазией губки *P. vastifica*, поскольку раковина является одним из защитных биологических барьеров моллюска, а ее повреждение может оказывать влияние на функциональное состояние всего организма (Lombardi et al., 2013).

Среди неспецифических стресс-реакций двустворчатых моллюсков в ответ на воздействие биотических и абиотических факторов следует отметить окислительный стресс, который сопровождается повреждением различных внутриклеточных структур за счет окисления макромолекул активными формами кислорода (АФК) и гибелью клеток (Гостюхина, 2018). Нейтрализация избыточного количества АФК в организме двустворчатых моллюсков осуществляется антиоксидантным комплексом, включающем в себя эндогенные ферментативные и неферментативные антиоксиданты. Ключевыми ферментами антиоксидантного комплекса двустворчатых моллюсков

являются ферменты супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ) и глутатионпероксидаза (ГП) (Ighodaro, Akinloye, 2018).

Цель настоящей работы – изучить состояние антиоксидантного комплекса в жаберной ткани и признаков окислительного стресса в гемоцитах тихоокеанской устрицы *M. gigas*, зараженной сверлящей губкой *P. vastifica*.

Для исследования в прибрежной акватории Севастопольской бухты (температура воды 20°C, соленость 17–18 ‰, содержание кислорода 7.2–8.5 мг/л) отобраны взрослые устрицы *M. gigas* массой 77.7 ± 8.2 г и длиной раковины $11.4 \pm 2,6$ см. Моллюсков отсортировали и поделили на 2 группы: контрольную (здоровые устрицы, без видимого поражения раковины губкой) и опытную (устрицы, зараженные сверлящей губкой, имеющие внешние повреждения раковины или красные вкрапления на ее поверхности) ($n = 60$). В течение 7 дней устриц акклиматизировали к лабораторным условиям, соответствующим сезону года. Образцы гемолимфы отбирали стерильным шприцом из сердечного синуса, затем трижды отмывали в стерильной морской воде путем центрифугирования (5 мин, 500 g, при 5°C). Ткани жабр извлекли и немедленно заморозили при температуре -80°C для анализа активности антиоксидантных ферментов.

Уровень АФК в клетках гемолимфы определяли методом проточной цитометрии на основании оценки интенсивности флуоресценции клеток, окрашенных красителем 2-7-дихлорфлуоресцеин-диацетат (DCF-DA) (1 мл суспензии гемоцитов инкубировали с 10 мМ раствора).

Оценку повреждения ДНК в клетках гемолимфы проводили с использованием метода ДНК-комет по протоколу Møller et al. (2020).

Для анализа активности антиоксидантных ферментов замороженные образцы жаберной ткани ($n = 20$) оттаивали на льду и гомогенизировали в 2 мл охлажденного льдом буфера 20 мМ Tris/HCl (pH = 7,5), содержащего 0.5 мМ ЭДТА. Гомогенаты центрифугировали в течение 20 мин при 11000 g и 4°C (Cossi et al., 2020), супернатанты собирали и сразу использовали для определения активности ферментов. Активность СОД определяли методом, предложенным Nishikimi et al. (1972). Активность СОД выражали в условных единицах (Ед) $\text{мин}^{-1} \text{мг белка}^{-1}$. Активность КАТ определяли по стабильному комплексу, образованному молибдатом аммония с перекисью водорода (Goth, 1991). Активность ГП определяли по накоплению окисленного глутатиона (Paglia, Valentine, 1967).

Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Достоверность различий оценивали при помощи U-критерия Манна–Уитни.

Общее содержание АФК в клетках гемолимфы зараженных устриц было достоверно в 1.6 раз выше, чем в контрольной группе (устрицы без признаков инвазии губки) ($P \leq 0.05$). При этом в гемоцитах устриц, пораженных сверлящей губкой, также отмечалось повреждение ДНК: длина хвоста комет в клетках опытной группы моллюсков была почти в 6 раз больше, чем в контрольной группе ($P < 0.05$).

Активность СОД в жаберной ткани контрольной и опытной групп статистически не отличалась, однако наблюдалась тенденция к снижению активности данного фермента в опытной группе. Уровень активности КАТ в группе с зараженными моллюсками, был достоверно ниже (в 3.2 раза), чем в контрольной группе и составил 7.12 ± 2.8 (мкмоль H_2O_2 /мин·мг белка) ($P \leq 0.01$). Активность ГП также была достоверно ниже (в 1.6 раз) у моллюсков, пораженных сверлящей губкой, по сравнению с группой здоровых устриц ($P \leq 0.05$).

Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют о существенном нарушении окислительно-восстановительного баланса в организме тихоокеанской устрицы, пораженной сверлящей губкой. В клетках гемолимфы выявлен рост уровня внутриклеточного содержания АФК, а также повреждения ДНК клеток, которые, вероятно, возникли в результате избытка продукции АФК и снижения уровня антиоксидантной защиты организма. Об этом также свидетельствуют достоверно низкие уровни активности КАТ и ГП в жабрах устриц, зараженных сверлящей губкой.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ «Закономерности организации иммунной системы промысловых гидробионтов и исследование влияния факторов внешней среды на функционирование их защитных систем» (№ 121102500161-4).

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *ELEGINUS* (GADIDAE) И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ЕГО ФОРМИРОВАНИЯ

Пономарева Е. В., Строганов А. Н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, kronot@mail.ru

Семейство Gadidae, представленное 56 видами (20 родов), является одним из самых многочисленных в составе отряда Gadiformes (Nelson et al., 2016). Большинство представителей семейства имеют высокую хозяйственную значимость, что повышает и научный интерес ко многим аспектам как биологических, так и генетических характеристик этих рыб. С развитием современных молекулярно-генетических методов для многих видов происходит пересмотр их родственных связей и вследствие этого изменения как видовых, так и родовых наименований. Самые известные изменения произошли в роде *Gadus* и касаются минтая. На основе современных генетических методов упразднен род *Theragra*, минтай включен в состав рода *Gadus* в качестве сестринского вида по отношению к треске, кроме того, у ряда авторов встречаются мнения об упразднении родов *Melanogrammus*, *Pollachius* и даже *Eleginus* с соответствующим включением их в род *Gadus* (Никольский, 1971; Григорьев, 2013; Coulson et al., 2006).

Наваги (род *Eleginus*) – это одно из, своего рода, «белых пятен», изучение полиморфизма ядерной и митохондриальной ДНК у представителей которого способствует как решению таксономических проблем в рамках семейства Gadidae, так и рассмотрению общих вопросов формирования разнообразия у морских рыб. Известно, что род *Eleginus* представлен двумя аллопатрическими видами, населяющими прибрежные акватории Северной Атлантики, Северной Пацифики и Северного Ледовитого океана. Тихоокеанская навага *E. gracilis* (Tilesius, 1810) в Пацифике распространена от Берингова пролива на севере и на юг вдоль азиатского (до Японского моря) и североамериканского (о-в Баранова) побережий; в Арктике – в морях Чукотском и Бофорта. Северная навага *E. nawaga* (Walbaum, 1792) в Арктике обитает на восток от Кольского залива Баренцева моря и до Хатангского залива моря Лаптевых, а также распространена в Белом море (Световидов, 1948; Ульченко и др., 2016; Helser et al., 2017). Несмотря на относительно небольшие объемы вылова (тихоокеанская навага – 36 тыс.т, северная навага – 0,67 тыс.т), оба представителя рода *Eleginus* являются ценными объектами рыбного промысла.

Материалом для выполнения данной работы служили выборки наваги из акваторий Охотского, Карского, Баренцева и Белого морей, собранные в комплексных экспедициях в период с 2005 по 2019 гг. Исследования выборок проводили генетическими методами на основе полиморфизма микросателлитных локусов яДНК и изменчивости последовательностей баркодингового фрагмента митохондриального гена цитохромоксидазы суб. I (*COI*).

Исследован участок гена *COI* длиной 589 п.н.; на основе филогенетического анализа показано, что полученные гаплотипы формируют собственную кладу рода *Eleginus* с двумя сестринскими видами, кроме того, с большими дистанциями (0.123–0.168) между ближайшими видами подсемейства *Gadinae*. При этом средние дистанции между *E. gracilis* и *E. nawaga* составляют небольшие значения (0.018), что, по-видимому, указывает на «относительно недавнее» расхождение этих видов: в пределах 1–2 млн. лет назад в зависимости от оценки скорости мутаций мтДНК (Avice, 1994; Stepien et al., 2000).

На основе анализа микросателлитных локусов виды *E. gracilis* и *E. nawaga* различаются с высокой степенью достоверности. Внутривидовые достоверные различия получены в выборках северной наваги между популяциями Белого моря и выборками Карского и Баренцева морей.

Выявленные по генетическим маркерам отличия беломорских популяций северной наваги от популяций Карского и Баренцева морей ставят вопросы об условиях формирования внутривидовой дифференциации, которая, возможно, была связана с климатическими изменениями среды. Вероятно, что карско-баренцевоморский регион мог выступать в период валдайского оледенения в качестве рефугиума, обеспечившего последующее расселение наваги, в том числе, в Белом море, в котором ранее не было условий для ее воспроизводства. Считается, что на фоне более холодного климата в ледниковый период Беломорская лопасть Скандинавского ледникового щита в ходе вязкопластичного растекания занимала Беломорскую котловину (Наумов, Федяков, 1993; Варейчук и др., 2012; Маккавеев и др. 2020); продолжительное таяние пресной ледяной массы задержало формирование в послеледниковый период морских условий в Белом море. После проникновения наваги в Белое море произошла определённая изоляция беломорских популяций, что показывают достоверные отличия между ними и баренцевоморскими популяциями.

СИНАПТАМИД – НЕЙРОТРОПНЫЙ ПРЕПАРАТ ИЗ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ

Пономаренко А.И.¹, Манжуло О.С.¹, Манжуло И.В.¹

*¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, arina.ponomarenko.93@mail.ru*

Травматическое повреждение головного мозга (ЧМТ) возникает в результате воздействия внешней механической силы и характеризуется быстро развивающимся нейровоспалением, окислительным стрессом и запуском процессов апоптоза и некроза в ткани головного мозга; травма может приводить к временному или постоянному нарушению когнитивных, физических и психосоциальных функций. Современные требования, предъявляемые к фармакологическим препаратам, применяемым при травмах головного мозга, включают в себя три основных пункта: селективность в отношении нервной ткани, эффективность, а также низкий риск развития побочных эффектов. К сожалению, существующий арсенал лекарственных средств не соответствует данным критериям, что требует формирования сложных многокомпонентных динамических схем для обеспечения выздоровления пациента. Поэтому исследования, направленные на поиск новых агентов, обладающих комплексным нейропротекторным и глиотропным эффектом, являются актуальной задачей современной медицины и биологии.

N-докозагексаеноилэтанолламин (DHEA, синаптамид), эндогенный метаболит докозагексаеновой кислоты (ДГК), обладает уникальной способностью модулировать нейротрансмиттерную и глиальную активности, а также выраженность воспалительных и некробиотических процессов в головном мозге. Для производства синаптамида из пищеварительной железы кальмара *Beryteuthis magister* по методике Latyshev et al. (2014) получали концентрат полиненасыщенных жирных кислот. Глио- и нейротропные эффекты синаптамида изучали на модели легкой черепно-мозговой травмы *in vivo* и на культуре клеток микро- и астроглии *in vitro*.

Известно, что астроцитарная глия участвует не только в базовых метаболических и синаптических механизмах функционирования нервной системы, но и в развитии патогенетических и репаративных процессов при травмах ЦНС, модулируя воспалительный ответ и адаптацию нейронов к действию неблагоприятных условий микросреды (Burda et al., 2016). В данной работе показано, что в раннем посттравматическом периоде синаптамид усиливает выраженность

астроглиоза, что сопровождается продукцией нейротрофинов и активирует эндоканнабиноидную систему головного мозга, тем самым способствуя восстановлению поврежденных нейронов.

Нейротрофический фактор мозга BDNF является одним из наиболее широко распространенных и хорошо изученных нейротрофинов в мозге млекопитающих, источником которого являются как нейроны, так и клетки глии. Посттравматическое нейровоспаление, активируемое NF-κB, опосредованно индуцирует увеличение синтеза нейротрофина BDNF (Kairisalo et al., 2009). Однако хроническая и длительная активация NF-κB, напротив, приводит к снижению уровня нейротрофина. Синаптамид ингибирует транскрипцию пути NF-κB (Park et al., 2019), тем самым подавляя воспалительный компонент и увеличивая синтез BDNF как *in vivo* при моделировании легкой ЧМТ, так и *in vitro* в первичной культуре астроцитов.

Клетки глии после повреждения подвергаются процессу дифференцировки и активации, на этих этапах меняется характер экспрессии каннабиноидных рецепторов CB1 и CB2. Их активация ингибирует митохондриальную дисфункцию и подавляет выработку провоспалительных цитокинов. Синаптамид, несмотря на структурное сходство с анандамидом (эндогенным агонистом каннабиноидных рецепторов), не действует как эндоканнабиноид в первую очередь из-за его слабого связывания с рецепторами CB, но при этом оказывает влияние на изменение количества этих рецепторов. Полученные нами данные свидетельствуют о дозозависимом влиянии синаптамида на увеличении синтеза CB1R и CB2R в культуре клеток астро- и микроглии.

Дополнительным эффектом синаптамида на астроциты является накопление в цитоплазме клеток ионов Ca^{2+} . Увеличение буферной емкости астроцитов для действия ионов обеспечивает защиту нейронов от эксайтоксического повреждения.

Выявленные клеточные и молекулярные мишени реализации глиотропного и нейротрофического действия синаптамида в дальнейшем позволят расширить показания для клинического применения разрабатываемых препаратов из доступного дальневосточного сырья.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ ЗАБОТЫ О ПОТОМСТВЕ У ПОЛИХЕТ СПИОНИД (ANNELIDA: SPIONIDAE)

Радашевский В. И.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток, radashevsky@mail.ru*

Spionidae Grube, 1850 – одно из крупнейших семейств многощетинковых кольчатых червей Annelida. Хотя все спиониды используют один и тот же основной способ питания, захватывая частицы пищи из окружающей среды с помощью пары щупиков (пальп), их рацион сильно различается между видами и связан с образом жизни и средой обитания червей. С адаптацией к жизни в различных условиях связаны и разнообразные типы размножения и развития спионид. Предполагается, что исходным типом размножения и развития предковых форм спионид были раздельнополость, выметывание гамет в воду и планктотрофное пелагическое развитие личинок в морской воде. Гермафродитизм, партеногения, разные типы бесполого размножения и лецитотрофное развитие возникали независимо и неоднократно в разных группах семейства. Разные виды заботы о потомстве, вероятно, развивались независимо, как минимум, в пяти группах, включая подсемейство Spioninae Söderström, 1920 и некоторые виды родов *Malacoceros* Quatrefages, 1843, *Rhynchospio* Hartman, 1936, *Scolelepis* Blainville, 1828 и *Streblospio* Webster, 1879. Происхождение заботы о потомстве в каждой из этих групп сопровождалось изменением морфологии и строения гамет, способа их переноса, механизмов и мест оплодотворения. В докладе приводятся примеры разных типов заботы о потомстве и связанные с ними различия в строении гамет и процессах оплодотворения.

**РАННИЕ СТАДИИ ОНТОГЕНЕЗА РАКОВИНЫ БРАХИОПОДЫ
COPTOTHYRIS GRAYI (RHYNCHONELLIFORMEA:
TEREBRATULIDA)**

Ратновская А. В., Кузьмина Т. В.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.

Москва, belka190199@gmail.com, kuzmina-t@yandex.ru

Брахиоподы – это морские беспозвоночные животные, мягкое тело которых защищено двустворчатой раковиной. Брахиоподы известны с раннего кембрия и достигли наибольшего разнообразия в палеозое. Большая часть современных брахиопод относится к подтипу *Rhynchonelliformea*, для них характерны кальцитовая раковина и замок, скрепляющий створки. Для ринхонеллиформных брахиопод описано наружное оплодотворение и формирование в толще воды лецитотрофной личинки. Секретия раковины начинается после оседания компетентной личинки на ранних этапах развития ювентильной особи. Онтогенетические преобразования раковины современных брахиопод представляют особый интерес для палеонтологов, поскольку исключительно по данным о строении раковины можно реконструировать онтогенез ископаемых плеченогих. Выделяют два участка первично-сформированной ювентильной раковины брахиопод, которые образуются последовательно друг за другом в онтогенезе: протегулюм и брефическая раковина. Размер, рельеф и граница между протегулюмом и брефической раковиной играют важную роль для реконструкции жизненных циклов брахиопод (Madison, Kuzmina, 2019).

Методами сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии, а также рентгенофлуоресцентного анализа изучены последовательные стадии онтогенеза брахиоподы *Coptothyris grayi* (компетентная личинка, метаморфоз, 12 ч после метаморфоза, 48 ч после метаморфоза, 55 ч после метаморфоза и 9 сут после метаморфоза), полученные путем искусственного оплодотворения на морской биологической станции “Восток” Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН в июле и августе 2022 г. Проведен сравнительный анализ полученных результатов с литературными данными по развитию *Terebratalia transversa* (Terebratulida) (Stricker, Reed, 1985), которые до настоящей работы являлись единственным источником информации по онтогенезу раковины современных ринхонеллиформных брахиопод.

Компетентная личинка *C. grayi* формируется спустя 45–50 ч после оплодотворения и состоит из трех лопастей: апикальной,

мантийной и ножной. Длина компетентных личинок составляет 120 мкм, а длина вентральной мантийной лопасти – 70 мкм. Между мантийной и ножной лопастью формируется тонкий белковый слой. При метаморфозе личинка прикрепляется к твердому субстрату дистальной частью ножной лопасти и выворачивает мантийную лопасть, так, что она закрывает головную лопасть. Мантия после выворачивания покрыта тонким органическим складчатым покровом – периостракумом, образующим часть протегулюма – первой ювенильной раковины. На стадии 12 ч после метаморфоза неорганическая часть протегулюма еще не формируется, покровы личинки представлены периостракумом, который синтезируется в мантийном желобке у края мантии. Длина протегулюма на дорсальной створке составляет в среднем 70 мкм, на вентральной створке – около 90 мкм. На стадии 48 ч после метаморфоза виден полностью сформированный протегулюм длиной 85–90 мкм (на вентральной створке), вторичный слой которого состоит из гранулярного кальцита. Наружная поверхность периостракума на этой стадии имеет регулярный ромбический рисунок. На стадии 55 ч после метаморфоза начинает формироваться брефическая раковина. На стадии 9 сут после метаморфоза четко прослеживается граница между протегулюмом и брефической раковиной. При этом периостракум протегулюма имеет характерный ромбический рисунок, в то время как периостракум брефической раковины более гладкий и образует только редкие продольные складки.

Полученные данные согласуются с данными относительно ринхонеллиформной брахиоподы *T. transversa* (см. Stricker and Reed, 1985) и четко показывают, что зачаток периостракума протегулюма формируется еще на стадии плавающей трехлопастной личинки. После оседания и выворачивания мантии ювенильная особь заключена в раковину, образованную органическим протегулюмом. При росте брахиоподы длина протегулюма не меняется, происходит лишь его утолщение за счет утолщения периостракума, а также формирования неорганического слоя раковины, образованного гранулярным кальцитом. Таким образом, на поверхности протегулюма отсутствуют линии роста, а его длина зависит от длины мантийной лопасти компетентных личинок, что подтверждает морфологические критерии определения жизненных циклов с лецитотрофной или планктотрофной личинкой, предложенные для ископаемых брахиопод (Madison, Kuzmina, 2019; Madison et al., 2021).

В работе впервые показано, что формирование брефической раковины у современных ринхонеллиформных брахиопод начинается уже на третьи сутки после метаморфоза. Брефическая раковина четко отделена от протегулюма. Впервые для брахиопод получен новый морфологический критерий, позволяющий отличить протегулюм от

брефической раковины по строению периостракума, что имеет большое значение для дальнейшего изучения механизмов секреции раковины на ранних стадиях онтогенеза брахиопод. Наличие четкой границы между протегулюмом и брегической раковиной у изученного вида связано с изменением типа секреции, поскольку вторичный слой раковины протегулюма сформирован гранулярным кальцитом, а брегической раковины – фибрами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-14-00020.

**ОПЫТ РАЗВЕДЕНИЯ ПИНГВИНОВ ГУМБОЛЬДА
(*SPHENISCUS GUMBOLDTI*) В ПРИМОРСКОМ ОКЕАНАРИУМЕ –
ФИЛИАЛЕ ННЦМБ ДВО РАН**

Сабуцкая М. А.^{1,2}, Крещеновская В. А.¹

¹Приморский океанариум – филиал Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток

²Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток
sabutskaya89@mail.ru

Пингвины Гумбольдта (*Spheniscus gumboldti*) – нелетающие птицы среднего размера с длиной тела 67–72 см и массой тела 4.2–5 кг, гнездящиеся на Тихоокеанском побережье в районе холодного течения Гумбольдта. Описано не менее 60 колоний пингвинов этого вида: 41 в Перу и 19 в Чили. Данные по общей численности популяции пингвинов Гумбольдта значительно разнятся и варьируют от 30 000 до 48 000 гнездящихся птиц.

Из-за резких колебаний размера популяции, кластерного распределения и основных угроз для вида, которые не исчезают с течением времени, вид классифицируется как уязвимый и занесен в Международную Красную Книгу.

Согласно международному правительственному соглашению, подписанному в результате резолюции Международного союза охраны природы в 1973 г. в Вашингтоне, вид внесен в Конвенцию о международной торговле видами, находящимися под угрозой исчезновения CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora).

Разведение в условиях зоопарков и океанариумов видов животных и птиц, находящихся под угрозой исчезновения в дикой природе, является актуальным и приоритетным направлением. Обмен опытом по размножению тех или иных уязвимых и исчезающих видов поможет поддерживать здоровые и генетически разнообразные популяции животных, содержащихся в неволе.

На данный момент в экспозиции Приморского океанариума сформировались 7 постоянных, размножающихся пар пингвинов. Для размещения птиц и их потомства в экспозиции Главного корпуса предусмотрены 3 норы в декорациях скал. Для остальных пар сотрудники отдела орнитологии устанавливают гнезда открытого типа. Выбор места установки гнезд осуществляется в тех частях вольера, где пара проводит больше всего времени. Каждый год птицы выбирают одно и то же место гнездования.

В качестве подстилки в гнезда использовали как искусственные материалы (пластиковые сетки), так и естественные (мелкие камни, керамзит и молодые гибкие побеги ивы). Необходимо отметить, что мелкие камни и молодые побеги деревьев крайне опасны для системы жизнеобеспечения и требуют аккуратного использования для предотвращения засоров.

Согласно литературным данным, в естественной среде обитания пингвины Гумбольдта достигают половозрелости в среднем через 3–4 года после вылупления, в некоторых источниках указывают диапазон 3.6–6.1 года. Для птиц, содержащихся в неволе, средний возраст половой зрелости более изменчив. Это факт связан с тем, что соотношение полов и возрастное распределение колонии оказывают влияние на поведение молодых пингвинов и молодые самцы, как правило, не будут конкурировать со старшими самцами за самок, а значит будут демонстрировать ухаживающее поведение в раннем возрасте (1–2 года).

Для популяции пингвинов Гумбольдта, содержащихся в Приморском океанариуме первые кладки у самок зарегистрированы в среднем в возрасте 35 мес. (2 г. 11 мес.), у самцов – 32 мес. (2 г. 8 мес.), что согласуется с литературными данными. Необходимо отметить, что 6 из 7 сформированных пар – это птицы, привезенные в океанариум, а не рожденные здесь, то есть они состоят из более взрослых особей. У наиболее молодой пары пингвинов первая кладка зарегистрирована, когда возраст обоих пингвинов составлял менее 2 лет (20 и 21 мес.). Птицы этой пары рождены в Приморском океанариуме.

Известно, что пингвины Гумбольдта при благоприятных условиях способны размножаться круглый год с пиками весной и осенью. Наибольшее количество яиц зарегистрировано в период с апреля по июнь и с октября по ноябрь. Общее количество зарегистрированных яиц в период с 2020 г. по настоящее время составляет 63 экз.

Спустя 10–14 сут после формирования кладки яйца осматривали в проходящем свете для оценки результатов оплодотворения. Более 55% яиц были оплодотворены, около 8% оказались не оплодотворенными, в 11% случаев отмечена остановка развития. Оставшиеся 24% включают птенцов, задавленных родителями, а также яйца, которые были разбиты во время насиживания и информации об оплодотворении отсутствует.

Обычно мы не прибегаем к искусственному выращиванию птенцов с использованием инкубатора и брудера. Но в 2020 г после ледяного дождя на период восстановления систем жизнеобеспечения 2 яйца были помещены в инкубатор на 14 сут. Впоследствии яйца были возвращены родителям; из одного благополучно вылупился птенец, второе оказалось неоплодотворенным.

В период с 2020 г. в Приморском океанариуме вылупилось 24 птенца. Самки и самцы половозрелых пингвинов Гумбольдта не имеют

значительных различий в окраске перьев, поэтому достоверная гендерная идентификация методом прямого наблюдения невозможна.

Одними из наиболее достоверных способов определения пола пингвинов являются методы молекулярно-генетического анализа, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР). ДНК-связывающий хромодомен-хеликаза (CHD1) был первым геном, предложенным в качестве надежного сцепленного с полом маркера половой дифференциации в широком диапазоне видов птиц. CHD1 очень консервативен и имеет небольшие различия в размере и последовательности нуклеотидов между некоторыми интронными областями CHD1Z и CHD1W, находящихся на половых хромосомах Z и W соответственно. Для большинства птиц амплифицированные генные области каждой хромосомы будут иметь разную длину, в результате чего получится ампликон одной длины для самцов (с ZZ-хромосомами) и два ампликона разной длины для самок (ZW-хромосомы). В результате электрофореза на геле визуализируются 2 полосы для самок и 1 полоса для самцов. На сегодняшний момент с применением описанного метода определён пол 18 из 24 птенцов.

Кроме гендерной идентификации птенцов, ежегодно рождающихся в океанариуме, с применением молекулярно-генетических методов, планируется определения генетического статуса популяции пингвинов Гумбольдта, содержащихся в Приморском океанариуме.

Авторы выражают искреннюю благодарность сотрудникам отдела орнитологии Дельфинария Приморского океанариума за помощь в оформлении результатов наблюдений, ценные советы и замечания. Работа частично выполнена на базе ЦКП «Приморский океанариум».

ПРИМОРСКИЙ ОКЕАНАРИУМ: ДОСТИЖЕНИЯ, ВЫЗОВЫ, НОВЫЕ УГРОЗЫ

Серков В. М.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток, serkov_vm@mail.ru*

Приморский океанариум, построенный по поручению президента России В.В. Путина, и открытый в 2016 г., стал одним из самых привлекательных объектов для массового туризма в Приморском крае, способствуя тем самым экономическому развитию региона, появлению новых туристических объектов в северо-восточной части о. Русский. В 2021 г. Аналитический центр НАФИ, входящий в топ-3 наиболее цитируемых российских аналитических агентств, включил Приморский океанариум в десятку самых туристически привлекательных региональных объектов страны по результатам всероссийского онлайн опроса. За семь лет с момента открытия Приморского океанариума его посетило более трех миллионов человек. Тысячи людей оставили положительные отзывы в социальных сетях, дав высочайшую оценку необыкновенной концепции Приморского океанариума и качеству ее реализации.

Деятельность Океанариума в области экологического просвещения была развернута еще до его открытия и получила широкую известность в профессиональных кругах. В 2018 году на международном конгрессе океанариумов (X-International Aquarium Congress, Fukushima, Japan) просветительская деятельность Приморского океанариума получила высшую оценку международного профессионального сообщества. Эта оценка прозвучала в докладе американского консалтингового агентства, выполнившего по поручению организаторов конгресса исследование океанариумов мира.

Однако в постоянно меняющемся мире перед Приморским океанариумом постоянно появляются новые вызовы и угрозы, связанные с законодательным, социальным, административным, природным и другими внешними воздействиями, на которые накладываются различные внутренние проблемы.

Например, осенью 2020 года во время ледяного дождя Приморский океанариум впервые столкнулся с отключением электроснабжения на трое суток и транспортной изоляцией. Поддержание систем жизнеобеспечения океанариума в чрезвычайных ситуациях, связанных с прекращением электроснабжения, представляет серьезную проблему,

угрожающую большими материальными потерями и гибелью гидробионтов. В случае остановки систем жизнеобеспечения параметры воды (в первую очередь насыщение кислородом, температура, pH) меняются очень быстро, как правило, в течение нескольких часов. В подобных ситуациях минимизации потерь способствуют правильные проектные решения, сделанные на этапе проектирования объектов, а также грамотные действия руководителей в чрезвычайных ситуациях. Однако океанариумы и дельфинарии, несмотря на развитие этой индустрии, до сих пор не имеют утвержденных строительных норм и правил. Чрезвычайная ситуация с отключением электроэнергии на трое суток выявила ошибки проектирования Приморского океанариума. Перед Океанариумом встала задача исправления выявленных ошибок проекта во избежание большого материального и репутационного ущерба при повторении чрезвычайных ситуаций в будущем.

До недавнего времени в Российской Федерации отсутствовали также законодательно утвержденные требования к условиям содержания животных. Скандал с "китовой тюрьмой" в бухте Средняя в Приморском крае, прогремевший на весь мир в 2018 году, стал мощным толчком к разработке государственных нормативно-правовых актов: федерального закона от 27.12.2018 № 498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными...», Постановления Правительства РФ от 30.12.2019 № 1937 «Об утверждении требований к использованию животных в культурно-зрелищных целях и их содержанию». С 1 сентября 2024 г. вступает в силу закон, запрещающий вылов морских млекопитающих в учебных и культурно-просветительских целях (Федеральный закон от 10.07.2023 № 314-ФЗ "О внесении изменений в Федеральный закон "О рыболовстве и сохранении водных биологических ресурсов"). Большая часть морских млекопитающих Приморского океанариума была отловлена в дикой природе. Указанные нововведения ставят перед Приморским океанариумом новые вызовы, требующие разработки долгосрочной стратегии, направленной на сохранение в долгосрочной перспективе деятельности дельфинария в какой-либо форме.

В 2016 г. Приморский океанариум, бывший до этого отдельным юридическим лицом, вошел в качестве филиала в состав ННЦМБ ДВО РАН. Часть внебюджетных доходов Океанариума стала поступать на развитие и стимулирование научной деятельности. Однако, получив в процессе объединения, ряд преимуществ, ННЦМБ ДВО РАН, как головная организация, принял на себя обязательство участвовать в решении проблем, встающих перед Приморским океанариумом. В докладе рассматриваются также другие вызовы и угрозы, стоящие перед Приморским океанариумом, являющимся филиалом Национального научного центра морской биологии.

**ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ
КОРАЛЛОВ *SINULARIA HETEROSPICULATA* И *ACROPORA* SP. В
ПРОЦЕССЕ ОБЕСЦВЕЧИВАНИЯ И ПОСЛЕДУЮЩЕГО
ВОССТАНОВЛЕНИЯ**

Сикорская Т. В.¹, Ермоленко Е. В.¹, Солодий Д. Д.²

*¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,*

г. Владивосток, miss.tatyanna@yandex.ru

*²Дальневосточный федеральный университет, Институт Мирового
океана,*

г. Владивосток

Коралловые рифы – это уникальные тропические и субтропические экосистемы. Большинство видов коралловых полипов – симбиотические организмы, клетки которых содержат динофлагеллят семейства Symbiodiniaceae (СД). Известно, что коралловые рифы шельфовых зон находятся под угрозой исчезновения. Это связано с глобальным потеплением и, как следствие, повышением температуры воды поверхности океана, что приводит к разрушению симбиоза и потере СД или обесцвечиванию кораллов. Исследования по восстановлению кораллов имеют первостепенное значение для сохранения экосистем коралловых рифов.

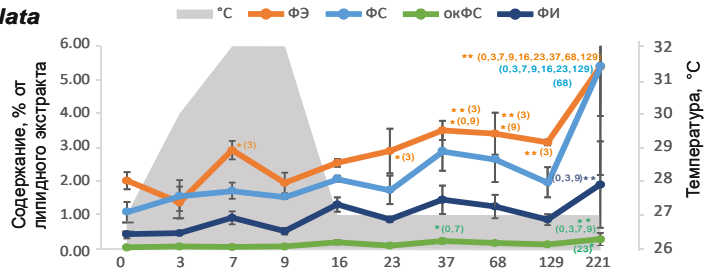
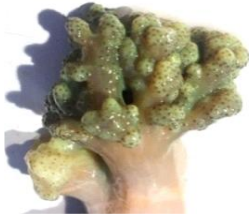
Липиды играют важную роль в процессе обесцвечивания кораллов. До 50% от общих липидов тропических кораллов составляют мембранные липиды, которые включают этаноламин-, холин-, серин- и инозитолглицерофосфолипиды (ФЭ, ФХ, ФС и ФИ соответственно), а также фосфолипид – церамидаминоэтилфосфонат (ЦАЭФ). Кораллы содержат сотни молекулярных видов липидов. Липидомные изменения являются надежными индикаторами физиологических процессов симбиотического организма коралла и могут быть использованы для оценки влияния неблагоприятных факторов окружающей среды на коралловые рифы. Ранее нами показано, что каждый этап обесцвечивания характеризуется достоверными изменениями содержания и состава структурных классов липидов ФЭ, ФС и ФИ. В данной работе мы изучили динамику содержания мембранных липидов ФЭ, ФС и ФИ, фотосинтетических пигментов (хлорофиллов) и плотность популяции симбионтов мягкого коралла *S. heterospiculata* (Cnidaria: Anthozoa: Octocorallia: Alcyoniina: Alcyoniidae) и рифообразующего коралла *Acropora* sp. (Cnidaria: Anthozoa: Hexacorallia:

Scleractinia: Acroporidae) в процессе восстановления после перенесенного теплового стресса.

После двух суток теплового стресса коралла *S. heterospiculata* содержание основных фотосинтетических пигментов и плотности симбионтов существенно снизились, а через 205 сут восстановления вернулись к исходному значению. Обесцвечивание рифообразующего коралла *Acropora* sp. происходило в течение 8 сут, тогда содержание пигментов снизилось практически до нуля, и через 132 сут восстановления вернулось к исходному значению. Показано, что в отличие от хлорофилла *a*, содержание хлорофилла *b* у кораллов *S. heterospiculata* и *Acropora* sp. практически сразу после теплового стресса (7-е и 11-е сутки эксперимента соответственно) достоверно возрастает, что может быть связано с переупаковкой хлорофиллов *b* в мембране хлоропласта в качестве механизма снижения поглощаемой энергии фотосистемами симбионтов кораллов.

Установлены профили молекулярных видов ФЭ, ФС, ФИ и окисленного ФС (окФС) в процессе эксперимента у кораллов *S. heterospiculata* и *Acropora* sp. Основными молекулярными видами у *S. heterospiculata* были алкилацильные ФЭ с 20:4 n -6 полиненасыщенной жирной кислотой (ПНЖК), а также диацильные формы молекулярных видов ФС и ФИ с 24:5 n -6 ПНЖК. Основными молекулярными видами у *Acropora* sp. были алкилацильные формы ФЭ с 20:4 n -6 и 20:5 n -3 ПНЖК, а также диацильные ФС и ФИ с 22:4 ПНЖК. Оба коралла содержали окисленные формы ФС. Динамика содержания исследованных классов фосфолипидов ФЭ, ФС, ФИ и окФС в липидном экстракте рифообразующего коралла *Acropora* sp. отличалась от динамики этих липидов у мягкого коралла *S. heterospiculata*, их содержание постепенно увеличивалось в течение эксперимента (рис.1). Содержание фосфолипидов ФЭ, ФС, ФИ и окФС в липидном экстракте рифообразующего коралла *Acropora* sp. снижалась и увеличивалась одновременно с содержанием основных фотосинтетических пигментов (рис.1). Вероятно, симбионты являются источником жирных кислот для биосинтеза фосфолипидов коралла и способствуют поддержанию их содержания на постоянном уровне. Также показано, что профиль молекулярных видов ФЭ в процессе эксперимента у кораллов *S. heterospiculata* и *Acropora* sp. существенно меняется. Содержание алкилацильных форм ФЭ снижается, а диацильных ФЭ увеличивается, что может свидетельствовать об использовании алкилацильных ФЭ кораллом в качестве защиты от окислительного стресса при обесцвечивании.

Sinularia heterospiculata



Acropora sp.

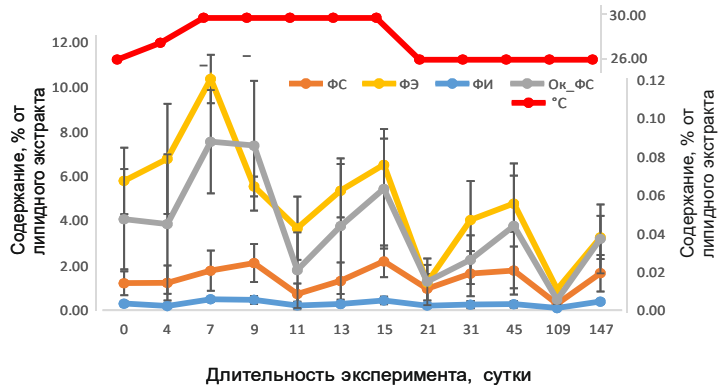


Рис. 1. Динамика изменения профиля мембранных липидов при восстановлении кораллов *Sinularia heterospiculata* и *Acropora sp.* после перенесенного теплового стресса (32°C). Сокращения: этаноламин-, серин- и инозитолглицерофосфолипиды (ФЭ, ФС и ФИ), и окисленный ФС (окФС).

**ВЛИЯНИЕ НЕФТЕУГЛЕВОДОРОДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА
ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ГРЕБНЕВИКА
MNEMIOPSIS LEIDYI A. AGASSIS, 1865 (STENOPHORA) В
ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ**

Силаков М. И., Темных А. В., Чудиновских Е. С.

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г.
Севастополь, ilmihvokalis@mail.ru*

Наряду с пластиком, основным загрязняющим антропогенным веществом для водной среды принято считать углеводороды нефти и их продукты (Миронов и др., 2018). Наиболее значимо влияние этого загрязнения в прибрежной зоне (Миронов, Миронов, 2015), которая часто является местом нереста или нагула для многих организмов. Изучение влияния нефтеуглеводородов на обитателей моря сильно затруднено из-за большого количества соединений, входящих в состав нефти и нефтепродуктов (Миронов, 1985; Воробьев, 2006; Миронов, 2007; Тихонова, 2009). В последнее время, в качестве индикатора физиологического состояния некоторых видов, обладающих способностью испускать свет, стали использовать изменение их биолюминесцентного сигнала под воздействием токсикантов (Tokarev, Mashukova, 2016; Токарев и др., 2016). Гребневики, большая часть видов которых относится к светящимся организмам (Haddock, Case, 1999), широко распространены в Мировом океане от эпипелагиали до абиссали и зачастую играют заметную роль в функционировании экосистем (Шушкина и др., 2000). Так, вселение *Mnemiopsis leidyi* A. Agassis, 1865 в некоторые моря создало прессинг на зоопланктонные виды (Finenko et al., 2006, 2015; Shiganova et al., 2019), который уменьшился в результате вселения вслед за ним его хищника, гребневика *Beroe ovata* Bruguière, 1789 (Жиганова и др., 2000; Виноградов и др., 2002; Finenko et al., 2003). Использование биолюминесценции гребневиков является эффективным методом для оценки влияния воздействия нефтеуглеводородов на функционирование морских экосистем и прибрежных биоценозов.

В данной работе исследовали влияние машинного масла на разные возрастные группы гребневика *M. leidyi*: особи переходной стадии от личинок к лобатной форме с размером 20–30 мм; неполовозрелые особи в лобатной форме – 30–45 мм; половозрелые особи – свыше 45 мм. Материал собирали в Черном море в Севастопольской бухте в августе 2022 г. Исследование параметров биолюминесцентного сигнала проводили на лабораторном комплексе «Свет» (Машукова и др., 2010; Токарев и др., 2016). Неповрежденные,

активные экземпляры *M. leidy* отсаживали на 2 ч в сосуды с морской профильтрованной водой (фильтр 35 мкм) в темноту. Затем объекты помещали в сосуды с морской водой, содержащей машинное масло в концентрации 1, 2.5, 5 и 10 ПДК. Параллельно выполняли контрольные измерения в воде без токсиканта. Всего в эксперименте использовали 182 экз. *M. leidy*.

Для стимуляции свечения использовали механическое (введение морской воды) и химическое (добавление этанола 95%) возбуждение (Машукова и др., 2010). В качестве параметров биолюминесценции измеряли амплитуду, длительность и энергию сигнала (Гительзон и др., 1992; Токарев и др., 2016). Замеры биолюминесцентных сигналов проводили через 15, 40 и 60 мин после внесения объектов в сосуды с растворами.

Концентрация токсиканта при 10 ПДК оказывала наиболее губительное воздействие на все размерные группы гребневиков. Объекты, помещенные в растворы с этой концентрацией, сразу начинали самопроизвольно светиться, однако после экспозиции 15 мин сигнал либо отсутствовал, либо был на уровне помех. Через 30 мин особи *M. leidy* погибали. Это позволяет оценить негативный эффект на гребневиков при массовых разливах нефти (Еремеев и др., 2008).

При механической стимуляции значения амплитуды и энергии сигнала экземпляров *M. leidy* для всех исследуемых групп, находящихся в растворах с машинным маслом, ниже, чем у контрольной группы, а длительность, наоборот, выше. Значения амплитуды сигнала у неполовозрелых групп схожи. При высоких концентрациях (2.5 и 5 ПДК) значения амплитуды сигнала составляют 0.2–0.4 от значений контрольной группы. При 2.5 ПДК заметен небольшой рост значения амплитуды с увеличением времени экспозиции в растворе. При 1 ПДК значения амплитуды колеблются в диапазоне 0.3–0.7 от значений контрольной группы, достигая своего максимума при 40 мин экспозиции в растворе. Длительность сигнала половозрелой группы увеличивается при 40-минутной экспозиции, а затем становится практически равной контрольной. У неполовозрелых особей длительность сигнала превышает таковую при контрольных измерениях. Токсикант воздействует на неполовозрелых переходных особей *M. leidy*, увеличивая время биолюминесцентного сигнала, но при этом уменьшая его амплитуду почти в два раза, что сказывается и на полной энергии всего сигнала. У половозрелых особей соотношение значений амплитуды у экземпляров *M. leidy*, находящихся в растворе выше в 1.5 раза при 15 и 60 мин экспозиции, чем у неполовозрелых. Наибольшая длительность биолюминесцентного сигнала зафиксирована при 40 мин экспозиции для концентраций 1 и 2.5 ПДК всех возрастных групп, она превышает значения контрольной группы в 1.5 раза. Значения

длительности сигнала при 5 ПДК для всех групп находится в диапазоне 0.9–1.1 от значений контрольной группы. Энергия биолюминесцентного сигнала в большей степени зависит от амплитуды сигнала и практически повторяет ее ход.

При химической стимуляции у половозрелых особей амплитуда и энергия сигнала в растворе с токсикантом растет при увеличении экспозиции и достигает контрольных значений при 60 мин. Неполовозрелые особи, находившиеся в растворах с концентрацией машинного масла 2.5 и 5 ПДК при экспозиции 60 мин не давали биолюминесцентного сигнала. Длительность биолюминесцентного сигнала у всех возрастных групп выше, также как и при механической стимуляции.

Воздействие токсиканта на особей в переходной стадии (20–30 мм) дает эффект сильнее, чем на животных других групп. Особенно хорошо это прослеживается при использовании химической стимуляции. Полученные результаты по воздействию машинного масла на гребневики показали существенные отличия по сравнению с результатами по влиянию сырой нефти (Машукова, Силаков, 2020). Так, экземпляры, находящиеся в растворах нефти, постепенно снижают значения основных параметров биолюминесценции. В то же время как в машинном масле при концентрации равной 1 ПДК при часовой экспозиции значения энергии сигнала и амплитуды превышают таковые у контрольных видов. Кроме того, в отличие от сырой нефти, воздействие машинного масла в концентрациях 2.5 и 5 ПДК при часовой экспозиции приводят к полному исчезновению биолюминесценции и быстрому разложению экземпляров. Воздействие машинного масла на *M. leidy* похоже на воздействие тяжелых металлов (Mashukova et al., 2017), приводящее к сильному подавлению биолюминесцентных энергетических характеристик.

Работа выполнена по теме 121041400077-1 – «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом».

ИЗМЕНЕНИЯ ПЛОЩАДИ ПОВЕРХНОСТИ И ОБЪЕМА ТЕЛА В ОНТОГЕНЕЗЕ ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА

Силина А. В.¹

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток, allasilina@mail.ru

Объем и площадь поверхности организмов важны для многих аспектов экологии, физиологии и продуктивности видов. В то время как линейным параметрам и массе тела коммерчески важного приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* уделялось много внимания в литературе, площадь поверхности (S) и объем (V) его тела не измерялись, скорее всего, из-за методологических трудностей. Цель данной работы – исследовать закономерности изменения S и V в онтогенезе гребешка.

Моллюсков собирали из популяции, обитающей в зал. Владимира Японского моря. Возраст каждой особи устанавливали по разработанной ранее методике, измеряли высоту раковины и определяли S и V.

Аллометрические регрессионные связи S и V с высотой раковины успешно описаны степенными функциями (рис. 1А, Б). Показатели функций приблизительно равны 2 и 3 соответственно для площади и объема. Это указывает на практически изометрический рост гребешка по этим параметрам.

Получено, что высота раковина гребешка в течение его жизни увеличивается неравномерно (рис. 1В). Приросты наиболее высоки до трехлетнего возраста, это возраст наступления половозрелости приморского гребешка в районе исследования. Затем до семи лет рост был умеренным. Очевидно, это связано с перераспределением энергии и направлением ее в первую очередь на обеспечение успешного созревания гонад и нереста. После семи лет отмечен незначительный прирост раковины в высоту. Известно, что созревание гонад происходит каждый год и может продолжаться до самой гибели гребешка от старости, а количество усвоенных питательных веществ, остающихся для роста раковины, крайне снижается.

При оценке роста S и V найдена сигмоидальная связь с возрастом гребешка (рис. 1Г). Максимальные приросты, как S, так и V установлены с двух до семи лет. Это активный период в онтогенезе гребешка: первый год созревания гонад, и последующее постепенное увеличение объема половых продуктов при каждом последующем ежегодном нересте. После семилетнего возраста S и V прирастают незначительно. Ранее

показано, что после определенного для популяции возраста гребешка выход половых продуктов остается неизменным, а далее даже снижается. Реально, в старости, при мало изменяющихся S и V , объем внутренней полости гребешка постепенно уменьшается. Это происходит из-за утолщения раковины при ее отложении только на внутренних поверхностях створок моллюска. Ресурсов (объемы потребленной пищи, усвоенного кислорода и т.д) для продолжения воспроизводства популяции (созревания половых продуктов) и одновременного роста тела в высоту становится недостаточно. Старый организм не способен поддерживать высокий уровень функционирования. Продолжительность жизни, а также время наступления половозрелости и старости не одинаковы для разных популяций приморского гребешка и зависят от условий среды.

Таким образом, жизненный цикл особи в целом и такие его важные этапы как время наступления половой зрелости и динамика старения существенно определяют характер и скорость изменения морфометрических показателей состояния организма, включая S и V .

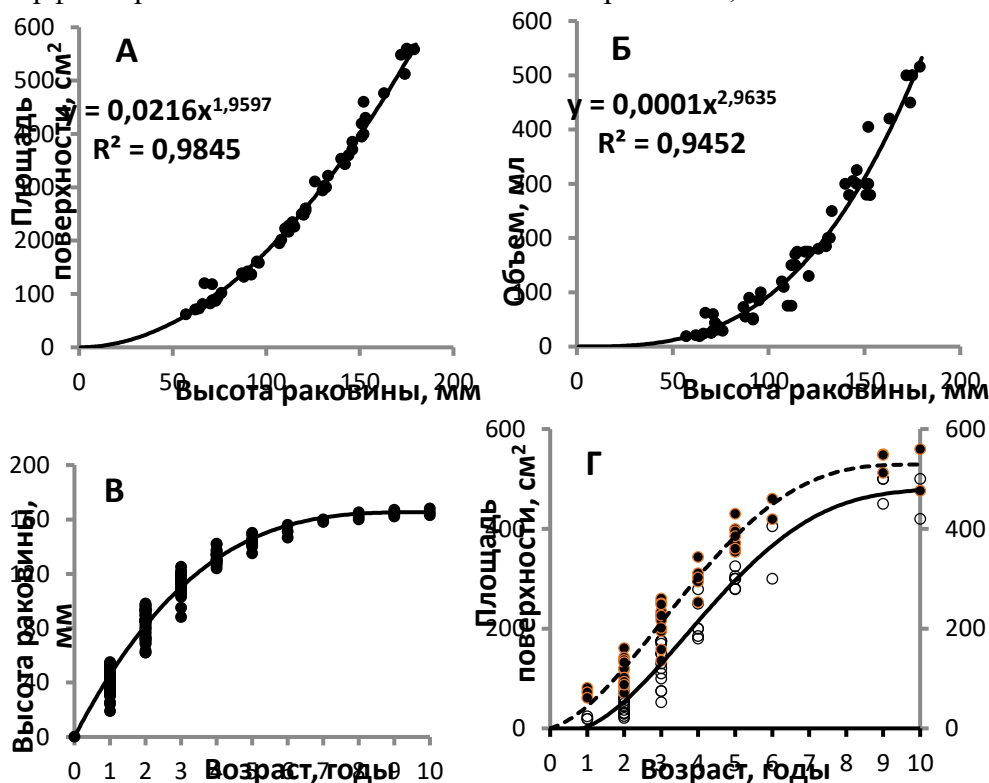


Рис. 1. Изменения площади поверхности (А) и объема (Б) тела приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* с увеличением высоты его раковины; В – динамика высоты раковины, Г – изменение с возрастом площади поверхности (пунктирная линия, черные точки) и объема тела моллюска (сплошная линия, белые точки).

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ МЕТОДА ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ В ОТНОШЕНИИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ГЕМОЦИТОВ *BIVALVIA* В МОРСКОЙ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ

Синенко А. В.^{1*}, Христофорова Н. К.¹, Анисимова А. А.¹

¹*Институт Мирового океана, Дальневосточный федеральный университет,*

*г. Владивосток, sinenko.avia@dvfu.ru**

Проведен анализ результатов измерения содержания ДНК в гемоцитах двустворчатого моллюска *Ruditapes philippinarum*, полученных при двух способах подготовки образцов гемолимфы, и дана оценка диагностической значимости общепринятых маркеров генотоксического повреждения клеток при их определении методом проточной цитометрии. Методологический подход заключался в сравнении параметров митотического цикла (ДНК-профиля), среднего значения содержания ДНК (*c*-индекса) и коэффициента вариации (КВ) размера генома в клетках гемолимфы у моллюсков с четырех станций б. Новик (о-в Русский, зал. Петра Великого), предварительно исследованных на предмет биоаккумуляции тяжелых металлов (Fe, Mn, Cu, Zn, Cd, Ni) мягкими тканями.

Методом проточной цитометрии гемоциты *R. philippinarum* по параметрам светорассеяния дифференцированы на три структурных типа – регионы R1, R2 и R3, соответствующие трем морфотипам – гемобластам, гиалиноцитам и гранулоцитам. Дифференциальная оценка содержания ДНК в клетках разных регионов показала, что пролиферативная активность свойственна только гемобластам из региона R1. Доля клеток в разных фазах митотического цикла варьировала от полного отсутствия G₂/M-клеток (пролиферации нет) до симметричного распределения клеток на два пика (тотальная пролиферация) или преобладания полиплоидных клеток классов 3 и 4 *c*. Полиплоидные и анеуплоидные значения регистрировались и в клетках регионов R2 и R3, в сочетании с морфологическими признаками незавершенного или асимметричного митоза – наличием дополнительных ядер, микроядер и ядерных пузырьков.

Результаты проточной цитометрии отличались в зависимости от того, какой краситель был применен для окрашивания ДНК – 4',6-диамидин-2-фенилиндол (DAPI) или йодистый пропидий (PI). Окрашивание клеток PI предполагает использование для пермеабиллизации мембран детергента Triton X-100, который приводил к

повреждению гемоцитов и высвобождению клеточных ядер. Последние по своим физическим характеристикам были близки к гемобластам и попадали в регион R1. Соответственно, при окрашивании образцов гемолимфы PI число событий в R1 всегда было в разы выше, чем при окрашивании тех же образцов DAPI; максимальные различия, достигающие шести крат, были зарегистрированы в выборке со станции мыс Узкий. Этот факт влиял и на характер распределения событий по содержанию ДНК, а также на показатели KV размера генома и *c*-индекса. При измерении содержания ДНК в целых клетках (все клетки, окрашенные DAPI, и клетки регионов R2 и R3, окрашенные PI) достоверные различия в значениях KV обнаружены не были, но при пересчете KV по отдельным ядрам (регион R1 при окрашивании PI) появлялись различия между выборками со станций м. Узкий и о-в Елены. KV размера генома у моллюсков со станции о-в Елены при таком подходе показал наибольшее значение, что было скоррелировано с повышенным содержанием кадмия в мягких тканях по сравнению с тремя другими выборками. *C*-индекс, измеряемый по всем клеткам при использовании DAPI, показал значение более 3 *c* в выборках у м. Узкий и м. Старицкого, которые статистически не отличались друг от друга. Однако при окрашивании тех же образцов PI между ними появлялись различия за счет снижения *c*-индекса в выборке м. Старицкого. *C*-индекс, рассчитанный только по региону R1, при окрашивании DAPI (гемобласты) не дифференцировал четыре выборки, но при использовании PI (гемобласты + ядра других гемоцитов) моллюски со станции м. Узкий все же выделялись из всех повышенным *c*-индексом, за исключением выборки со станции м. Старицкого. Обнаруженные диспропорции в значениях *c*-индекса соотносились с изменениями в характере ДНК-профиля, особенно выраженными в выборке со станции м. Узкий, где отмечены повышенный коэффициент изоляции клеточных ядер и повышенное содержание клеток с ядерными абберациями, включая двуядерность. При окрашивании DAPI все клетки в образце могли относительно равномерно распределяться вокруг модального значения содержания ДНК (чаще всего – больше 2 *c*), в то время как при окрашивании PI на гистограмме дополнительно появлялся четко выраженный диплоидный пик, образованный ядрами поврежденных клеток регионов R2 и R3. Таким образом, ядра разрушенных гемоцитов могли изменять пропорцию выявляемых классов пloidности. Это приводило к занижению *c*-индекса, определяемого на гистограммах распределения событий региона R1 по содержанию ДНК, у моллюсков со станции м. Узкий, но не со станции м. Старицкого. На других станциях при окрашивании PI также наблюдали снижение *c*-индекса в регионе R1 по сравнению с *c*-индексом основной массы клеток, что не было связано с большим количеством абберантных гемоцитов. Эти

результаты указывают на источники дополнительного цитоплазматического свечения в гемоцитах *R. philippinarum* со станций о-в Елены и пос. Подножье.

Согласно микроскопическому анализу, на мазках гемолимфы моллюсков со станций о-в Елены, пос. Подножье и м. Старицкого наблюдали картину внутриклеточного инфицирования крупных гемоцитов микроорганизмами, напоминающими риккетсии. Три выборки статистически не различались по индексу заражения гемоцитов, определяемому как отношение числа всех внутриклеточных бактерий к числу учтенных гемоцитов. Однако в выборке со станции м. Старицкого с увеличением индекса заражения росло количество клеток с крупными, плеоморфными или удвоенными ядрами ($r = 0.97$), а доля клеток с микроядрами прямо коррелировала с количеством внутриядерных бактерий ($r = 0.89$). На станциях о-в Елены и пос. Подножье, напротив, обнаружена обратная корреляция между индексом заражения гемоцитов и количеством ядерных аберраций ($r = -0.93$ и $r = -0.85$, соответственно). Надо полагать, что разрушению чаще подвергались клетки с ядерными аберрациями независимо от уровня заражения, что указывает на сопряжение генетоксического и цитотоксического эффектов. Так как у особей со станции м. Старицкого уровень заражения и количество ядерных аберраций находились в прямой связи, события регионов R2 и R3 не отличались от событий региона R1 по значению *s*-индекса, поскольку в этом случае разрушению подвергались именно максимально зараженные клетки. Кроме того, максимально высоким коэффициентом извлечения ядер характеризовались незараженные моллюски со станции м. Узкий с максимально высоким количеством ядерных аберраций.

Таким образом, связь с уровнем загрязнения тяжелыми металлами показал только один из исследованных параметров – КВ размера генома, определенный на основании анализа отдельных ядер. Все остальные феномены отражали действие иных факторов, таких как гипоксия (в районе м. Узкий) или бактериальное заражение (в районах о-ва Елены, пос. Подножье и м. Старицкого).

НИТЧАТЫЕ ЭКТОКАРПОВЫЕ ВОДОРОСЛИ (ECTOCARPALES, RHAEORHUSACEAE) КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ОБЪЕКТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ДОБАВОК К КОРМАМ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Скрипцова А. В.¹, Масленников С. И.^{1,2}

¹*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, askriptsova@mail.ru*

²*Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, 721606@mail.ru*

Морские водоросли – перспективное сырье, которое используется в промышленности, сельском хозяйстве и медицине, а также как стартовый корм при заводском выращивании беспозвоночных и рыб. Потребность в кормах для водных беспозвоночных и рыб возрастает с каждым годом. В России она оценивается в 280 000 тонн в год. В настоящее время производство кормовой муки все больше ориентируется на растительное сырье. Для достижения необходимой пищевой ценности такого корма предлагается добавление водорослей в качестве источника незаменимых жирных кислот и других важных компонентов. Поэтому актуален поиск среди местных водорослей новых объектов культивирования в качестве кормовых ресурсов. Перспективными для этих целей являются нитчатые бурые водоросли порядка Ectocarpales. Это сборная группа, объединяющая водоросли с нитчатыми талломами из разных семейств. Многие виды являются эндофитами, приспособленными к низкой интенсивности света. Благодаря небольшим размерам (от десятков микрометров до нескольких миллиметров), их можно выращивать в фотобиореакторах с контролируемыми условиями среды, что позволяет поддерживать оптимальные условия для роста и получать продукцию в течение всего года. Несмотря на то, что нитчатые эктокарповые водоросли встречаются практически повсеместно в прибрежной зоне всех морей и обладают высокой скоростью роста и широким диапазоном толерантности к факторам среды, эта группа водорослей до сих пор не рассматривалась в качестве объекта выращивания.

Цель данного исследования – оценить потенциал нитчатой бурой водоросли *Laminariocolax aecidioides* (Ectocarpales) как объекта культивирования и кормовой добавки при заводском выращивании беспозвоночных, определив ее пищевую ценность и оптимальные условия для роста.

Эндофитная водоросль *L. aecidioides* выделена в чистую свободноживущую культуру из талломов *Undaria pinnatifida*, собранных в заливе Петра Великого (Японское море) (Скрипцова, 2020). Культуру содержали в стерильной морской воде с добавлением среды ES (Provasoli, 1968) при 16°C, фотопериоде 12 часов света: 12 часов темноты и освещенности 10 мкЕ/м² с. Для подбора оптимальных условий температуры и освещения водоросли выращивали в диапазоне температуры от 5 до 25°C, освещенности от 0 до 200 мкЕ/м² с и фотопериоде (свет/темнота): 8/16, 10/14, 12/12, 14/10 и 16/8 часов. Длительность экспериментов составила 21 день. Пищевая ценность и аминокислотный состав были оценены в лаборатории ООО «Арника».

Пищевая ценность. В аминокислотном составе представлены все незаменимые аминокислоты. Среди них доминировали лейцин и изолейцин, в меньшем количестве были представлены валин, лизин, метионин, треонин и фенилаланин (таблица). По литературным данным, липиды *L. aecidioides* богаты полиненасыщенными жирными кислотами: 18:3 ω -3, 18:4 ω -3, 20:5 ω -3 и 18:2 ω -6 (Чадова, Веланский, 2021).

Влияние света и температуры на рост *L. aecidioides*. Скорость роста водоросли варьировала от 0.5 до 5.5% в сутки в зависимости от условий выращивания. Прирост биомассы составил от 0.6 до 13 мг/л сут (сырой биомассы). В оптимальных условиях за 3 недели выращивания биомасса увеличилась с 0.03 г/л до 1.43 г/л. Максимальная скорость роста и продуктивность водоросли наблюдалась при освещенности от 50 до 200 мкЕ/м² с, температуре от 15 до 25°C. Продолжительность освещения не оказывала существенного влияния на рост водоросли. Положительный рост водоросли наблюдался при освещенности 5 мкЕ/м² с, но значения были низкими – менее 1% в сутки.

Таблица. Пищевая ценность и аминокислотный состав *Laminariocolax aecidioides*

| Пищевая ценность | | | |
|------------------------|------|--|------|
| Белки* | 3.3 | Углеводы* | 14.4 |
| Жиры* | 0.2 | Калорийность, ккал/100 г сыр. массы | 72.6 |
| Аминокислотный состав* | | | |
| Аланин | 0.15 | Метионин | 0.12 |
| Аргинин | 0.1 | Пролин | 0.08 |
| Валин | 0.11 | Серин | 0.09 |
| Гистидин | 0.04 | Тирозин | 0.07 |
| Глицин | 0.13 | Треонин | 0.1 |
| Изолейцин и лейцин | 0.28 | Фенилаланин | 0.12 |
| Лизин | 0.07 | | |

* – % сырой массы

Хотя полученные скорости роста и продукции биомассы ниже известных для микроводорослей, *L. aecidioides* обладает одним существенным преимуществом – более низкими потребностями в освещенности. Для роста большинства культивируемых в настоящее время и перспективных для выращивания морских микроводорослей оптимальной является освещенность более 100 мкЕ/м² с, насыщение же роста *L. aecidioides* наблюдается при интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) 50 мкЕ/м² с. Низкие потребности в освещенности *L. aecidioides* могут минимизировать затраты при выращивании водорослей в фотобиореакторах, поскольку именно освещение культуры составляет значительную часть его стоимости.

Масштабирование культуры. Данные о продукции биомассы и об оптимальных световых и температурных условиях для роста *L. aecidioides* получены в лабораторной культуре в колбах небольшого объема (200 мл). При масштабном выращивании продуктивность может отличаться от значений, полученных в лаборатории. Для оценки потенциала к культивированию в большом объеме, водоросли выращивали в сосудах объемом 10 л при температуре 16°C и интенсивности ФАР 100 мкЕ/м² с. Скорость роста *L. aecidioides* в этих условиях составила в среднем 5.5±1.7% в сутки, прирост биомассы – 1.9±0.7 г/л. В среднем за 3 недели выращивания в 10-литровых сосудах получено 18±7 г водорослей при начальной биомассе 4.5±1.3 г (эквивалентно 0.5 г/л).

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках достижения результатов федерального проекта «Передовые инженерные школы», соглашение №075-15-2022-1143 от 07.07.2022 и гранта РНФ № 21-74-30004 «Разработка современных подходов к созданию технологий устойчивого культивирования и воспроизводства ценных морских гидробионтов».

СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ МОЛЛЮСКОВ И СРЕДЫ ИХ ОБИТАНИЯ

Сокольникова Ю. Н.¹, Гринченко А. В.¹, Кумейко В. В.^{1,2}

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, yulia.sn@mail.ru

²Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

Одной из проблем аквакультуры и рационального пользования водными биоресурсами является отсутствие эффективных инструментов оценки состояния здоровья морских организмов. Традиционным методом диагностики состояния двустворчатых моллюсков является гистологический анализ, технологически трудоемкий и отражающий лишь морфологическую картину изменений, которая может быть отчетливо зарегистрирована в основном на поздних этапах развития патологий. Очевидно, что для создания корректного интегрального показателя состояния здоровья в диагностике необходимы истинно функциональные тесты. Изменения показателей внутренней среды организма являются наиболее достоверным отражением механизмов его адаптации к условиям обитания. Настоящая работа посвящена количественному анализу взаимосвязи параметров гемолимфы моллюсков при патогенетических процессах различной природы, которые вместе могут обеспечить действительно интегральную характеристику состояния этих организмов.

В качестве тест-объекта использовали широко распространенного в Японском море двустворчатого моллюска из семейства Mytilidae – *Modiolus kurilensis*, у которого проводили оценку иммунологических параметров в условиях нормы и при стрессовых условиях. После оптимизации и валидации методик взятия материала провели оценку иммунного статуса данного вида моллюсков из чистых (фоновых) акваторий для определения пределов вариативности показателей иммунитета в условиях нормы (Sokolnikova et al., 2015). Установлено, что средние значения фагоцитарной активности (ФА) и индекса (ФИ) гемоцитов, а также гемагглютинирующей активности (ГА) плазмы *M. kurilensis* из фоновых акваторий залива Петра Великого Японского моря достоверно не различаются. Проведенный межгодовой мониторинг ФА у животных из фоновой акватории (залив Восток) показал их относительно стабильный уровень в пределах нормы в течение 5 лет исследования в сравнении с таковыми из импактной акватории (Спортивная гавань, г. Владивосток), что подтверждает релевантность

использования данного вида моллюсков и их иммунных параметров в качестве референсных индикаторов.

При анализе активности факторов гемолимфы в течение года установлено, что пол моллюсков не влияет на иммунные показатели, тогда как с возрастом у животных наблюдалось достоверное снижение показателей (Grinchenko et al., 2021). Кроме того, установлено, что в течение года у модиолусов число гемоцитов и доля клеток с активными формами кислорода (АФК), а также ФА имеют прямую корреляцию с температурой и соленостью среды, а обратную – с концентрацией кислорода. Концентрация общего белка плазмы (КБ) имела обратную корреляцию с температурой. Наиболее выраженные корреляции между иммунными параметрами обнаруживались с апреля по июнь, что, вероятно, связано с повышением бактериальной нагрузки в весенне-летний период (Grinchenko et al., 2021). Минимальные значения показателей отмечены в январе, а максимальные – ранней весной (в остальные месяцы показатели имели метастабильные значения).

Следующий этап работ включал себя оценку иммунных параметров по разработанной технологии, но в условиях стресса. Вначале была проведена оценка влияния хронического стресса, выражающегося в загрязнении акватории, гистопатологиях и паразитарных инвазиях. Для анализа иммунного статуса и биохимических параметров были проанализированы 16 показателей, которые согласно литературным данным, наиболее часто применяются в подобных исследованиях. Для совершенствования методов гистологического анализа нами предложены более 20 оригинальных формул оценки гистоморфологических параметров почек и пищеварительной железы (ПВЖ), включая паразитарные инвазии. Впервые выполненная количественная оценка гистопатологических изменений показала достоверно большую интенсивность и частоту встречаемости в почках у животных из импактной акватории кариопикноза, изменений площади и структуры конкреций, толщины базальной мембраны и формы нефроцитов, а в ПВЖ – кариопикноза, гипервакуолизации, некроза, инфильтрации интерстициального пространства гемоцитами, оккупации фиброзной тканью и паразитами (Kumeiko et al., 2018). В итоге установлено, что в условиях импактной акватории или при наличии патологий происходит снижение гемолитической активности (ГЛ) и КБ плазмы, а также ФА, размера гемоцитов, их гранулированности, а также доли клеток с АФК, но повышается концентрация гемоцитов. В случае паразитарной инвазии доли клеток с АФК и ГЛ были повышены, а ФИ снижен. При этом значения показателей во всех случаях достоверно отличались в 1,5–2 раза.

Под влиянием паразитарной инвазии зеленых микроводорослей *Coccomyxa parasitica* у модиолуса также отмечено достоверное по сравнению со здоровыми животными снижение ФИ при увеличении ГЛ, числа гемоцитов и доли среди них фагоцитов, эозинофилов и клеток, содержащих АФК.

Изучена динамика иммунного ответа *M. kurilensis* в ответ на краткосрочное введение термически инактивированных бактерий *Staphylococcus* sp. (Grinchenko et al., 2015). Установлено, что эффекторная стадия, сопряженная с активным поглощением гемоцитами введенного антигена *in vivo*, наступает в первые 12 ч и характеризуется достоверным снижением ФА *in vitro*. Через 36 ч клеточный ответ усиливается с ярко выраженной реакцией, что связано с увеличением числа гемоцитов и содержанием среди них клеток с АФК. По мере клиренса организма от антигена в течение первых 48 ч происходит постепенное снижение клеточной активности и возвращение к исходному уровню через 72 ч.

Следующий этап – оценка параметров гемоцитов после краткосрочного закисления, опреснения и повышения температуры воды. Среди этих воздействий закисление оказывало наибольший эффект и приводило к подавлению иммунной защиты *M. kurilensis*, тогда как опреснение, наоборот, в основном оказывало иммуностимулирующий эффект. При этом достоверно изменялись КБ плазмы, число и ФА гемоцитов.

Выявленные иммунные параметры гемолимфы у модиолусов, достоверно реагирующие на различные факторы, были также протестированы у промысловых видов моллюсков *Mya arenaria*, *Mizuhopecten yessoensis*, *Crenomytilus grayanus*, *Arca boucardi*, *Crassostrea gigas* и *Saxidomus purpuratus*. В результате достоверные различия между популяциями из акваторий с разной антропогенной нагрузкой наблюдались относительно КБ плазмы, числа гемоцитов и их ФА.

Таким образом, в качестве инструмента для оценки степени здоровья моллюсков и состояния среды их обитания могут быть рекомендованы показатели, наиболее достоверно отражающие их физиологическое состояние: концентрация общего белка плазмы, а также число гемоцитов и их фагоцитарная активность, поскольку они проявляют высокую чувствительность в условиях стресса разной природы.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА АТИПИЧНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ У РЫБ ИЗ АКВАТОРИИ С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

Спирина А. А.^{1, 2}, Макеев А. А.³, Лошенко В. И.³, Сахаров А. В.³,
Шестопалов А. М.⁴

¹Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,

²НИИ вирусологии Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, a.spirina@g.nsu.ru

³Новосибирский государственный педагогический университет, г. Новосибирск, prorector_educat@nspu.ru; vitalina_loshenk@mail.ru; asakharov142@yandex.ru

⁴НИИ вирусологии Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, shestopalov2@mail.ru

Сибирь – это огромный географический и исторический регион России, богатый разнообразными флорой и фауной. В результате активного освоения колоссальных территорий многие пригородные водоемы в настоящее время оказались в структуре городской среды. Приспособление организма гидробионтов к действию стремительно меняющихся факторов окружающей среды ведет к хроническому напряжению функциональной активности важнейших систем гидробионта и делает его уязвимым для возбудителей заболеваний различной этиологии. Данные мониторинга природных водоемов показали, что в течение последних трех лет среди рыб в уловах стали встречаться особи с неизвестными формами заболеваний.

В зимний период 2020 г. с использованием сетей добыты 23 особи серебряного карася *Carassius gibelio* обоих полов, возрастом 3–5 лет и средней массой 1370 ± 28 г с признаками новообразования в области головы. Водоем расположен в пределах крупного мегаполиса, граничит с автострадой и крупным агропромышленным предприятием. Материалом для исследования служили патологические измененные мягкие ткани жаберной крышки рыб, которые вырезали для анализа в комплексе с костной тканью. Материал фиксировали 10%-ом растворе забуференного нейтрального формалина, а затем подвергали декальцинации в насыщенном растворе трилона Б. Далее исследуемые образцы обезвоживали в изопропиловом спирте и заливали в гистомикс. Срезы толщиной 5–10 мкм готовили на ротационном

полуавтоматическом микротоме. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином Бемера и эозином. Суммарные кислые гликозаминогликаны (ГАГ) выявляли в гистохимической реакции с альциановым синим по Стивдену. Локализацию коллагеновых фибрилл проводили реакцией по Маллори.

Результаты патоморфологического анализа исследуемых образцов ткани рыб позволяют идентифицировать обнаруженное новообразование как опухоль эпителиальной ткани (эпителиому). Установлено, что в морфогенезе опухолевого роста закономерно происходит гиперплазия эпителия, а далее дисплазия. Как показывают результаты исследования, рост опухоли осуществляется преимущественно за счет пролиферации кератиноцитов базального слоя и дифференцированных клеток эпителия, что может являться их стереотипной реакцией на повреждение патогеном. Кроме того, наличие клеток с признаками малигнизации, участков гиперкератоза эпителия и разрастание стромы с ее обильной васкуляризацией отражают высокий уровень атипичности ткани и указывают на развитие плоскоклеточного рака *in situ*.

Несмотря на то, что постановка окончательного диагноза считается прерогативой комплексных исследований, установление патоморфологического диагноза является обязательной частью заключения о причине, характере и форме заболевания. С нашей точки зрения, наличие в структуре базального слоя активно пролиферирующих клеток с просветленной околядерной зоной и узким ободком оксифильной цитоплазмы имеют морфологическое сходство с койлоцитами – клетками эпителия, инфицированного вирусом папилломы человека. Считается, что наличие койлоцитов является патогномичным признаком поражения клеток эпителия человека вирусом и именно с ними связывается нарастающая атипичность и озлокачествление ткани. Вместе с тем обилие лимфоцитов в капиллярах стромы, а также локация в периваскулярной области базальной мембраны свидетельствуют о причастности к патологическому процессу вирусного патогена. Таким образом, обнаруженная эпителиома у карася имеет схожие признаки с патоморфологией вирусного папилломатоза у человека и стоматопапилломатозом рыб. Однако последний не характерен для рыб семейства карповые. Считается, что вирус стоматопапилломатоза угрей является представителем большой группы вирусов с РНК-геномом. Несмотря на видоспецифичность, семейство *Orthomyxoviridae* включает вирусы гриппа, который в начале XX века стал причиной серии вспышек смертельных заболеваний, основными распространителями которых были животные. В связи с этим не исключается возможность преодоления вирусными патогенами видовой специфичности и расширения путей распространения инфекции.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СИНАПТАМИДА ПРИ КОМПРЕССИОННОЙ ТРАВМЕ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА У КРЫС

Старинец А.А., Манжуло И. В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток*

Одной из важных проблем современной медицины является лечение нейропатической боли, вызванной травмой периферической нервной системы (ПНС). К разрабатываемым в настоящее время альтернативным методам лечения относится терапия препаратами на основе полиненасыщенных жирных кислот и их метаболитов с нейромодуляторной и противовоспалительной активностью. N-докозагексаеноилэтаноламин, или синаптамид, – метаболит докозагексаеновой кислоты, который способствует нейрито- и синаптогенезу, дифференциации стволовых нервных клеток и ингибирует выброс провоспалительных цитокинов при ЛПС-индуцированном воспалении. Терапия синаптамидом травмы седалищного нерва у крыс снижает выраженность симптомов нейропатической боли и воспаления в спинном мозге и гиппокампе, однако влияние терапии на ПНС до настоящего времени не изучалось. Мы предполагаем, что лечение синаптамидом компрессионной травмы седалищного нерва уменьшает воспаление в ПНС, что приводит к снижению активности нейрональной NO-синтазы (nNOS) и субстанции P (SP) и тем самым способствует ослаблению нейропатической боли.

Перед операцией по моделированию компрессионной травмы седалищного нерва всех подопытных крысы разделили на 4 группы: ЛО – ложнооперированные животные; ЛО+Син – ложнооперированные крысы, которым вводили синаптамид (4 мг/кг/сут); Боль – животные с компрессионной травмой нерва; Боль+Син – крысы с травмой нерва, которым вводили синаптамид. Компрессионную травму моделировали наложением трех лигатур на седалищный нерв. Ложнооперированным крысам проводили операцию по обнажению нерва без лигирования. Образцы седалищного нерва и спинальных ганглиев были изъяты на 14-е и 35-е сут после операции.

Степень тяжести нейропатического болевого синдрома можно оценить по характеру распределения веса между поврежденной и интактной конечностями. У групп ЛО и ЛО+Син этот показатель находился в пределах 50:50%. Животные в группе Боль по истечении первой недели после операции показали выраженную асимметрию в

распределении массы тела на задние конечности – $63,9 \pm 2,2\%$: $36,1 \pm 2,2\%$, в то время как в группе Боль+Син дефицит в распределении массы достоверно менее выражен ($56,4 \pm 1,4\%$: $43,6 \pm 1,4\%$). К концу второй недели у группы Боль анализируемый показатель оставался по-прежнему асимметричен ($55,0 \pm 1,4\%$: $45,0 \pm 1,4\%$), но при терапии синаптамидом баланс распределения веса восстанавливался ($51,0 \pm 1,5\%$: $49,0 \pm 1,5\%$).

Компрессионная травма седалищного нерва приводит к демиелинизации и деградации миелиновых оболочек в дистальной области нерва. Через 14 сут после операции площадь окрашивания миелин-позитивных структур (МВР) в дистальном сегменте нерва значительно снижалась до $6,2 \pm 0,5\%$ в группе Боль и до $6,1 \pm 0,5\%$ в группе Боль+Син, по сравнению с группами ЛО и ЛО+Син ($39,5 \pm 2,2\%$ и $41,9 \pm 1,2\%$ соответственно). Однако на сроке 35 сут при терапии иммунореактивность МВР увеличилась до $33,5 \pm 1,1\%$, что значительно превышало таковую в группе Боль ($28,4 \pm 0,9\%$).

В дистальном сегменте нерва наблюдалась воспалительная реакция, которая выражалась в изменении динамики активности *iba-1*-, CD163- и CD68-позитивных макрофагов. Активность общего пула макрофагов (*iba-1*) сходным образом повышалась в группах Боль и Боль+Син через 14 сут после операции, но достоверно снижалась при терапии синаптамидом ($2,64 \pm 0,2\%$) по сравнению с группой Боль ($5,49 \pm 0,8\%$) на сроке 35 сут. При этом терапия способствовала достоверному снижению активности провоспалительных макрофагов (CD68) с $3,75 \pm 0,2\%$ до $2,96 \pm 0,2\%$ на сроке 14 сут и повышению иммунореактивности противовоспалительных макрофагов (CD163) с $23,84 \pm 2,4\%$ до $33,52 \pm 2,8\%$ на сроке 35 сут. На сроке 35 сут наблюдалось также значительное повышение уровня ИЛ-6 в группе Боль; при этом показатели группы Боль+Син достоверно не отличались от контрольных.

Терапия синаптамидом не оказала влияния на динамику активности общего пула макрофагов в ипсилатеральных спинальных ганглиях, однако иммунореактивность CD163-позитивных противовоспалительных макрофагов достоверно повышалась в группе Боль+Син по сравнению с группой Боль на обоих сроках. Нейроглиальный индекс, который отражает количество сателлитных глиальных клеток (СГК) вокруг одного нейрона, был значительно увеличен для мелких ($4,2 \pm 0,2$), средних ($11,3 \pm 0,4$) и крупных ($16,8 \pm 0,5$) нейронов в спинальных ганглиях крыс в группе Боль. Терапия синаптамидом препятствовала увеличению числа СГК ($3,3 \pm 0,1$ для мелких, $7,9 \pm 0,2$ для средних и $12,0 \pm 0,3$ для крупных нейронов) на сроке 14 сут. Через 35 сут после операции нейроглиальный индекс для средних и крупных нейронов в группе Боль+Син понизился по сравнению с остальными группами. СГК в норме не экспрессируют

глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), но патологический процесс при травме ПНС сопровождается активацией экспрессии GFAP, сходной с таковой в астроцитах спинного мозга. Через 14 сут после операции наблюдалось повышение площади окрашивания GFAP в группах Боль и Боль+Син, но на 35-е сут при терапии синаптамидом происходило снижение иммунореактивности GFAP ($5,5 \pm 0,6\%$) в группе Боль+Син по сравнению с группой Боль ($7,8 \pm 0,8\%$).

Субстанция Р (SP) и оксид азота – важнейшие медиаторы нейропатической боли, они участвуют в проявлении симптомов нейропатического болевого синдрома. На сроке 14 сут в группах Боль и Боль+Син достоверно повышалось число SP-позитивных нейронов по сравнению с контролем. На сроке 35 сут отмечено достоверное снижение количества SP-позитивных нейронов (2886 ± 189 кл/мм³) в группе Боль+Син по сравнению с группой Боль (3685 ± 201 кл/мм³). Терапия привела также к достоверному снижению количества nNOS-позитивных нейронов до уровня контроля в группе Боль+Син (5098 ± 356 кл/мм³), по сравнению с группой Боль (8049 ± 473 кл/мм³) на 35-е сут после операции.

Синаптамид оказывает комплексное влияние на посттравматические процессы как в центральной, так и периферической нервной системе. Таким образом, синаптамид представляется многообещающим соединением для лечения нейропатической боли.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПОВ И ПАРАМЕТРОВ РОСТА МОРСКИХ ЛИЛИЙ *HELIOMETRA GLACIALIS* (OWEN, 1833 EX LEACH MS) ПО ПОЗВОНКАМ ИХ ЛУЧЕЙ

Стратаненко Е. А.

Зоологический институт Российской академии наук (ЗИН РАН), г.
Санкт-Петербург, E.Stratanenko@mail.ru

Морские лилии (Crinoidea) относятся к типу иглокожих. Внешне они напоминают разветвленный перистый цветок. Организм этих животных состоит из чашеобразного тела, длинных, напоминающих перо лучей и стебелька, который у некоторых форм во взрослом состоянии атрофируется. Внутренний скелет лучей представлен продольным рядом члеников или позвонков, которые сочленяются между собой не перпендикулярно, а наискосок. Позвонки морских лилий, как и у офиур (змеехвосток), состоят из микропористого материала стереома. Поры, формирующие структуру позвонков, варьируют по размеру. В ряде публикаций на примере офиур показано, что чередование крупных и мелких пор в структуре позвонков можно рассматривать как периодичность роста животного (Gorzula, 1977; Gage, 1990). Это предположение в значительной степени подтверждено экспериментальными исследованиями (Dahm, 1993), в ходе которых выявлено, что периодичность формирования крупных и мелких пор обусловлена сезонным поступлением пищевого материала на дно и, как следствие, отражает динамику роста организма. В дальнейшем методика определения индивидуального возраста по кольцам, формирующимся в структуре позвонков змеехвосток, была успешно апробирована (Gage, 1990, 2003; Dahm, 1993, 1996, 1999; Dahm, Brey, 1998; Анисимова, 2000; Quiroga, Sellanes, 2009; Ravelo et al., 2017; Kazuki et al., 2019; Stratanenko, 2020). О росте же морских лилий, несмотря на общую схожесть строения их позвонков с позвонками змеехвосток (рис. 1), на настоящее время ничего не известно.

В данной работе приводятся предварительные результаты исследования линейного роста морских лилий по кольцеобразным меткам роста, формирующимся в структуре их лучевых позвонков. В качестве объекта изучения выбран наиболее обычный для арктических морей России вид *Heliometra glacialis* (Owen, 1833 ex Leach MS). Для анализа использовали коллекционный материал Зоологического института РАН (коллекционный №149/18179), собранный в Баренцевом море в 1957 г. Общее количество проанализированных экземпляров – 16.

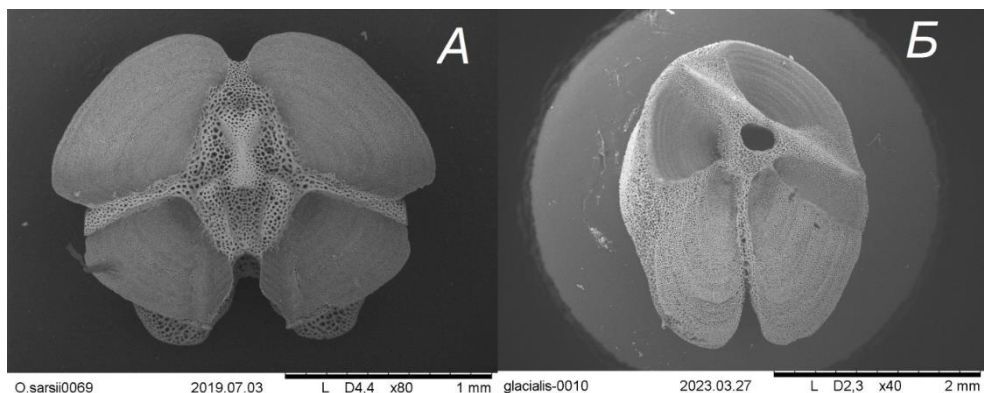


Рис. 1. Позвонки лучей офиуры (А) и морской лилии (Б)

Определение индивидуального возраста выполняли по методу, разработанному для змеехвосток (Gage, 1990). Исследование микроструктуры позвонков осуществляли при помощи сканирующего микроскопа Hitachi, TM-1000, Japan. В качестве математических моделей роста использовали уравнения Берталанфи и Гомперца.

Ширина чаши (тело морской лилии) анализируемых особей *H. glacialis* из Баренцева моря варьировала от 6 до 18 мм. Число видимых колец роста на поверхности лучевых позвонков (индивидуальный возраст), принятых нами за годовые, изменялось от 4 до 12.

Усреднённые параметры группового роста составили по уравнению Берталанфи: теоретически предельный радиус позвонка (R_{∞}) = 2044 ± 150 мкм, константа роста (k) = $0,22 \pm 0,03$, $t_0 = -1,95 \pm 0,30$; по уравнению Гомперца: $R_{\infty} = 1694 \pm 119$ мкм, константа экспоненциального замедления удельной скорости роста (g) = $0,41 \pm 0,04$, величина радиуса позвонка при $t = 0$ (R_0) = $0,95 \pm 0,09$ мкм.

На основе полученных предварительных результатов можно предположить, что для линейного роста исследованных морских лилий характерна ускоряющаяся фаза, длящаяся на протяжении первых 4–5 лет с последующим замедлением. При этом максимальная продолжительность жизни, вычисленная через оценку минимума второй производной скорости роста с помощью метода, предложенного А.Ф. Алимовым и Т.И. Казанцевой (2004), в рассматриваемой популяции составляет по уравнению Берталанфи 6 лет, по уравнению Гомперца – 8 лет.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания № 1021051402797-9.

**ГЛОБАЛЬНЫЕ КЛИМАТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАК ФАКТОР
ФОРМИРОВАНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ У МОРСКИХ РЫБ**

**Строганов А.Н.¹, Пономарева Е.В.¹, Беляев В.А.², Смирнов А.А.^{2,3},
Жукова К.А.¹**

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, *andrei_str@mail.ru*

²Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного
хозяйства и океанографии, Москва, *belyaev@vniro.ru*

³Северо-Восточный государственный университет, Магадан,
andrsmir@mail.ru

Морские рыбы, представленные в бореально-арктической зоне (например, из отрядов Сельдеобразных и Трескообразных), в силу своей высокой численности, способности к активным миграциям и значительной степени эврибионтности в наибольшей степени демонстрировали достаточно высокую интенсивность макро- и микроэволюционных процессов в четвертичном периоде, в том числе, на фоне глобальных изменений климато-океанологических характеристик, связанных с ними регрессиями – трансгрессиями Мирового океана.

Несмотря на кардинальные отличия систематического положения Сельдеобразных и Трескообразных, А.Н.Световидов в одной из своих фундаментальных работ (1944) отмечал большое сходство между треской и океанической сельдью в их распространении, экологии и других характеристиках. Более поздние исследования, а также работы по изучению морфо-биологической и генетической изменчивости представителей родов *Clupea* и *Gadus*, выполнявшиеся на кафедре ихтиологии МГУ, выявили ряд сходных черт формирования биоразнообразия в рамках этих таксонов в четвертичном периоде. Полученные данные также освещают некоторые вопросы систематики, демонстрирующие дискуссионность даже в ряде современных исследований. Перспективным представляется использование в изучении формообразовательных и видообразовательных процессов филогеографической концепции, которая предусматривает, как это показано в ряде известных работ отечественных и зарубежных исследователей (Майр, 1974; Тимофеев-Ресовский и др., 1977; Мина, 1986; Абрамсон, 2007, 2009 Avise et al., 1987 Bermingham, Moritz, 1998; Avise, 2000), комплексный подход при сборе первичной информации и при анализе и интерпретации данных, в том числе, генетических, с привлечением комплекса информации (этологической,

демографической, океанологической, геологической, палеонтологической, палеоклиматической и др).

Важным аспектом в процессе филогеографических исследований морских рыб, приуроченных к бореально-арктической области, является выявление уровня значимости для формообразовательных процессов различного рода палео- климато-океанологических явлений. Для восстановления путей расселения морских рыб, существовавших многие сотни тысяч лет назад и причин формирования их ареалов необходимы достаточно веские доводы. Требуется реконструкция вероятных палеоклиматических событий и условий среды для оценки их влияния на формообразовательные процессы. Один из способов верификации степени достоверности выполняемых реконструкций лежит в области сравнительной филогеографии и исходит из постулата, что сходные паттерны у разных видов свидетельствуют о том, что они сформировались под влиянием одних и тех же палеогеографических событий (Абрамсон, 2007, 2009).

В нашем случае такие построения выполнены для представителей родов *Clupea* и *Gadus*, принадлежащих отрядам Сельдеобразных и Трескообразных соответственно. Показано, что несмотря на систематическую удаленность таксонов, различия анатомические, физиологические, поведенческие и т.д., сельди и трески сходным образом отвечали на палеогеологические и палеоокеанологические события третичного и четвертичного периодов: открытие в ходе рифтового взаимодействия литосферных плит Берингова пролива, выхолаживание Арктики вследствие формирования сухопутного моста между Южной и Северной Америками, сходной направленности эволюция в денатантную фазу онтогенеза «в ответ» на спрединг земной коры материкового и океанического типов, плейстоценовые трансгрессии и регрессии Мирового океана и др. (Строганов, 2020; Строганов и др., 2020, 2021).

Обсуждаются особенности и специфика макро- и микроэволюционных процессов в рамках родов *Clupea* и *Gadus*. На основе полученных данных делаются выводы о филогении исследуемой группы, таксономической структуре, о времени дивергенции основных линий с проведением реконструкций вероятных палеоклиматических событий и палеоландшафтов.

ЦЕСТОДЫ БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ (*PUSA SIBIRICA* GMELIN, 1788)**Суворова И. В.¹, Белокобыльский И. Ф.², Спиридонов С. Э.³**¹ Центр океанографии и морской биологии «Москвариум», г. Москва, i.suvorova@moskvarium.ru² Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО), г. Москва, iwan09101985@mail.ru³ Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, г. Москва, s_e_spiridonov@rambler.ru

Изучение гельминтов байкальской нерпы имеет как фундаментальное, так и прикладное значение, поскольку этот вид настоящих тюленей распространен в коллекциях зоопарков и аквариумов. Понимание особенностей паразитирования тех или иных видов гельминтов дает возможность ветеринарным специалистам оценивать целесообразность проведения дегельминтизации и выбирать адекватные схемы антигельминтной терапии в случае необходимости ее проведения. Не менее интересно изучение данного аспекта и с точки зрения экологии и филогении, так как байкальская нерпа – это уникальное животное, представитель морских млекопитающих, обитающий в закрытом пресноводном водоеме в центре Сибири. В результате географической изоляции и изменения условий среды байкальская нерпа утратила все характерные для северных тюленей виды цестод (*Diphyllobothrium lanceolatum*, *D. schistochilus*, *D. pacificum*, *D. tetrapterus*, *Pyramicocephalus phocarum* и др.) и приобрела один вид (*Schistocephalus solidus*) в качестве факультативного паразита.

Сбор материала проводили в конце октября–начале ноября 2020–2022 гг. в ходе ежегодной научно-исследовательской экспедиции Байкальского отделения ВНИРО по изучению численности, мониторингу территориального распределения и роли байкальского тюленя в замкнутой экосистеме. Методом полных гельминтологических вскрытий отдельных органов (с учетом инструкций о гельминтологических вскрытиях морских млекопитающих) обследованы 172 байкальские нерпы. Вскрытиям подвергались сердце, легкие, пищевод, желудок, толстый и тонкий отделы кишечника, печень и почки байкальских нерп. Паразитов и их фрагменты сохраняли в 70% этаноле в индивидуальных пробирках. Идентификацию найденных цестод проводили при помощи стереомикроскопа Микромед МС-5-ZOOM LED на основании морфологических особенностей, а также молекулярно-генетическими методами. Для генетического анализа выбран фрагмент

первой субъединицы гена цитохром оксидазы (COI) митохондриальной ДНК (мДНК) представленный в Генбанке для семейства *Diphyllbothriidae*. Для амплификации использовали праймеры PBI-cox1F_PCR и PBI-cox1R_PCR.

Цестоды найдены в тонком кишечнике 12 особей байкальской нерпы. Гельминты располагались свободно в просвете кишечника, ассоциированные с паразитозом макроскопические патологические изменения со стороны слизистой органа не отмечены. Цестоды, обнаруженные у 11 тюленей, идентифицированы как *Schistocephalus solidus* (33 особи), у одного самца – *Ligula intestinalis* (2 особи). Максимальное количество *S. solidus*, зарегистрированных у одного хозяина, составило 10 особей.

L. intestinalis впервые зарегистрирована у байкальской нерпы. Как и в случае *S. solidus*, вторыми промежуточными хозяевами *L. intestinalis* являются некоторые виды рыб, а окончательными – рыбадные птицы. Наличие видов ремнецов, характерных для рыбадных птиц, у байкальской нерпы объясняется их случайным заражением ввиду сложного цикла данных цестод и доступности их промежуточных хозяев в качестве кормового объекта тюленей. Оба вида цестод являются для байкальских тюленей факультативными паразитами, а ввиду низких экстенсивности и интенсивности инвазии, очевидно, не наносят урона ни популяции байкальской нерпы в целом в целом, ни отдельным особям.

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРИЗНАКОВ ПРИЛОВА В ОРУДИЯ РЫБОЛОВСТВА ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ КИТООБРАЗНЫХ, ВЫБРОШЕННЫХ НА ПОБЕРЕЖЬЕ ЧЕРНОГО МОРЯ

Суворова И. В.^{1,2}, Коростелева А. В.¹, Постникова А. Н.¹

¹Автономная некоммерческая организация Центр изучения, спасения и реабилитации морских млекопитающих «Безмятежное Море», г. Москва, info@serenesea.org

²Центр океанографии и морской биологии «Москвариум», г. Москва, i.suvorova@moskvarium.ru

В Азово-Черноморском бассейне обитают три вида зубатых китов – черноморская афалина *Tursiops truncatus ponticus* Barabash, 1940, черноморский дельфин-белобочка *Delphinus delphis ponticus* Barabash, 1935 и черноморская морская свинья *Phocoena phocoena relicta* Abel, 1905, каждый из которых представлен эндемичным подвидом. В 2017 г. начата работа по круглогодичному мониторингу выбросов дельфинов и морских свиней на крымском побережье Черного и Азовского морей: в период с апреля 2017 г. по декабрь 2019 г. зарегистрированы 1188 выбросов, при этом было выявлено, что пики смертности коррелировали с сезонным повышением рыбопромысловой активности (Коростелева и др., 2023). Прилов в орудия лова рыбы признается основным фактором антропогенной смертности мелких китообразных в мире (Perrin et al., 1994; Forney et al., 1999; Hill and DeMaster, 1999; Read and Murray, 2000; Friedlaender et al., 2001). В Азово-Черноморском бассейне он так же представлял серьезную проблему для благополучия и сохранения морских млекопитающих на протяжении многих лет. Как правило, наиболее полные данные об уровнях прилова в рамках контролируемого рыболовства можно получить через бортовых наблюдателей, однако на сегодняшний день в исследуемом регионе такая возможность отсутствовала, что определяло обследование особей, выброшенных на берег, как единственную доступную опцию для фиксации свидетельств их гибели в орудиях лова.

Важнейшей составляющей этой работы является адекватное определение признаков прилова и их дифференциация от других причин. При обследовании следует учитывать следующие факторы: состояние трупа, стадия разложения, состояние кожного покрова, интенсивность, свежесть и локализация посмертных повреждений, время года, погодные условия, температура воды и воздуха, данные об активности промысла в районе обнаружения, типы задействованных судов и орудий лова. Наиболее четкие следы прилова выявляются при

осмотре свежих или умеренно разложившихся трупов с сохраненным или малоповрежденным кожным покровом.

Выявляемые телесные признаки разделены нами на прямые и косвенные. Для животных, приловленных в обьачеивающие сети, прямые признаки включают незажившие линейные углубления-порезы в области рострума, челюстей, вокруг головы и перед грудными плавниками, на основании и передней кромке спинного и грудных плавников, на передних кромках лопастей хвостового плавника и вокруг хвостового стебля. Тщательный осмотр следов обьачеивания в ряде случаев позволяет определить материал сетей благодаря толщине и форме отпечатков (монофиламентная, мультифиламентная нить). У некоторых китообразных, вероятно, предпринимавших энергичные попытки вырваться из сетей, отмечается также слушивание эпидермиса в данных участках тела с сопутствующими подкожными кровоизлияниями. Важно отметить, что выявление следов обьачеивания бывает затруднено ввиду повреждений и аутолитических процессов, которые могут приводить к появлению на наружном слое кожи линейных потертостей и углублений, визуально напоминающих следы от сетей, или же, напротив, скрывающих под собой истинные следы. Однако при длительном пребывании неповрежденного трупа приловленного китообразного в воде, обнаженная дерма в местах обьачеивания приобретает желтый цвет, что позволяет дифференцировать следы прилова от более свежих посмертных механических повреждений, наносимых птицами, падальщиками и при выбросе тела на берег. Косвенные же признаки для орудий данного типа включают ампутацию хвостового плавника либо одной или обеих хвостовых лопастей, что связано с облегчением процесса выпутывания животного из сетного полотна.

К прямым телесным признакам прилова в отцеживающие (траловые) сети отнесена совокупность повреждений кожи дельфинов, кровоизлияний и травматических продавленных углублений в области рострума и сопутствующих им потертостей на передней кромке спинного и грудных плавников. Среди косвенных признаков прилова в трал встречаются переломы челюстей и углубления от скрученного материала, охватывающие основание хвостового плавника, что может указывать на подъем тела при помощи веревки (вероятно, для его сброса за борт). При наличии подозрений на гибель китообразного в результате прилова в траловые сети всегда следует опираться на присутствие в районе обнаружения работающих траулера в течение нескольких суток до и в день выброса трупа на берег, при этом отслеживание возможно не только визуально, но и с помощью онлайн-сервисов, позволяющих в режиме реального времени узнавать о местоположении судов по данным автоматической системы идентификации AIS.

Существует также перечень признаков, которые, вероятно, могут встречаться у приловленных китообразных вне зависимости от типа орудия лова. К ним относятся: проникающие ранения в брюшную полость (наносимые с целью добиться утопления трупа); свидетельства недавнего кормления (цельные кормовые объекты или рвотные массы в ротовой полости и пищеводе, наличие полупереваренной рыбы в желудке); патологические изменения (покрасневшие глаза, легочный ателектаз и эмфизема, обильное пенистое содержимое в бронхах и трахее, газовая эмболия). Стоит упомянуть, что в одном случае при исследовании дельфина-белобочки, приловленного в трал в мае 2020 г. в районе Судака, нами обнаружено смещение гортанной трубки, приведшее к попаданию цельной и полупереваренной рыбы из желудка в трахею и глубоко в бронхи. Единственный массовый выброс погибших китообразных в хорошей степени упитанности, пребывающих на идентичной стадии разложения, находящихся на примерно равном расстоянии от воды и на небольшом расстоянии друг от друга, при наличии в выборке животных с очевидными признаками прилова также можно расценивать, как вероятный эпизод массовой смертности в орудии рыболовства, что наиболее часто относится к морской свинье.

Необходим дальнейший мониторинг и совершенствование оценки различных видов промысловых взаимодействий в конфликте “китообразные-рыболовство” для осуществления природоохранной политики и сохранения китообразных Азово-Черноморского бассейна.

ВЛИЯНИЕ АЛКИЛГЛИЦЕРИНОВЫХ ЭФИРОВ И ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И УРОВЕНЬ ПЛАЗМАЛОГЕНОВ ПЕЧЕНИ СТАРЫХ КРЫС

Султанов Р. М.¹, Ермоленко Е. В.¹, Полещук Т. С.², Денисенко Ю. К.³

*¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,*

г. Владивосток, sultanovruslan90@ya.ru

²Тихоокеанский государственный медицинский университет,

г. Владивосток

*³Владивостокский филиал Научно-исследовательского института
медицинской климатологии и восстановительного лечения,*

г. Владивосток

Старение характеризуется прогрессирующим снижением функций организма, как на уровне клеток, так и на уровне органов, что может приводить к возникновению многочисленных заболеваний. К возрастным изменениям физиологических показателей, в частности, относятся снижение активности иммунной системы и нарушения липидного обмена. Одним из способов уменьшения выраженности возрастных изменений может быть коррекция питания путем добавления биологически активных веществ.

Нами изучено влияние диеты, включающей алкил глицериновые эфиры (АГ) и концентрат омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), выделенные из гепатопанкреаса кальмара *Berrytheuthis magister*, на гематологические показатели и уровень плазмалогенов в печени старых крыс.

Получение препаратов. После выделения общих липидов из гепатопанкреаса кальмара их подвергали щелочному гидролизу. Из омыленных липидов АГ выделяли методом двойного осаждения из ацетона при разных температурах. Концентрат ПНЖК получали из свободных жирных кислот комбинированием методов кристаллизации с мочевиной в этаноле.

Состав АГ и концентрата ПНЖК определяли методами газовой хроматографии (ГХ) и ГХ-масс-спектрометрии (ГХ-МС). Основным компонентом АГ был хмилловый спирт – 94,5%, содержание батилового спирта составляло 3,9 %. Концентрат ПНЖК состоял в основном из эйкозапентаеновой кислоты – 31,1%, докозагексаеновой кислоты – 30,1% и стеариноновой кислоты – 12,7% (табл. 1). Полученный препарат АГ представлял собой белый рассыпчатый порошок без запаха.

Полученный концентрат ПНЖК представлял собой светло-желтую маслянистую жидкость без запаха.

Группы животных. В опытах использовали старых крыс массой 440 ± 35 г и зрелых животных массой 270 ± 25 г. Животных разделили на 5 групп по 7 особей:

группа 1 – контроль, старые крысы (24 мес), получали воду через катетер;

группа 2 – контроль, зрелые крысы (11 мес), получали воду через катетер;

группа 3 – старые крысы, получавшие АГ в дозе 70 мг на животное;

группа 4 – старые крысы, получавшие АГ и концентрат ПНЖК в дозе 70 мг и 100 мкл на животное соответственно;

группа 5 – старые крысы, получавшие концентрат ПНЖК в дозе 100 мкл на животное.

Результаты. Выявлены значительные различия в гематологических параметрах интактных животных старческого возраста (24 мес) по сравнению с интактными животными зрелого репродуктивного возраста (11 мес). Возрастными нарушениями крыс являлись развитие анемии, гиперкоагуляция и снижение количества лейкоцитов.

Анализы гематологических параметров показали увеличение количества эритроцитов при значительном снижении уровня гемоглобина у старых крыс по сравнению с животными зрелого возраста.

Применение АГ вызывало увеличение количества эритроцитов; применение АГ, а также АГ и омега-3 ПНЖК приводило к увеличению уровня гемоглобина. При этом только сочетанное введение омега-3 ПНЖК и АГ способствовало тенденции к увеличению среднего содержания гемоглобина в одном эритроците.

В группе старых крыс также отмечалось трехкратное снижение числа лейкоцитов. При применении АГ и АГ в сочетании с омега-3 ПНЖК число лейкоцитов увеличивалось более чем в два раза (табл. 2). У животных, получавших данные препараты, обнаружено увеличение содержания плазмалогенов и докозагексаеновой кислоты (ДГК) в липидах печени (рис. 2). Это доказывает включение АГ в биосинтез плазмалогенов. Что соотносится с данными, полученными ранее другими исследователями.

TABLE 2 Comparative characteristics of the effect of n-3 PUFAs and AGs on the hematological parameters of senile rats ($M \pm m$)

| Parameter | Intact mature rats | Intact senile rats | n-3 PUFAs | AGs | n-3 PUFAs + AGs |
|---|--------------------|--------------------|-------------------------|---------------------------|--|
| Red blood cells ($10^{12}/l$) | 2.29 ± 0.9 | **2.82 ± 0.11 | 2.85 ± 0.17 | 3.18 ± 0.06 ⁺⁺ | 2.71 ± 0.11 |
| Hemoglobin (g/l) | 110 ± 2 | *100 ± 3 | 106 ± 5 | 121 ± 3 ⁺⁺ | 111 ¹ 110–123 ⁺ |
| The average hemoglobin content in the red blood cell (pg) | 48.9 ± 0.28 | ***36.35 ± 0.95 | 38.51 ± 3.39 | 35.51 ± 3.17 | 43.20 ± 3.64 ⁺ |
| Platelets ($10^9/l$) | 315 ± 9 | **1165 ± 40 | 751 ± 60 ⁺⁺ | 560 ± 40 ⁺⁺ | 375 312–420 ⁺⁺ |
| Protrombin time (s) | 22.8 ± 0.7 | **12.3 ± 1.2 | 14.1 ± 0.6 | 15.0 15.0–16.0 | 14.6 ± 0.4 |
| White blood cells (g/l) | 7.1 ± 0.1 | **2.4 ± 0.2 | 4.9 ± 0.4 ⁺⁺ | 5.8 ± 0.2 ⁺⁺ | 5.8 ± 0.3 ⁺⁺ |
| Lymphocytes (%) | 22.2 ± 0.9 | 18.1 ± 2.1 | 19.0 ± 1.0 | 35.4 ± 1.3 ⁺⁺ | 30.0 ± 2.0 ⁺⁺ |

Note: (*) indicates the statistical significance of differences relative to the group of intact rats of mature and senile age: * - $p < 0.01$; ** - $p < 0.001$. (+) - statistical significance of differences relative to the group of intact old-age rats and groups of animals treated with biologically active substances: + - $p < 0.01$; ++ - $p < 0.001$.

Groups for single-time measurements were assessed by the two-sided unpaired Student *t*-test or the Mann-Whitney non-parametric test. At normal distribution, results was shown as average ± standard deviation. Each group has seven animals.

¹ - If the distribution was different from normal, the data are presented as the median lower (25%) and upper (75%) quartiles.

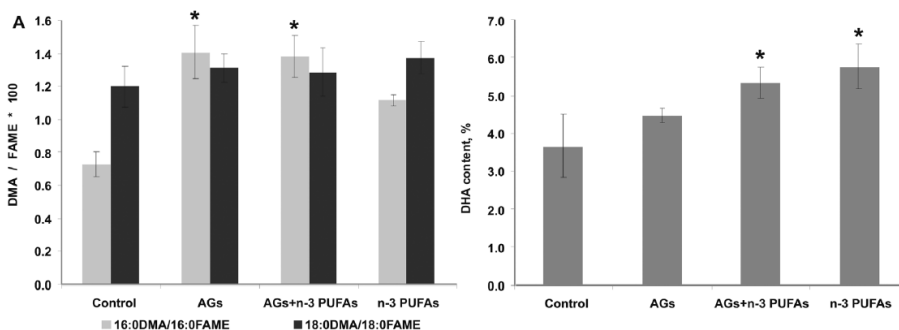


FIGURE 2 The effect of n-3 polyunsaturated fatty acids and alkyl glycerol ethers on liver lipids of intact senile rats and experiment groups. The relative amount of plasmalogen (a) was reflected in the ratio between 18:0 dimethyl acetal (DMA) and stearic acid as well as by the ratio between 16:0 DMA and palmitic acid. Docosahexaenoic acid content (b) in total liver lipids.

* statistically significant differences between the group of intact rats of senile age and the groups of rats treated with biologically active substances: * - $p < 0.01$. At normal distribution, results were shown as average ± standard deviation. Each group had seven animals.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ КОПЕПОДЫ *EURYTEMORA* (ГРУППА *AFFINIS*) ИЗ ВОДОЕМОВ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ И ЯПОНИИ

Сухих Н. М.^{1,2}, Алексеев В. Р.²

¹Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург, alekseev@zin.ru

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва, Natalia.Sukhikh@zin.ru

Группа видов *Eurytemora affinis* обитает в северном полушарии и имеет голарктическое распространение. Азиатская *Eurytemora* ранее была идентифицирована как *Eurytemora affinis*. Наши исследования показали, что этот вид морфологически довольно далек от европейской *Eurytemora affinis* и занимает промежуточное положение между *Eurytemora caspica*, описанной из Каспийского моря, и *Eurytemora carolleae*, описанной с атлантического побережья США. Филогенетические исследования с использованием генов CO1 и nITS, 18SrRNA подтвердили этот факт и выявили общее происхождение *Eurytemora* из Каспийского моря, Дальнего Востока России и Японии. Обсуждается участие эволюции моря Тетис в формировании современной фауны *Eurytemora* и других групп организмов.

Работа выполнена в ЦКП «Таксон» ЗИН РАН с использованием фондов ЗИН РАН при поддержке Гранта РФФ 22-14-00258.

ОСОБЕННОСТИ ПИТАНИЯ ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ ТЁМНОГО ГОРБЫЛЯ *SCIAENA UMBRA* LINNAEUS, 1758 (SCIAENIDAE) У БЕРЕГОВ КРЫМА (ЧЁРНОЕ МОРЕ)

Тамойкин И. Ю., Вдодович И. В., Статкевич С. В.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, igortamoikin@mail.ru

Темный горбыль *Sciaena umbra* Linnaeus, 1758 (сем. Sciaenidae) – демерсальный вид Восточной Атлантики (включая Средиземноморский бассейн), образующий группы до нескольких сотен особей, предпочитающий естественные и искусственные ландшафты с твердыми и смешанными грунтами при обязательном наличии укрытий (Световидов, 1964; Vodur et al., 2023). Один из основных хищников высшего уровня в прибрежных экосистемах (Rojo et al., 2022). Присутствие *S. umbra* в прибрежных зонах считается показателем высокого качества окружающей среды и богатства рыбного сообщества (Harmelin-Vivien et al., 2015; Aydin, Bengil, 2020). В северо-восточной части Черного моря его видовая встречаемость в сетных уловах достигает 75% (Куманцов и др., 2013). У берегов Крыма темный горбыль является обычным видом скально-каменистых и смешанных ландшафтов (Тамойкин и др., 2021). Однако, несмотря на высокое экономическое значение вида, экология и биология *S. umbra* в Черном море, включая питание, остаются слабо изученными (Vodur et al., 2023).

В южной части Черного моря в теплое время года у взрослых темных горбылей рацион питания состоит преимущественно из ракообразных (~ 95%) и рыб (~ 4%), причем потребление последних увеличивается с возрастом (Engin 2009; Aydin, Bengil, 2020).

В северной части моря исследования питания темного горбыля не проводились 40 лет (Фауна..., 1982). Последняя работа с кратким анализом питания и особенностей пищевой стратегии вида опубликована в 1983 г. (Салехова и др., 1983). Было показано, что молодь темного горбыля держится в зарослях на мелководье, взрослые рыбы – в открытых скалистых участках моря, питаются преимущественно со дна, о чем свидетельствует форма тела этих рыб. Анализ пищевого спектра показал, что взрослые особи питаются главным образом мелкими крабами родов *Pilumnus* и *Portunus*, реже креветками и амфиподами, а также молодь морского дракона, пескоройки, атерин, бычков и др.

За прошедшие 40 лет под воздействием различных абиотических и биотических факторов прибрежная экосистема в Черном море претерпела серьезную перестройку (Современное состояние..., 2015;

Белокопытов и др., 2017), ведущую к трансформациям ранее существовавших трофических цепочек прибрежных экосистем. в связи с чем возникла необходимость провести ревизию рациона питания и дать характеристику пищевых спектров темного горбыля *Sciaena umbra* у берегов Крыма.

Материал собран в разные сезоны 2022-2023 гг. у берегов Крыма от поселка Кача на западе до поселка Малореченское на востоке. Изучение питания проводили в лабораторных условиях по известной методике (Методическое пособие..., 1974). Стадии переваренности пищи определяли согласно опубликованным данным (Чучукало, Напазаков, 1999). Всего проанализировано питание 19 экз. взрослых особей темного горбыля с длиной тела (TL) от 22,3 до 48,5 см (среднее – 35,05 см) и массой от 142 до 1500 г (среднее – 593 г).

Анализ пищевого комка рыб показал, что излюбленным пищевым объектом темного горбыля являются крабы: *Xantho poressa* (Olivi, 1792) и *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius, 1787). Их доля в рационе составила 51% от общего количества потребленных объектов. Вторым по избирательности были креветки, представленные тремя видами: *Palaemon elegans* Rathke, 1837, *Lysmata seticaudata* (Risso, 1816) и креветка рода *Hippolyte* предположительно *Hippolyte sapphica* d'Udekemd'Аcoz, 1993. Их доля достигала 22%. Среди декапод по частоте встречаемости доминировали *X. poressa* и *P. elegans*, составив 100%. Значительным (15%) был вклад двустворчатых моллюсков *Abra segmentum* (Récluz, 1843) и *Mytilaster lineatus* (Gmelin, 1791), а также гастропод *Bittium reticulatum* (da Costa, 1778) и *Tricolia pullus* (Linnaeus, 1758). Доля рыб составила 4% и полихет — 2%. Единично отмечены декаподы *Upogebia pusilla* (Petagna, 1792) и *Alpheus dentipes* Guérin, 1832, а также хитон *Acanthochitona fascicularis* (Linnaeus, 1767), их вклад в пищевой спектр горбыля составил по 1% от общего количества потребленных организмов. Следует отметить, что в летний и осенний сезон в рационе горбыля отмечены водоросли (филлофора и цистозира), а также чешуя рыб, но данные объекты не учитывались при расчете количественного вклада в рацион горбыля.

Стадии переваренности пищи варьировали от 0% (свежезаглоченная пища) до 76–95% (остатки ракообразных, полихеты, представленные фрагментами щетинок). Наиболее высокая доля крабов в пищевом спектре горбыля отмечена в июне — 70% от общего количества потребленных организмов. В целом рацион горбылей в летне-осенний период был однотипным. У горбыля, выловленного в мае, рацион отличался от особей, пойманных в летне-осенний период. Только в это время в пищевом комке обнаружены *A. fascicularis* и *A. dentipes*.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о доминировании ракообразных в питании темного горбыля у берегов

Крыма (преобладали береговой и мраморный крабы, каменная креветка; единично отмечены раки-щелкуны и рак-крот). Второй группой по избирательности были моллюски, третьей – рыбы. Вклад многощетинковых червей и водорослей был незначительным.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ФИЦ ИнБЮМ отдела экологии бентоса к.б.н. Макарову М. В. и к.б.н. Ревкову Н. К., а также сотруднику лаборатории фиторесурсов Александрову В. В. за помощь в определении пищевых объектов.

Работа выполнена в рамках госзадания № 121030100028-0 “Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана”

**РАЗВИТИЕ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У
ЛИЧИНОК МОРСКИХ ЕЖЕЙ *STRONGYLOCENTROTUS*
INTERMEDIUS (ECHINOIDEA, ODONTOPHORA) И
SCAPHECHINUS MIRABILIS (ECHINOIDEA, IRREGULARIA)**

Танкович А. Е.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, alytankovich@gmail.com*

Современные знания о формировании нервной системы морских ежей ограничены, главным образом, личиночными стадиями. Описано развитие дофаминергической, серотонинергической и ГАМКергической систем у личинок морских ежей из разных отрядов. Все эти системы развиваются из небольшого количества нервных клеток до крупных ганглиев. Первые дофаминергические нейроны появляются через 48 ч после оплодотворения, на стадии четырехрукого плутеуса, с образованием парных оральных ганглиев и пары ганглиев в основании посторальных рук. Через 74 ч после оплодотворения формируются 8–10 серотонинергических клеток в апикальной пластинке, которые имеют неправильные очертания и образуют апикальный ганглий. ГАМКергические клетки впервые отмечаются у 92-часовых плутеусов на дорзальной стороне пищевода. Показано, что нервные системы личинки и взрослого морского ежа развиваются независимо друг от друга. Несмотря на то, что информации о развитии личиночной нервной системы морских ежей достаточно много, гораздо меньше известно о формировании дефинитивной нервной системы на поздних стадиях личиночного развития. Так, недавние исследования, проведенные на личинках морских ежей *Holopneustes purpurascens* (лецитотрофные личинки) и *Hemicentrotus pulcherrimus* (планктотрофные личинки), показали наличие отростков серотонинергических нейронов, простирающихся от личиночных ганглиев к первичным ножкам в зачатке ежа. Так же было показано, что у *H. purpurascens* аксональные тракты от этих нейронов иннервируют первичные ножки, в то время как у *H. pulcherrimus* аксоны доходят до первичных ножек, но не иннервируют их. При этом дальнейшее исследование зачатка ежа у компетентных личинок, а также осевших молодых морских ежей показало полное отсутствие серотонинергической нервной системы как таковой.

Цель данной работы – уточнить, присутствуют ли серотонинергические нейроны в развивающемся зачатке ежа у личинок

морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* (Echinoidea, Odontophora) и *Scaphechinus mirabilis* (Echinoidea, Irregularia).

Наше исследование компетентных личинок морских ежей *S. intermedius* и *S. mirabilis* показало присутствие хорошо развитой личиночной серотонинергической нервной системы. У личинок обнаружены скопления серотонинергических нейронов в апикальном и оральном ганглиях, а также нервные тракты, проходящие вдоль ресничных шнуров. Вместе с этим, не отмечено присутствия серотонинергических нейронов ни в зачатке ежа у компетентных личинок, ни у осевших молодых морских ежей. Были отмечены отростки нейронов из апикального ганглия, проходящие вблизи зачатка ежа, но не заходящие в него. Наши результаты свидетельствуют об отсутствии связи между личиночной серотонинергической нервной системой и нервной системой в развивающемся зачатке ежа. Кроме того, эти данные подтверждают предположение, что у взрослых морских ежей серотонинергическая нервная система либо отсутствует полностью, либо редуцирована до нескольких нейрональных популяций.

МОРФОЛОГИЯ РАКОВИН ШЕСТИ ВИДОВ СЕКРЕЦИОННЫХ ФОРАМИНИФЕР ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ЯПОНСКОГО МОРЯ

Дроздов А. Л.¹, Катасонова М. С.², Тарасова Т. С.¹

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток, anatoliyld@mail.ru

²Дальневосточный федеральный университет, Институт Мирового
Океана, Владивосток

Фораминиферы (тип Foraminifera) преимущественно морские одноклеточные животные с однокамерной или многокамерной раковиной, различного состава и строения (Кусакин, Дроздов, 1994; Дроздов, 2005). Саркодовые с тонкими разветвленными анастомозирующими ложноножками, или гранулоретикулоподиями, содержащими многочисленные гранулы. Среди простейших организмов фораминиферы являются одной из наиболее высокоорганизованных групп, которые отличаются большой сложностью и специализацией скелетных образований. Раковины могут быть образованы либо секретом цитоплазмы, состоять из минеральных солей или же из посторонних материалов, в таком случае цитоплазматические вещества будут служить цементом для скрепления. Раковины фораминифер с секреторной стенкой имеют псевдохитиновую основу, пропитанную углекислым кальцием со значительной примесью углекислого магния или фосфата кальция, либо кремнезема. (Преображенская, Тарасова, 1998). У подавляющего большинства фораминифер скелет известковый, часто кальцитовый.

Мы исследовали морфологию раковин шести видов фораминифер из залива Петра Великого Японского моря. Всего изучено 7 экземпляров: 2 экземпляра *Quinqueloculina vulgaris* (d'Orbigny, 1826) и *Spiroloculina corrugata* (Cushman & Todd, 1944). А так же по одному экземпляру следующих видов: *Rosalina bradyi* (Cushman, 1915), *Elphidium frigidum* (Cushman, 1933), *Protelphidium tuberculatum* (d'Orbigny, 1846), *Elphidium crispum* (Linnaeus, 1758). Все экземпляры фораминифер сфотографированы на стереомикроскопе ZEISS SteREO Discovery V12, на прямом микроскопе ZEISS Axio Imager 2 и на сканирующем микроскопе LEO 430. Напыление проводили углеродом при помощи вакуумного поста AUTO 306.

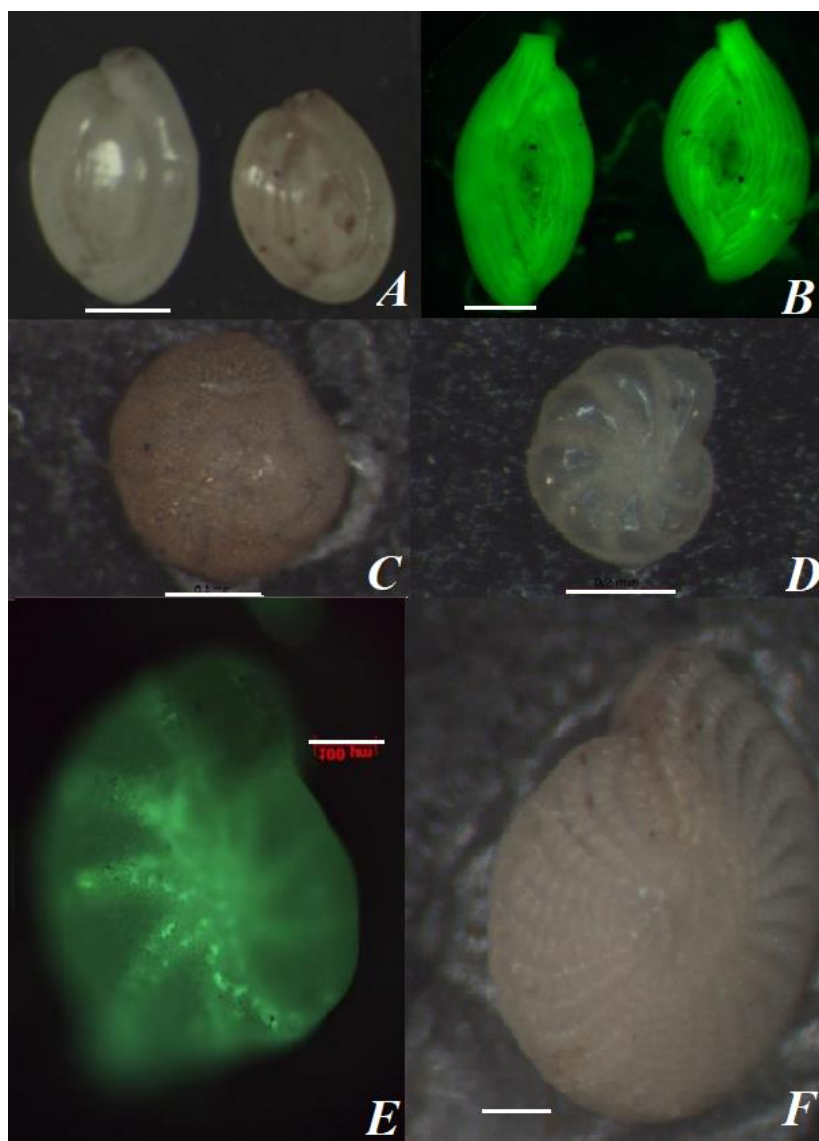


Рис. 1. Световая микроскопия раковин фораминифер. А – *Quinqueloculina vulgaris*, В – *Spiroloculina corrugata*, С – *Rosalina bradyi*, D – *Elphidium frigidum*, E – *Protelphidium tuberculatum*, F – *Elphidium crispum*. Масштаб: А, В – 500 мкм, С, D, E, F – 200 мкм.

Раковины исследованных фораминифер представлены сплошным композитным кальций-органическим скелетом с отверстиями, через которые цитоплазма сообщается с внешней средой. Форма раковин, число и размер поровых отверстий варьируется в зависимости от расположения минеральных кристаллов, от условий обитания и таксономического положения объектов.

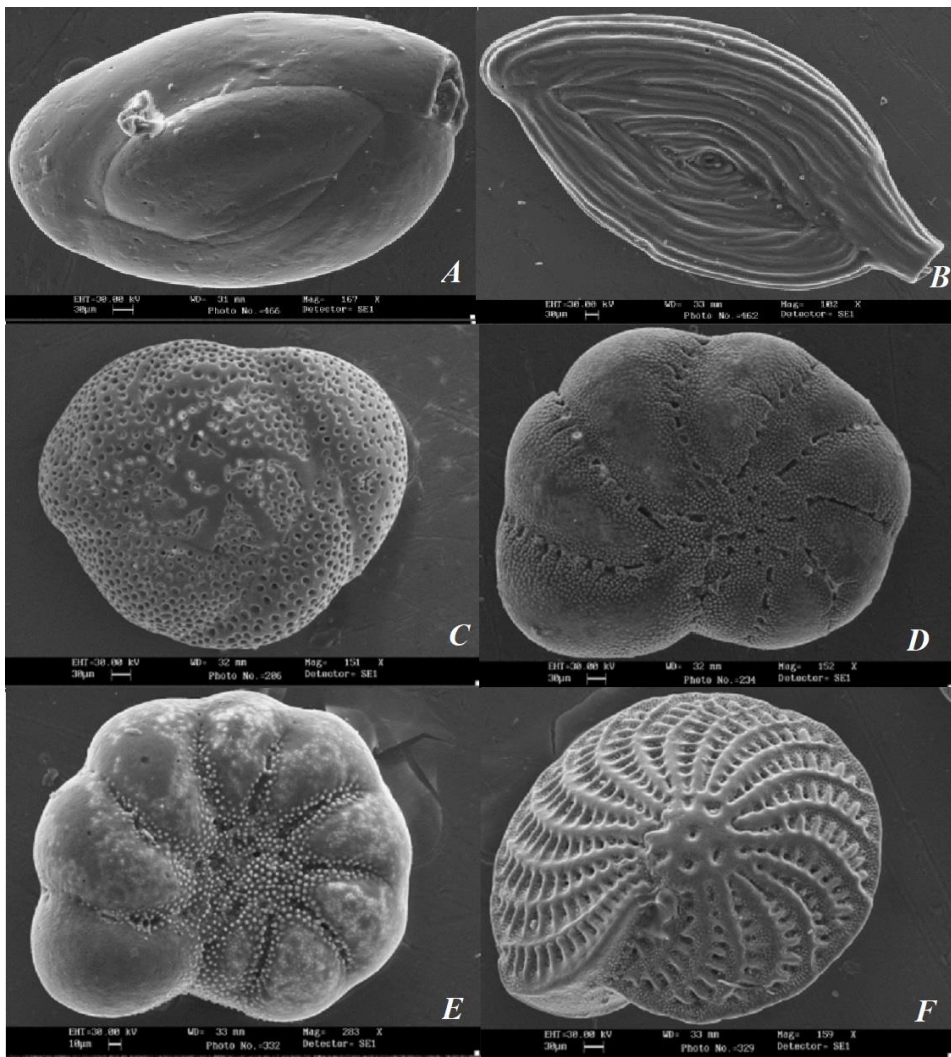


Рис. 2. Сканирующая микроскопия раковин фораминифер. A – *Quinqueloculina vulgaris*, B – *Spiroloculina corrugata*, C – *Rosalina bradyi*, D – *Elphidium frigidum*, E – *Protelphidium tuberculatum*, F – *Elphidium crispum*.

СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФЛОРОТАННИНОВ АРКТИЧЕСКИХ БУРЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Исламова Р. Т.¹, Замяткина Е. Б.¹, Биркемайер К.², Степченкова Е. И.^{1,3}, Тараховская Е. Р.^{1,3}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, *elena.tarakhovskaya@gmail.com*

²Университет Лейпцига, г. Лейпциг, Германия

³Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН,
г. Санкт-Петербург, *stepchenkova@gmail.com*

Флоротаннины, специфические вторичные метаболиты бурых водорослей – это водорастворимые олигомерные и полимерные соединения фенольной природы, базовой структурной единицей которых является флороглюцин (1,3,5 - триоксибензол). Флоротаннины накапливаются в талломах бурых водорослей в значительных количествах (до 30% сухой массы). Несмотря на то, что флоротаннины играют важную роль во многих аспектах жизнедеятельности морских макрофитов и представляют собой потенциальный источник биологически активных соединений (антиоксидантов, антибиотиков, фунгицидов и т. д.), эти вещества остаются пока одной из наименее изученных групп метаболитов водорослей (Shrestha et al., 2021). Структурный анализ флоротаннинов из природных источников представляет значительную сложность, поскольку эти вещества формируют сложную смесь близких по химической структуре молекул с многочисленными изомерами.

Цель данной работы состояла в исследовании общего содержания флоротаннинов в талломах ряда бурых водорослей, особенностей их молекулярной структуры, а также их антибиотических эффектов и генотоксичности.

Флоротаннины выделены из талломов 10 видов бурых водорослей, представляющих типичную альгофлору Белого и Баренцева морей: *Desmarestia aculeata* (Desmarestiales), *Pylaiella littoralis*, *Dictyosiphon foeniculaceus*, *Ectocarpus siliculosus*, *Chordaria flagelliformis* (Ectocarpales), *Chorda filum* (Chordales), *Fucus vesiculosus*, *F. serratus*, *Pelvetia canaliculata*, (Fucales) и *Chaetopteris plumosa* (Sphacelariales). Общее содержание полифенолов определяли по взаимодействию с реактивом Фолина-Чокальтеу (Cicco et al., 2009). Молекулярный состав флоротаннинов исследовали с использованием жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии. Тестирование антибиотической активности флоротаннинов проводили на *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Chlamydomonas reinhardtii* (Andrews, 2001). Генотоксичность

исследовали в тесте Эймса с использованием тестерных штаммов *Salmonella typhimurium* TA97, TA98 и TA100 (Maron, Ames, 1983).

Содержание флоротаннинов в талломах изученных водорослей составило от 3 (*Ch. filum*) до 17 (*F. vesiculosus*) % сух. массы. Больше всего полифенолов содержали представители порядков Fucales и Ectocarpales. Для всех исследованных фукусовых водорослей показаны специфические профили распределения флоротаннинов вдоль таллома с максимальным содержанием в центральной зоне и/или вегетативных апексах и минимальным – в зрелых рецептакулах. Масс-спектрометрический анализ полученных экстрактов позволил выявить и охарактеризовать более 30 структурных классов молекул флоротаннинов. Показано, что фенольные соединения исследованных водорослей представлены многокомпонентной смесью молекул разных классов, среди которых 1–2 класса являются доминирующими (например, фуколы/фукофлоретолы для фукоидов, фугалола – для *Ch. filum*). Все исследованные экстракты содержали несколько разновидностей флоротаннинов дибензо-1,4-диоксинового ряда (эколы и кармалола разной степени гидроксирования). В качестве минорных фракций выявлены несколько типов модифицированных флоротаннинов, наиболее частыми модификациями, по-видимому, являются окисление, ацетилирование, гидроксирование и гликозилирование. Молекулярный состав флоротаннинов видоспецифичен, более того – полифенолы разных структурных классов и степени полимеризации дифференциально накапливаются в разных зонах таллома водорослей.

Флоротаннины *D. aculeata*, *E. siliculosus* и представителей порядка Fucales проявили значительную антибиотическую активность в отношении всех исследованных тест-объектов: минимальные ингибирующие концентрации составили от 4–5 мкг/мл для бактерий и дрожжей и до 30–40 мкг/мл для хламидомонады. По-видимому, степень токсичности флоротаннинов бурых водорослей определяется особенностями их молекулярного состава. Препараты флоротаннинов *D. aculeata* не показали мутагенного эффекта в тесте Эймса, однако препараты *E. siliculosus* и *F. serratus* показали слабую мутагенную активность в отношении штамма TA100 после метаболической активации, а экстракт *F. serratus* продемонстрировал также значительную мутагенную активность в отношении штамма TA97 без метаболической активации. Таким образом, для дальнейших исследований флоротаннинов с точки зрения возможного прикладного использования наибольший интерес представляют препараты *D. aculeata*, характеризующиеся максимальной антибиотической активностью и при этом не проявляющие генотоксичности.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант № 22-24-20039) и СПбНФ (Соглашение № 35/2022).

УНИКАЛЬНАЯ РЕПРОДУКТИВНАЯ СТРАТЕГИЯ ФОРОНИДЫ *PHORONIS EMBRYOLABI*

Темерева Е. Н.¹, Островский А. Н.²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.
Москва, *temereva@mail.ru*

²Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-
Петербург, *oan_univer@yahoo.com*

Форониды (*Phoronida*) – отдельный тип морских червеобразных беспозвоночных, большинство представителей которого имеют бифазный жизненный цикл. Взрослые форониды – это обитатели морского дна, тогда как их личинки живут и питаются в планктоне. В составе типа *Phoronida* насчитывается всего 15 видов, однако у форонид можно выделить три репродуктивные стратегии и пять различных репродуктивных паттернов, среди которых развитие в толще воды, развитие с вынашиванием, лецитотрофное развитие, а так же некоторые другие. Основные репродуктивные стратегии у беспозвоночных животных – это (1) продукция большого числа яиц без заботы о потомстве и (2) продукция небольшого числа яиц с заботой о потомстве, в том числе с матротрофией. Первая стратегия ведет к формированию планктотрофной личинки, тогда как особи со второй стратегией обычно имеют лецитотрофную личинку либо прямое развитие. Как правило, репродуктивная стратегия связана с размерами тела животного: для крупных животных характерна первая, а для мелких – вторая.

Уникальную репродуктивную стратегию демонстрирует вид *Phoronis embryolabi*, обитающий в норах роющих креветок рода *Nihonotrypaea* в зал. Восток Японского моря. Представители этого вида – одни из самых крошечных форонид, длина их тела редко превышает 1 см, тогда как для большинства других форонид характерны более крупные размеры: 5–12 и даже 45 см. При этом одна особь *Phoronis embryolabi* способна продуцировать многие сотни яиц, что довольно необычно для животных с такими небольшими размерами тела. Оогенез у *Phoronis embryolabi* по-своему уникален – это фолликулярный нутриментарный оогенез, при котором клетками-кормилками являются соматические клетки вазоперитонеальной ткани. Они формируют цитоплазматические мостики с развивающимся ооцитом и снабжают его питательными веществами. Для *Phoronis embryolabi* характерна забота о потомстве: эмбрионы вынашиваются в полости тела материнского организма, а нерест происходит полностью сформированными личинками. Интересно, что в процессе развития в материнском организме эмбрионы и личинки активно питаются путем

абсорботрофии, пиноцитоза, гистофагии и, вероятно, фагоцитоза. Таким образом, среди форонид мы видим пример матротрофии. Развивающиеся эмбрионы и личинки *Phoronis embryolabi* не отличаются от таковых у других форонид, развитие которых происходит в толще воды или в эмбриональных скоплениях в кроне щупалец. На стадии ранней гастрюлы начинается нейрогенез и миогенез, формируются сквозной кишечник, дифференцированный на отделы, целомические компартменты и пара протонефридиев. Личинка покидает материнский организм через метанефридии, которые имеют необычное строение, и затем еще три недели живет и питается в планктоне. Размеры компетентной личинки *Phoronis embryolabi* самые мелкие среди актинотрох, длина их тела не превышает 400 мкм, тогда как личинки других видов достигают длины 800 мкм, 1500 мкм и даже 4000 мкм. Уже на ранних этапах личиночного развития формируется метасомальный карман – это тело будущего взрослого животного. Метасомальный карман ввернут внутрь тела личинки и со стороны полости тела окружен эпителиально-мышечными клетками, которые формируют его мускулатуру. Примечательно, что на личиночных стадиях развития метасомальный карман имеет такую же регионализацию мускулатуры, которую демонстрирует тело взрослого животного. Это яркий пример эмбрионизации развития. В целом биология развития *Phoronis embryolabi* демонстрирует набор необычных черт и сочетает особенности как планктотрофной, так и эндотрофной репродуктивных стратегий, представляя собой уникальную репродуктивную стратегию, ранее не описанную для живых существ. Работа выполнена при поддержке РФФ (№ 23-14-00020).

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА НА МАРКЕРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Ткачук А. А.¹, Андреева А. Ю.¹, Кладченко Е. С.¹

¹*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН,
г. Севастополь, aatkachuk86@gmail.com*

Двустворчатые моллюски, как обитатели шельфовых зон, часто сталкиваются с колебаниями условий окружающей среды, такими как температура, соленость, содержание растворенного кислорода и др. (Lange et al., 2020). Резкие изменения вышеуказанных параметров приводят к развитию физиологической стресс-реакции организма и выбросу в циркуляторное русло гемолимфы нейромедиаторов, среди которых основными являются катехоламины (Wei et al., 2022). Показано, что нейроэндокринная система играет важную роль в регуляции функциональных процессов организма двустворчатых моллюсков при адаптации к изменениям условий среды (Lacoste et al. 2001). Свободно циркулирующие клетки гемолимфы (гемоциты) – центральное звено клеточного иммунитета двустворок, на поверхности их клеточной мембраны находятся β -адренорецепторы, что предполагает наличие функциональной взаимосвязи между стрессом и клеточным иммунным ответом (Nuria et al. 2022; Lacoste et al. 2001). Установлено, что в условиях резких колебаний солености, температуры, содержания растворенного кислорода и пр. могут наблюдаться изменения клеточного иммунного статуса разных видов двустворчатых моллюсков (Pourmozaffar et al. 2020). Вместе с тем механизмы воздействия катехоламинов на маркерные показатели иммунитета двустворчатых моллюсков практически не изучены. Цель настоящей работы заключается в исследовании влияния адреналина на адгезию и фагоцитарную активность клеток гемолимфы двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819).

Средиземноморские мидии *M. galloprovincialis* (размер: $84,7 \pm 1,5$ мм, вес: $31,2 \pm 2,8$ г, $n = 10$) получены на марикультурной ферме в районе г. Севастополя (ООО «Марикультура»). Для адаптации моллюсков к лабораторным условиям (концентрация кислорода 7–8 мг/л, рН = 8,2, температура 18–20°C) их содержали в течение трех дней в пластиковых аквариумах, оборудованных системой аэрации. Затем из мускула-замыкателя моллюсков отбирали пробу гемолимфы (0,5–1,5 мл). Клетки гемолимфы трижды отмывали в стерильной морской воде на рефрижераторной центрифуге Eppendorf 5430R (500 g, 5 мин). По

окончании отмывки гемоциты ресуспендировали в стерильной морской воде (концентрация клеток $2-4 \cdot 10^6$ кл/мл), делили пробу на 2 части, одну из которых инкубировали с 1мкМ адреналина в течение 30 мин при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. Для анализа процесса адгезии гемоцитов на предметные стекла наносили по 30 мкл суспензии гемоцитов и инкубировали в течение 10 мин. Пробы окрашивали эозином в течение 2-х мин и анализировали на флуоресцентном микроскопе Olympus CX43 в световом режиме. Для определения фагоцитарной активности гемоцитов мидий в суспензию гемолимфы (300 мкл) добавляли 60 мкл зимозана А, предварительно окрашенного нильским красным (Nile Red) и инкубировали в течение 30 мин. Анализ фагоцитарной активности (количество фагоцитов, участвующих в фагоцитозе) и фагоцитарного индекса (среднее количество частиц в одном фагоците) проводили по микрофотографиям клеток. Для определения статистически значимых результатов использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Стимуляция клеток гемолимфы адреналином (конечная концентрация в суспензии 1 мкМ) достоверно увеличивала их адгезионные свойства: число адгезированных гемоцитов в полях обзора увеличилось на 79% по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$, $n = 10$). При этом адреналин не влиял на способность гемоцитов к агрегации, хотя отмечалась тенденция к снижению числа агрегатов в стимулированных пробах (различия не достоверны). Кроме того, площадь агрегатов гемоцитов на стеклах не менялась в результате инкубации с адреналином.

Установлено, что стимуляция гемоцитов мидий адреналином (1 мкМ) не влияла на процесс фагоцитоза, достоверные изменения в фагоцитарной активности и фагоцитарном индексе не выявлены. Однако в стимулированных пробах наблюдалась тенденция к уменьшению поглощенных гемоцитами частиц и снижалось число клеток, способных к фагоцитозу. Поскольку способность гемоцитов мидий к фагоцитозу не менялась в условиях стимуляции адреналином, а адгезия к поверхности достоверно возрастала, выявленный механизм регуляции иммунных функций гемоцитов мидий, вероятно, связан с перестройками их цитоскелета. Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют о наличии прямого внутриклеточного сигнального пути, опосредующего изменение иммунного статуса двустворчатых моллюсков в условиях физиологического стресса.

ИЗМЕНЕНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ПРИ ИНВАЗИИ МИКРОВОДОРОСЛИ *COCCOMYXA PARASITICA*

Сокольникова Ю. Н.¹, Тумас А. В.¹

*¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток, ana.tumas@mail.ru*

Среди патогенов двустворчатых моллюсков в настоящее время особую тревогу вызывают недавно обнаруженные и малоизученные паразитические зеленые микроводоросли рода *Coccomyxa* (Sokolnikova, 2022). Заражение микроводорослями в природных условиях для каждого из видов моллюсков носит массовый характер, в результате которого у гидробионтов возникают гистопатологии, приводящие не только к деструктивным изменениям наиболее ценной для аквакультуры продукции – мантии и мускула-замыкателя, но и нарушению физиологических процессов, приводящих к отставанию в росте, развитию и гибели зараженных особей (Sokolnikova et al., 2022). Для выяснения причин восприимчивости моллюсков к *Coccomyxa* необходимо понимание механизмов и факторов, играющих ключевую роль в инициации и развитии инвазии. Поскольку у морских гидробионтов основной системой, отвечающей за защитные и адаптационные механизмы, является гемолимфа, то в данной работе предпринята попытка оценки физиологического и иммунного статуса моллюсков при разной степени заражения.

Для этого у здоровых и зараженных особей *Modiolus kurilensis*, выловленных на глубине до 5 м из бухточки Подсобной залива Восток Японского моря, брали гемолимфу и проводили оценку активности клеточных и гуморальных факторов гемолимфы. У моллюсков измеряли длину, ширину и высоту раковины; для дальнейшей работы из 65 выловленных моллюсков использовали 48 особей в возрасте 4–5 лет. После вскрытия моллюсков и тщательного макроскопического осмотра их тела с предварительным определением степени зараженности моллюсков по внешним признакам (деформации, эрозии, просветы и наличие жемчужин раковины; число и интенсивность инфильтрации зараженных микроводорослью органов, их внешний вид – ослизненность, рыхлость, цвет и прочее), производили взвешивание тела (без раковины) каждой особи и отдельно их гомогенизировали. Затем, используя счетную камеру Горяева, в полученных суспензиях гомогенатов и образцах гемолимфы с помощью флуоресцентного

микроскопа подсчитывали число клеток микроводорослей у каждого из исследованных моллюсков для определения степени их зараженности. Полученные данные соотносили с макроскопическими наблюдениями.

Установлено, что среди 48 *M. kurilensis* 12 особей (25,0%) не заражены микроводорослями (несмотря на то, что взяты из той же друзы, что и остальные 36 зараженных). Моллюски, в тканях которых обнаружены паразитические микроводоросли, имели разную степень развития инвазии. Первая степень инвазии обнаружена у 8 особей (16,7%), в гемолимфе которых было от 0,19 до $4,75 \times 10^6$ клеток микроводорослей/мл, при этом тело моллюсков не имело явных признаков присутствия паразита. Для такого же количества животных определена вторая степень инвазии, в их гемолимфе присутствовало от 0,8 до $4,25 \times 10^6$ клеток водорослей, а в теле – от 0,58 до $8,37 \times 10^{12}$ клеток на особь, при этом проксимальный конец края мантии и кишки, как и гемолимфа, окрашивались в зеленый цвет. При третьей степени (20,8% особей) число водорослей в гемолимфе варьировало от 1,25 до $8,33 \times 10^6$ кл/мл, а в теле – от 0,25 до $3,38 \times 10^{13}$ клеток на особь, в интенсивный зеленый цвет окрашивались гемолимфа, кишка, гонада и край мантии. При четвертой степени (20,8% моллюсков) в гемолимфе число водорослей составляло от 0,85 до $2,13 \times 10^7$, в теле – от 1,05 до $5,79 \times 10^{13}$ и вся проксимальная часть гонады, мускул-аддуктор, жабры, кишка и мантия были окрашены в зеленый цвет.

Морфометрический анализ параметров тела моллюсков показал, что с развитием инвазии уменьшается длина раковины, в результате чего она становится более округлой. Ширина и высота раковины, а также масса тела существенно не изменяются.

Анализ числа гемоцитов и их жизнеспособности при окраске трипановым синим показал, что с развитием инвазии у зараженных *M. kurilensis* по сравнению со здоровыми постепенно увеличивается число циркулирующих гемоцитов (с $1,2 \times 10^6$ до $1,4 \times 10^6$ кл/мл), но доля мертвых гемоцитов наоборот – снижается: с $18,7 \pm 4,7\%$ до $12,6 \pm 3,7\%$. При этом дифференциальный подсчет гемоцитов после окраски по Май-Грюнвальду показал увеличение на 10% доли эозинофилов у зараженных моллюсков и незначительное снижение числа гемобластов. Фагоцитарная активность гемоцитов в присутствии термически инактивированных и флуоресцентно меченных бактерий также возрастала по мере развития инфекции с 44,5% на начальной стадии до 52,1% на терминальных стадиях (с достоверным увеличением доли фагоцитов, содержащих микроводоросли). Доля клеток, содержащих активные формы кислорода и лизосомы, при проведении НСТ-теста и окраске акридиновым оранжевым достоверно не отличалась у зараженных моллюсков по сравнению со здоровыми.

Оценка гуморальных факторов гемолимфы с помощью планшетного ридера Bio-Rad iMark показала постепенное и достоверное повышение гемолитической активности плазмы у моллюсков, пораженных *Cossmutha*, по сравнению со здоровыми (при этом агглютинирующая активность не изменялась). Анализ содержания общего белка, щелочной фосфатазы, глюкозы, кальция, магния, железа и фосфора на биохимическом анализаторе Mindray BS-120 Chemistry Analyzer по стандартным настройкам показал, что с развитием инфекции в плазме незначительно повышается концентрация щелочной фосфатазы, глюкозы и кальция, тогда как концентрация общего белка снижается.

Таким образом, при развитии инвазии, вызванной *Cossmutha*, у моллюсков происходит увеличение гемолитической активности плазмы, числа гемцитов и доли среди них эозинофилов, а также фагоцитарной активности. Весь комплекс ответных реакций направлен на уничтожение патогена, но, вероятно, из-за наличия у *Cossmutha* особых механизмов уклонения от иммунной защиты хозяина, гемциты, не способные нейтрализовать патоген способствует лишь его распространению по организму моллюска. Полученные данные о границах вариативности параметров гемолимфы в норме и их изменения на фоне прогрессирования заболевания в дальнейшем можно будет применять для ветеринарного надзора и контроля состояния гидробионтов в естественных и аквакультурных популяциях.

Работа выполнена на базе ЦКП «Приморский океанариум» ННЦМБ ДВО РАН (Владивосток) при поддержке Фонда имени Геннадия Комиссарова.

МОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ ПОСЕЛЕНИЙ КОММЕРЧЕСКИ ЦЕННЫХ ВИДОВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ И ИГЛОКОЖИХ В ПРОЛИВЕ СТАРКА ЯПОНСКОГО МОРЯ

Турабжанова И. С.¹, Сухин И. Ю.¹

*¹ Тихоокеанский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ТИНРО),
г. Владивосток,
e-mail: irina.turabzhanova@tinro-center.ru*

Работы по мониторингу коммерчески ценных двустворчатых моллюсков и иглокожих, характеризующихся разным типом питания и образом жизни, на полигонах ТИНРО проводятся с 2013 г. Целью настоящего исследования стало изучение воспроизводства дальневосточного трепанга и приморского гребешка в проливе Старка путем мониторинга состояния поселений и интенсивности оседания личинок этих видов на искусственный субстрат.

Обследование поселений гидробионтов в 2022 г. проводили общепринятым водолазным гидробиологическим методом. Методика сбора стандартная, используемая при ресурсных исследованиях (Блинова и др., 2003).

Дальневосточный трепанг в прол. Старка встречается преимущественно на глубинах 10–15 м. Наиболее многочисленна молодь этого объекта на пластах анфельции, плотность его распределения на анфельции достигает 6,0 экз./м². Поле этой водоросли – это естественный коллектор для молоди трепанга. За пределами поля рекруты и взрослые особи встречается единично (на водолазной станции обнаруживается не более 0,01 экз. на 1 м²). В 2021 г. в результате влияния тайфуна «Майсак» отмечено разрушение периферийной части поля анфельции, что негативно сказалось на численности молоди трепанга в границах участка.

В исследуемом районе за период с 2013 по 2018 гг. пополнение молодью было относительно регулярным, численность молоди с массой менее 40 г составляла порядка 100 тыс. особей. В 2015 г. отмечена вспышка численности этого вида до уровня 655 тыс. экз., основную часть составляли молодые особи.

О серьезном браконьерском прессинге на скопление трепанга говорит то, что средняя масса животных в период с 2013 по 2019 гг. оставалась низкой (19,9–55, 4 г), крупноразмерные особи отсутствовали. Следует отметить, что до 2020 г. охрана участка не осуществлялась, что позволяло браконьерам изымать крупного трепанга.

Анализ численности мелкоразмерных особей с массой менее 40 г показал, что в теплые годы, когда сильных циклонов и обильных осадков не наблюдалось, пополнение поселения молодью было значительным (так, в 2013–2015 гг. количество молоди составляло 90–150 тыс. экз.) со вспышкой до 500 тыс. экз. в 2015 г. В период с 2019 по 2022 г. численность молоди трепанга резко снизилась с 13,2 до 0,2 тыс. экз. Такой провал в пополнении поселения молодью, вероятно, объясняется влиянием неблагоприятных погодных условий в период прохождения личиночных стадий: в 2019 г. при наступлении циклона 22 июля за сутки выпало 69 мм осадков; в 2020 г. в Приморье бушевал тайфун «Майсак», 2021 год был аномально теплым и температура воды на поверхности летом достигала 27 градусов.

Несмотря на то, что с 2020 г. организована охрана участка от незаконного промысла, существенного увеличения численности трепанга пока не отмечено, в период с 2021 по 2022 гг. она находилась в пределах 1,5–2 тыс. экз, что говорит о низком уровне воспроизводства трепанга в последние годы. Это связано преимущественно с гидролого-климатическими особенностями в период размножения гидробионта. Тем не менее, мы рассчитываем, что в ближайшие годы конфигурация поля анфельции в районе исследования восстановится, и пополнение поселения трепанга молодью будет возрастать.

Несмотря на низкую плотность распределения, в последние два года отмечены две тенденции. Во-первых – растет средняя масса особи, и произошло небольшое увеличение численности крупноразмерных голотурий. Отмечено, что с 2020 по 2022 гг средняя масса трепанга на участке заметно увеличилась (с 93, 0 до 118,1 г). Это может свидетельствовать о снижении пресса браконьерства. Мы рассчитываем, что охранные мероприятия покажут свою эффективность.

Анализ встречаемости приморского гребешка с 2013 г. показал, что этот вид в проливе Старка распространен на участках дна с песчаным и илесто-песчаным дном. В отличие от дальневосточного трепанга, он обитает за пределами поля анфельции на глубинах от 10,0 до 15,0 м. Моллюски встречаются единично (плотность поселения не превышает 0,02 экз./м²).

Поселение представлено преимущественно крупными особями. Размер особи изменяется от 94 до 143 мм, средний диаметр – 114,8 мм. Преобладают моллюски промыслового размера, составляющие около 63% поселения.

Пополнение молодью поселения происходит неравномерно. Незначительное присутствие молоди (размером до 50 мм) отмечено в 2015, 2019 и в 2021 гг., тогда как в другие годы молодь отмечалась единично либо совсем отсутствовала в пробах. В 2013 и в 2016 гг. в поселении преобладали молодые особи, не достигшие половой зрелости

(размером от 60 до 100 мм). В некоторые годы, включая 2022, в поселении преобладали половозрелые особи гребешка размером свыше 100 мм.

Сопоставление многолетних данных о численности поселений гребешка на дне с результатами сбора его спата, осевшего на коллекторы, показало, что между ними имеется определенная зависимость. Количество молоди на коллекторах значительно менялось от года к году в зависимости от условий среды. В 2014 и 2015 гг., которые характеризовались неблагоприятными температурными условиями в период развития личинок, оседание спата составило 67 и 26 экз. соответственно. В 2016-2018 гг. количество спата было значительно выше (300–444 экз. на коллектор). В это время численность гребешка на дне также была в 3–10 раз выше, чем в периоды с низким оседанием спата. В 2019 и 2021 гг. как плотность распределения гребешка на дне, так и количество спата были минимальными. Гребешок на дне встречался единично, количество спата изменялось от 3 до 82 экз. на коллектор. В 2020 г. спат собрать не удалось, так как коллекторы были уничтожены тайфуном «Майсак». Весной 2022 г численность гребешка увеличилась до 32,9 тыс. экз., при этом на фоне благоприятных условий среды в период развития личинок гребешка средняя численность молоди на коллекторах достигла 382 экз./мешочек.

Таким образом, отмечается связь между численностью поселения гребешка в период, предшествующий нересту, и оседанием спата гребешка.

**ЕЩЁ РАЗ О ВИДОВОМ СТАТУСЕ ТРАВЯНОГО ЧИЛИМА
PANDALUS LATIROSTRIS RATHBUN, 1902 (DECAPODA:
PANDALIDAE) ИЗ АКВАТОРИИ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО ПО
ДАННЫМ МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

Туранов С. В.¹, Кольцова М. А.²

¹ *Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, г. Владивосток,*

² *Дальневосточный федеральный университет, 690922, г. Владивосток
sturcoal@mail.ru*

Применение молекулярно-генетических методов в дополнение к использованию морфологических признаков в недавнем прошлом позволило по-новому взглянуть на систему креветок семейства Pandalidae, определив его современный состав на уровне наиболее доступных родов и утвердив для них ряд надёжных синапоморфий (Liao et al., 2019). В то же время результаты генотипирования представителей рода *Pandalus* отрывочны и не позволяют получить чёткое представление о его системе и разнообразии, а недостоверные, но легкодоступные генетические данные могут вносить путаницу в результаты молекулярно-генетического анализа. Так, ранее было высказано предположение (Туранов, Савина, 2022) о существовании криптического разнообразия в составе *P. latirostris*, и, как следствие, о неприменимости данного видового названия к креветкам зал. Петра Великого.

В настоящей работе, на основании частичных последовательностей митохондриального генома участков *COI* и 16S рРНК, собранных из транскриптомов достоверно идентифицированных особей *P. latirostris* из мест первоописания вида, сделан прямо противоположный вывод. Сравнение особей из залива Петра Великого с особями из побережья северной части о. Хоккайдо по данным соответствующих митохондриальных фрагментов указывает на низкую изменчивость и отсутствие какой-либо внутривидовой структуры в пределах данных точек ареала вида. Обнаруженная ранее криптическая линия *Pandalus* (номер доступа в GenBank AB244633), наиболее вероятно, принадлежит близкому, но неверно идентифицированному виду.

СИНАПТАМИД ПРЕПЯТСТВУЕТ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ГИППОКАМПА И АКТИВАЦИИ ГЛИИ У МЫШЕЙ С ЧЕРЕПНО- МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

Тыртышная А. А., Манжуло О. С., Манжуло И. В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,*

г. Владивосток, dr.anna.kelvin@gmail.com

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) представляет серьезную проблему для общественного здравоохранения во всем мире, затрагивая 55 миллионов человек и являясь основной причиной смерти и инвалидности. Для лечения последствий ЧМТ перспективны высокоактивные липидные соединения, называемые N-ацилэтанолами жирных кислот. Эти эндогенные метаболиты и медиаторы центральной нервной системы (ЦНС) обладают противовоспалительными, антиоксидантными и нейропротекторными свойствами. Мы изучили терапевтический потенциал N-докозагексаноилэтаноламина (синаптамида) при ЧМТ с использованием модели ЧМТ при падении груза (Weight Drop Model, WDI) на 3-месячных самцах мышей линии C57Bl/6. В качестве контроля выступали ложнопериованные (ЛО) животные. Изучено влияние синаптамида на процессы нейродегенерации и сопутствующие изменения нейрональной и глиальной пластичности в гиппокампе животных с ЧМТ. Докозагексеновая кислота для синтеза синаптамида была получена из продуктов переработки командорского кальмара *Beryteuthis magister*.

Проведены детальное исследование морфологии дендритов и дендритных шипиков в нейронах гиппокампа, сохранивших жизнеспособность после ЧМТ, и оценка влияния синаптамида на структурную пластичность нейронов. В результате выявлено значительное уменьшение длины и степени ветвления дендритов как в пирамидных, так и в гранулярных нейронах гиппокампа вследствие ЧМТ. Введение синаптамида предотвращало дегенерацию апикальных дендритов пирамидных нейронов CA1- и CA3-области, а также дендритов гранулярных нейронов зубчатой извилины, сохраняя их длину и степень ветвления. Кроме того, в области CA1 синаптамид предотвращал снижение плотности дендритных шипиков, значительно увеличивая плотность шипиков в области CA3 и зубчатой извилины, независимо от наличия ЧМТ. Последующий анализ активности микроглии в значительной степени объяснил нейропротекторные эффекты синаптамида, противовоспалительные свойства которого подтверждены в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Использование

универсального маркера микроглии/макрофагов Iba-1 позволило выявить достоверное повышение активности микроглии/макрофагов в гиппокампе при ЧМТ. Однако введение синаптамида не способствовало снижению активности микроглии/макрофагов в области СА1 поврежденного гиппокампа ($12,94 \pm 1,28$ – ЧМТ vs. $12,68 \pm 1,62$ – ЧМТ+Син), а в зубчатой извилине в целом повысило экспрессию Iba-1 по сравнению с группой ЧМТ ($4,92 \pm 0,45$ – ЧМТ vs. $8,47 \pm 0,76$ – ЧМТ+Син, $p < 0,01$). Для объяснения этого явления проведен иммуноферментный анализ, позволяющий определить спектр про- и противовоспалительных факторов, продуцируемых в гиппокампе и свидетельствующих о преобладающем микроглиальном фенотипе. В результате обнаружено, что индуцированное синаптамидом повышение иммунореактивности Iba-1 при ЧМТ сопровождается активацией противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и маркера M2-микроглии CD206. В то же время синаптамид снижал продукцию гиппокампом провоспалительного цитокина ИЛ-1 β , преимущественно у ложнопериоперированных животных. Полученные данные свидетельствуют, что синаптамид при ЧМТ способствует M2-поляризации микроглии со сдвигом профиля секретируемых цитокинов в противовоспалительную сторону. Астроциты, одни из самых распространенных клеток головного мозга, вносят значительный вклад в воспалительную реакцию, связанную с ЧМТ. Исследование активности астроцитов при травме и лечении иммуногистохимическим методом с использованием маркеров GFAP и виментина показало, что синаптамид индуцирует снижение иммунореактивности GFAP преимущественно в контралатеральном гиппокампе ($24,26 \pm 2,00$ – ЧМТ против $11,04 \pm 1,09$ – ЧМТ+Син, $p < 0,0001$). Аналогичная картина наблюдается при изучении иммуногистохимического распределения виментина, который в норме продуцируется в крайне малых количествах, но при патологии его уровень значительно возрастает. В нашем исследовании как в ипси-, так и в контралатеральном гиппокампе синаптамид не только эффективно предотвращал опосредованное ЧМТ увеличение иммунореактивности виментина, но также снижал уровни виментина у ложнопериоперированных животных в области СА1 ($14,01 \pm 1,14$ – ЧМТ, $3,21 \pm 0,31$ – ЧМТ+Син, $3,08 \pm 0,43$ – ЛО+Син) и СА3 ($11,23 \pm 0,75$ – ЧМТ, $3,85 \pm 0,45$ – ЧМТ+Син, $1,93 \pm 0,26$ – ЛО+Син) контралатерального гиппокампа. Исследования показывают, что блокирование продукции GFAP и виментина астроцитами предотвращает опосредованное ЧМТ снижение нейрогенеза и нарушение регенерации аксонов. В нашей работе количество новообразованных нейронов у животных с ЧМТ без лечения в ипсилатеральном гиппокампе уменьшилось ($3777,24 \pm 440,71$ – ЛО vs. $2172,05 \pm 224,66$ – ЧМТ, $p = 0,007$), что свидетельствует о снижении выживаемости нейронов. Однако у животных с ЧМТ, получавших синаптамид, не наблюдалось снижения количества новообразованных

нейронов ($3911,69 \pm 426,61$ – ЧМТ+Син). Интересная ситуация наблюдалась в контралатеральном гиппокампе, где травма в сочетании с введением синаптамида достоверно увеличивала количество новообразованных нейронов в субгранулярном слое зубчатой извилины ($3062,62 \pm 310,87$ – ЛО vs. $6643,64 \pm 643,01$ – ЧМТ+Син, $p < 0,0001$). Увеличение числа новообразованных нейронов при травме в зубчатой извилине контралатерального гиппокампа коррелирует со снижением иммунореактивности GFAP и виментина.

Важным аспектом когнитивного функционирования является экспрессия генов, влияющих на память и обучение. Например, регулируемый активностью ген цитоскелета (Arc или Arg3.1) кодирует белок, который экспрессируется в постсинаптической плотности (PSD) и по своей природе связан с регуляцией синаптической пластичности и, следовательно, с процессами консолидации памяти. Мы обнаружили, что ЧМТ достоверно снижает количество Arc-позитивных нейронов в зубчатой извилине ипсилатерального гиппокампа по сравнению с ЛО-животными ($534,44 \pm 32,77$ – ЛО vs. $67,31 \pm 13,98$ – ЧМТ, $p < 0,0001$). Однако синаптамидная терапия не смогла предотвратить столь резкое снижение продукции Arc ($77,24 \pm 24,33$ – ЧМТ+Син). В контралатеральном гиппокампе продукция Arc снижалась из-за ЧМТ в меньшей степени, чем в ипси- ($593,60 \pm 39,42$ – ЛО vs. $395,95 \pm 35,00$ – ЧМТ, $p = 0,004$), а лечение синаптамидом предотвращало подобные изменения ($649,64 \pm 31,53$ – «ЧМТ+Син»).

Изучение продукции антиапоптотического фактора Bcl-2 в ипсилатеральном гиппокампе выявило достоверное индуцированное ЧМТ повышение иммунореактивности Bcl-2 в CA1 ($0,66 \pm 0,23$ – ЛО vs. $5,83 \pm 0,60$ – ЧМТ, $p < 0,0001$), CA3 ($0,82 \pm 0,23$ – ЛО vs. $11,89 \pm 2,00$ – ЧМТ, $p = 0,009$) и DG ($1,31 \pm 0,25$ – ЛО vs. $7,11 \pm 0,99$ – ЧМТ, $p < 0,0001$). Лечение синаптамидом эффективно препятствовало ЧМТ-опосредованному увеличению продукции Bcl-2 в CA3-области ипсилатерального гиппокампа ($4,04 \pm 0,75$ – ЧМТ+Син), в то время как в CA1-области и зубчатой извилине уровень Bcl-2 оставался на уровне группы ЧМТ. Для оценки эффективности нейропротекторной терапии синаптамидом, помимо изучения продукции антиапоптотического фактора Bcl-2, исследовали продукцию проапоптотического фактора Bad. Обнаружено значительное увеличение продукции Bad при ЧМТ во всех областях ипсилатерального гиппокампа. В то же время синаптамид смог эффективно предотвратить апоптозную гибель клеток в области CA3 ($10,45 \pm 2,09$ – ЧМТ vs. $3,01 \pm 0,52$ – ЧМТ+Син, $p < 0,01$) гиппокампа.

Полученные данные свидетельствуют о том, что синаптамид обладает многообещающим потенциалом в качестве терапевтического средства для предотвращения долгосрочных нейродегенеративных последствий ЧМТ и улучшения качества жизни.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИЕТЫ МОРСКИХ ЛЬВОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ КОМПЬЮТЕРНОГО ЗРЕНИЯ

Усатов И. А.¹, Бурканов В. Н.^{2,3},

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН, Владивосток, usatov.ivan.alex@gmail.com

²Консалтинговая компания по дикой природе Северной Пацифики,
Сиэтл,

³Лаборатория по изучению морских млекопитающих Аляскинского
рыбохозяйственного центра НСМР/НОАА, Сиэтл,
vburkanov@gmail.com

В прошлом определение диеты сивуча *Eumetopias jubatus* осуществлялось путем анализа непереваренных твердых остатков, извлекаемых из экскрементов, содержимого желудка, кишечника или наблюдением за добычей в дикой природе. Определение рыбы, отолитов и клювов кальмаров, находящихся в различной степени переваривания, является трудоёмким и дорогостоящим процессом, требующим участия опытных биологов, и может содержать ошибки, которые крайне сложно выявить. Мы проверили возможность использования нейронной сети на основе компьютерного зрения для идентификации непереваренных частей диеты из образцов экскрементов сивуча, которые ранее были просмотрены и идентифицированы экспертами.

Последние годы характеризуются развитием нейронных сетей на основе компьютерного зрения, которые позволяют автоматизировать процесс извлечения данных с визуальных изображений. Примеры использования компьютерного зрения в биологии включают не только анализ изображений морских организмов, но и распознавание растительного покрова на снимках спутников, анализ медицинских изображений и многое другое.

Мы исследовали 19 типов костей и отолитов от 13 видов рыб, найденных в пробах питания сивуча, и точно определённых специалистами-морфологами. Каждый объект помещали на чёрный фон и фотографировали в разных проекциях через микроскоп с увеличением $\times 10-15$. Получили 1513 фотографий. Для идентификации непереваренных частей диеты использовали нейронную сеть модели VGG 16, которая ранее была обучена на данных ImageNet, содержащих 1,4 миллиона изображений животных и растений. Модель была обучена на 1469 фотографиях с различными остатками пищи. Обучение проводили с использованием среды R и пакета 'keras'. Точность

обучения модели на 60 эпохах составила 99%. Из-за относительно небольшого количества фотографий не использовали валидацию модели. Мы провели тестирование на 44 изображениях объектов диеты сивуча, которые не участвовали в процессе обучения, но были известны как содержащие те же виды и типы непереваренных частей диеты, на которых обучалась нейронная сеть. Модель идентифицировала остатки рыбы с точностью 100%.

Основной проблемой при использовании компьютерного зрения для определения костей рыб является получение достаточного количества фотографий разных типов непереваренных остатков пищи на разных стадиях переваривания от всех потенциальных видов добычи сивуча. Очень важно, чтобы они были точно идентифицированы.

Сравнивая наш подход с методом копрологического анализа, мы можем выделить несколько преимуществ. Во-первых, использование компьютерного зрения позволяет быстро и точно идентифицировать остатки пищи, что уменьшает время и затраты на анализ. Во-вторых, автоматизация процесса идентификации остатков пищи позволяет исключить ошибки, связанные с человеческим фактором. В-третьих, использование компьютерного зрения может улучшить качество исследований питания морских зверей, так как позволяет идентифицировать все фрагменты объектов питания. Однако необходимо учитывать, что наш эксперимент был проведён на небольшом объёме данных и требует дополнительных исследований. Для повышения точности идентификации объектов питания необходимо использовать больший объём данных и провести валидацию модели на дополнительных тестовых данных. Кроме того, необходимо учитывать, что использование компьютерного зрения может иметь некоторые ограничения. Например, некоторые остатки пищи могут быть сложными для идентификации из-за их формы или состава. Также необходимо учитывать возможные ошибки при фотографировании остатков пищи, которые могут повлиять на точность идентификации.

**ВИДОВОЙ СОСТАВ ИХТИОПЛАНКТОНА В БУХТЕ
АЛЕКСЕЕВА (ЗАЛИВ ПЕТРА ВЕЛИКОГО, ЯПОНСКОЕ МОРЕ) В
ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2019 И 2020 ГГ.**

**Федорец Ю. В., Еловская О. А., Васильева Л. Е., Косьяненко А. А.,
Жуковская А. Ф.**

Тихоокеанский океанологический институт им. В. И. Ильичева ДВО
РАН, г. Владивосток, lulya81@mail.ru

Известно, что большая часть промысловых рыб прибрежного комплекса нерестится в бухтах и заливах. Здесь же после вылупления держатся их малоподвижные личинки и молодь. Исследования ихтиопланктона велись в основном в открытой части Японского моря, в частности в зал. Петра Великого (Веденский, 1951, 1954, 1971; Горбунова, 1954; Кагановская, 1954; Перцева-Остроумова, 1955, 1961) и почти не охватывали районы прибрежного мелководья.

Ранее видовой состав рыб б. Алексеева изучен Г.Н. Воловой с соавторами (1980). Более подробный фаунистический список видов рыб бухты составлен В.Е. Гомелюком с соавторами (1990). Однако видовой состав и численность личинок и молоди рыб оставались неизученными.

По данным Ю.В. Завертановой, в весенне-летний период 2006–2007 гг., ихтиопланктон был представлен 27 видами рыб из 15 семейств. Среди них промысловое значение имеют сельдь *Clupea pallasii*, навага *Eleginus gracilis*, камбалы (Pleuronectidae), малоротая корюшка *Hypomesus japonicus*, зубастая корюшка *Osmerus mordax* и анчоус *Engraulis japonicus*. В ихтиопланктоне встречалась также молодь непромысловых и малоиспользуемых рыб – постоянных обитателей прибрежного мелководья. Наибольшее видовое разнообразие отмечено для семейств Pleuronectidae и Stichaeidae (по 5 видов).

Целью наших исследований стало изучение видового состава ихтиопланктона б. Алексеева в летний период 2019 и 2020 гг.

Сбор ихтиопланктона проводили с июня по август 2019 и 2020 гг. 2 раза в месяц на 13 станциях (рис. 1). Основное число станций выполнено с борта малых плавсредств типа «мотобот» и моторной лодки над глубинами 1–20 м в дневное время суток. Материал собирали икорной сетью ИКС-80 с площадью входного отверстия 0,5 м²; сетные мешки изготовлены из капронового газа №14 в соответствии с методикой Т.С. Расса и И.И. Казановой (1966).

Горизонтальное траление выполняли по стандартной методике (Расс, 1963). В горизонтальных обловах количество икры (шт.) и личинок (экз.) выражали на лов.

Для определения видовой принадлежности икры и личинок использовали определители Т.А. Перцевой-Остроумовой (1955), Н.Н. Горбуновой (1964; М. Окияма, 1988), А.С. Соколовский, Т.Г. Соколовская (2008).

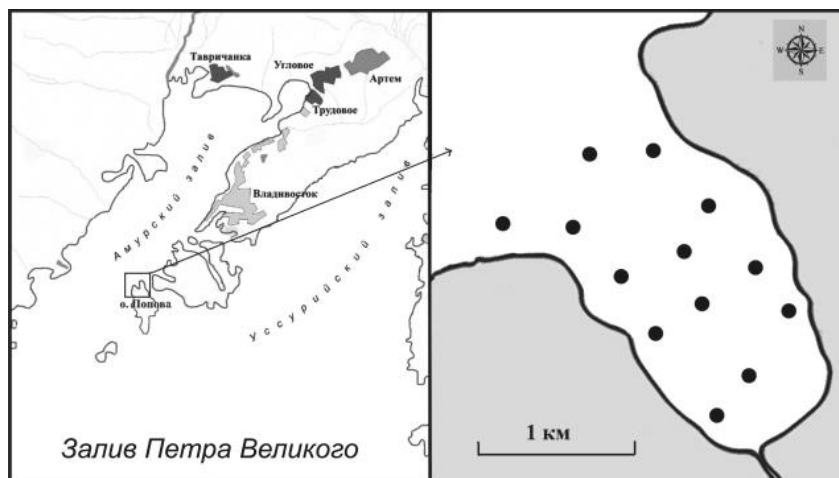


Рис. 1. Карта-схема сбора проб иктиопланктона (точки) в б. Алексеева в летний период 2019-2020 гг.

Летний иктиопланктон б. Алексеева представлен 20 видами рыб, принадлежащими к 8 семействам. Это составляет около 7.0% общего числа видов, обитающих в зал. Петра Великого (Соколовский и др., 2011). Многочисленными компонентами иктиопланктонного сообщества бухты Алексеева являлись южные мигранты *Konosirus punctatus* и *Engraulis japonicus*, а также виды-резиденты *Stichaeus grigorievi*, *Opisthocentrus ocellatus*, *O. tenuis*, *Sebastes schlegeli*, *S. taczanowskii* и др., развитие ранних стадий которых проходит в летний период в пелагиали. Единично в июле 2020 г. были отмечены личинки *Gasterosteus aculeatus* (TL 11,0 мм), *Pungitius pungitius* (TL 8,0 мм) и *Blepsias cirrhosis* (TL 12,0 мм).

Нерест *K. punctatus* в зал. Петра Великого начинается обычно в конце июня – первой декаде июля, когда прибрежные воды прогреваются до 17–19°C, и происходит над глубинами 20–100 м (Соколовский, Соколовская, 2008; Епур, Баланов, 2015). В б. Алексеева пелагические личинки *K. punctatus* (35 экз.) TL 5.5–8.5 (в среднем 7.0) мм обнаружены на всех станциях в уловах 15 и 23 июля 2019 г., а также и 12 и 20 июля 2020 г. при температуре поверхностной воды 19.5–22.5°C.

Икра *K. punctatus* (I-II стадии развития) отмечена только 20 июля 2020 г. на всех станциях, диаметр икры варьировал от 1.6 до 1.75 (в среднем 1.65) мм. Численность по станциям варьировала от 10 до 25 (в

среднем 15) шт./лов. Вся икра была мертвой, вероятно, потому, что в процессе развития эмбрион наиболее чувствителен к воздействию внешних факторов на начальных этапах развития (I и II стадии). Критические периоды в эмбриональном развитии совпадают с процессами интенсивной дифференцировки. Наиболее чувствительными периодами являются процессы начала гастрюляции и начала формирования зародыша. Гибель икры в море на ранних этапах развития мы связываем, в основном, с фактором ветрового волнения, изменениями температуры и солености воды.

Нерест *E. japonicus* в зал. Петра Великого проходит с мая до первой половины октября при температуре воды 14–19°C (Соколовский, Соколовская, 2008; Гнубкина и др., 2013; Епур, Баланов, 2015). С июня по август 2019–2020 гг. в уловах отмечалась икра этого вида на всех стадиях развития (численность икры на станциях варьировала от 250 до 2000 шт./лов). Доля нормально развивающихся икринок на разных стадиях развития не оставалась величиной постоянной. Наибольшее количество мертвой икры приходится на первую стадию развития, на IV стадии мертвая икра не отмечена.

Наибольшая численность личинок *E. japonicus* наблюдалась в августе 2019 и 2020 гг., когда частота встречаемости составила 100% и было выловлено свыше 15000 экз., размером TL 5.5–17.5 мм. Высокие концентрации *E. japonicus* (около 1500 экз./лов) были отмечены на всех 13 станциях.

В бухте Алексеева в летний период 2019 и 2020 гг. обнаружены три вида камбал: *Limanda punctatissima* (диаметр икры 0.75–0.78 мм, встречалась с июня по август, численность варьировала от 50 до 85 шт./лов, икра на второй и третьей стадиях развития), *L. aspera* (диаметр икры 0.72–0.90 мм, отмечена с июня по август, численность варьировала от 50 до 250 шт./лов, икра на первой – четвертой стадиях развития) и *Glyptocephalus stelleri* (икра на второй и третьей стадиях развития, диаметр 1.20–1.50 мм, встречалась в июне и в июле, численность не превышала 25 шт./лов).

Таким образом, в летние месяцы 2019 и 2020 гг. в бухте Алексеева преобладали икра, личинки и мальки пелагофильных видов, основной нерест которых протекает в июне–июле (Давыдова, 1998; Соколовский, Соколовская, 2008; Епур, Баланов, 2015).

ОСОБЕННОСТИ БЕСПОЛОГО РАЗМНОЖЕНИЯ КОРОНАТНЫХ ПОЛИПОВ *LINUCHE* SP. (CNIDARIA: SCYPHOZOA)

Хабибулина В. Р.¹, Домрачева М. М.¹, Салова И. А.¹, Нефедова Е. А.²

¹Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, *khabvaleriya@yandex.ru*

²Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург

Coronatae – это небольшой отряд внутри класса Scyphozoa, представители которого населяют тропические моря и обладают типичным метагенетическим жизненным циклом, в котором чередуются медузоидная и полипоидная стадия – сцифистома. Сцифистомы коронат, в отличие от других сцифоидных, живут внутри секретируемого ими хитинового домика и могут образовывать псевдоколонии-поселения. Данных о биологии и особенностях строения коронатных полипов сравнительно мало, так как они обитают, как правило, на больших глубинах и труднодоступны. Представители рода *Linuche* sp. являются исключением из этого правила. Сцифистомы этого рода встречаются на небольшой глубине, часто заносятся в морские аквариумы вместе с субстратом и, по-видимому, могут хорошо культивироваться в искусственных условиях. Медузы *Linuche* sp. вызывают у человека дерматоз, и потому являются также объектом прикладного интереса. В частности, актуальным является вопрос распространения и расселения медуз, которое осуществляется, в том числе, за счет бесполого размножения на полипоидной стадии. Поэтому целью данной работы стало исследование особенностей бесполого размножения сцифистом *Linuche* sp.

Культура сцифистом *Linuche* sp. получена в Аквариальной ЗИН РАН, где и содержалась в лабораторных условиях при регулярном кормлении науплиусами *Artemia* sp. Нам удалось пронаблюдать три типа бесполого размножения: 1) стробилиция, 2) латеральное почкование 3) образование пропагул.

Стробилиция – это особый тип бесполого размножения, характерный для сцифоидных, при котором путем поперечных перетяжек на теле полипа, формируются молодые медузы – эфиры. Для коронатных полипов характерна полидискная стробилиция с образованием сразу большого количества эфир. Нам не удалось вызвать стробилицию искусственно с помощью химической индукции или воздействия пониженной температуры, однако периодически сцифистомы спонтанно переходили к стробилиции. Каждая сцифистома *Linuche* sp. могла образовать до 30 эфир, что больше, чем образуется в среднем при полидискной стробилиции других сцифоидных, однако размер этих эфир

был относительно небольшим. Формирование большого количества эфир, вероятно, связано с большими размерами полипа, однако диаметр эфире фактически ограничен диаметром хитиновой трубки. Латеральное почкование – это формирование дочерних полипов на боковой поверхности материнского полипа. Такой способ размножения характерен для сцифоидных и приводит к формированию плотных поселений. У *Linuche* sp. латеральное почкование вело к образованию псевдоколоний числом до 50–60 особей; в колониях полипы оказывались соединены внешним хитиновым скелетом, однако не соединялись друг с другом живыми тканями.

Особенный интерес вызвало формирование пропагул. Пропагулы – это небольшие обособляющиеся участки тканей полипа, которые способны к самостоятельному перемещению и формированию полипов нового поколения. Сцифистомы *Linuche* sp. образовывали пропагулы, вероятно, в ответ на неблагоприятные воздействия среды (повышение солености в культуральной емкости, голодание, изменение температуры, зарастание водорослями). Пропагулы обнаруживались прикрепленными к стеклу культуральной емкости. Они представляли собой небольшие клеточные тела, диаметром от 0,4 до 0,9 мм, окруженные тонким прозрачным перисарком. На светооптическом уровне не удалось выявить какой-либо дифференциации или эпителизации клеточных слоев во время периода покоя. Однако в тканях пропагулы хорошо идентифицировались стрекательные капсулы и фотосимбионты, по-видимому, унаследованные от материнского организма. После неустановленного периода покоя у пропагул дифференцировались клеточные слои, слой перисарка прерывался и начиналось развитие полипа нового поколения.

Таким образом, в размножение и распространение *Linuche* sp. вносят вклад три разных типа бесполого размножения. Стробилиция приводит к непосредственному увеличению числа половых особей, латеральное почкование позволяет образовать плотные поселения с большим количеством полипов. Формирование пропагул, хоть и вызывается неблагоприятными условиями, однако тоже ведет к увеличению числа особей и может рассматриваться как одна из стратегий расселения.

Работа выполнена с использованием оборудования РЦ СПбГУ «Культивирование микроорганизмов» и «Хромас».

ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ПРОЕКТ "БИОТА РОССИЙСКИХ ВОД ЯПОНСКОГО МОРЯ": ЧТО ОСТАЛОСЬ ЗА КУЛИСАМИ?

Чернышев А. В.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток, nemertea1969@gmail.com*

В 1998 г. Ученый совет Института биологии моря ДВО РАН принял решение об издании серийной сводки "Биота российских вод Японского моря". Главным редактором серии стал академик Владимир Леонидович Касьянов, который взял на себя непростую задачу по привлечению новых авторов. Способность убеждать и личное обаяние позволили Владимиру Леонидовичу убедить многих ученых в необходимости этой сводки. Составление определителей по иерархической схеме классификации организмов, т.е. от низших групп к высшим, объединяя в один том только родственные таксоны, оказалось невозможным из-за слабой изученности многих групп. Поэтому было решено комплектовать тома из тех рукописей, что были готовы к печати. При этом мы отдавали себе отчет, что многие группы в ближайшие десятилетия останутся неохваченными из-за отсутствия специалистов. Главным достижением проекта стала публикация 11 томов в период с 2004 по 2016 гг., в написании которых приняли участие 27 специалистов из 11 научных учреждений России и Украины. После 2014 г. выход новых томов «Биоты...» приостановился. В связи с кончиной В.Е. Харина осталась незаконченной первая часть, посвященная рыбам Японского моря, и пока никто из его коллег не взялся за ее завершение. Не стало еще одного участника проекта, крупнейшего альголога Луизы Николаевны Перестенко (Ботанический институт РАН), которая не успела завершить работу над томом, посвященным бурым водорослям. С начала проекта один за другим ушли 10 авторов «Биоты...». Много изменилось в нашей жизни. Интерес к написанию фаунистических и флористических сводок резко упал: ученые не готовы тратить времени на создание книг. Однако востребованность подобных сводок по-прежнему высока.

ВЛИЯНИЕ ОСНОВНОГО ЧЕРНОМОРСКОГО ТЕЧЕНИЯ НА БИОЛОГИЮ РАЗВИТИЯ ЧЕРНОМОРСКИХ ЖЕЛЕТЕЛЫХ

Чудиновских Е. С., Мельников В. В.¹, Силаков М. И.

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского (ИнБЮМ)
РАН,
г. Севастополь, chudhel@yandex.ru*

В настоящее время влияние основного черноморского течения (ОЧТ) на изменчивость состава и пространственно-временного распределения черноморских желетелых еще слабо исследовано. Обычно распределение планктона над континентальным склоном Черного моря определяется сложной системой взаимодействия гидрологических и биологических процессов, зависящих от морских течений и ветров, которые вызывают вихри, меандры, фронты и т.д. (Madhupratap et al., 1990; Timonin, 1990; Bauer et al., 1991; Oguz, Besiktepe, 1999; Arashkevich et al., 2005). ОЧТ проходит вдоль берегов всего Черного моря на расстоянии около 25–30 миль (Книпович, 1932). Этот поток с шириной до 40 миль, идет против часовой стрелки со средней скоростью до 5 км/ч и генерирует на периферии небольшие антициклоны (Oguz et al., 1992; Каримова, 2011). Региональное положение этого течения, определяется рельефом дна, формой берегов и скоростями потока. В тёплый сезон скорости ниже, что способствует неустойчивости и вихреобразованию, это приводит к формированию разномасштабных меандров и разнонаправленных вихрей, которые смещают поток ОЧТ от берега в зону континентального склона (Latun, 1990; Stanev, 1990; Zatsepin et al., 2002 a, b). В периоды усиления ветровой деятельности ОЧТ усиливается и прижимается к берегу (Zatsepin et al., 2002 a, b; Arashkevich et al., 2005). У берегов Кавказа между стрежнем ОЧТ и берегом в силу бокового сдвига скорости обычно формируется зона небольших прибрежных антициклонов, которые в виде эллипсов вытянуты между ОЧТ и берегом (Oguz et al., 1992; Титов, 2002; Каримова, 2011). Экологическая роль ОЧТ определяется горизонтальным и вертикальным водообменом, который способствует переносу биогенов и аэрации вод над континентальным склоном. Динамика этих процессов зависит не только от ряда региональных причин, но и от сезонных, межгодовых или глобальных климатических процессов (Oguz et al., 1992; Zatsepin et al., 2002 a, b; Arashkevich et al., 2005).

Вопросам влияния прибрежных течений на распределение и численность зоопланктона посвящено большое количество работ (Oguz

et al., 1992; Ковалев и др., 1993; Sur et al., 1994; Arashkevich et al., 2002 а, б, 2005; Belkin et al., 2022). Однако данных о влиянии основного черноморского течения на сезонную биологию развития черноморских желетелых недостаточно. Исследования проводили в 117 рейсе НИС "Профессор Водяницкий" (ЦКП Профессор Водяницкий) 30 июля – 9 августа 2021 г. в российской акватории Черного моря у берегов Кавказа на 83 гидрологических (СТД) и 30 гидробиологических станциях, расположенных на 10 разрезах. Отбор проб желетелых выполняли сетью Хензена (300 микрон) на станциях, расположенных на расстоянии 4–5 миль от берега (глубина около 100 м), а наиболее мористые – на расстоянии до 90 миль (глубина > 2000 м). СТД станции располагались на расстоянии около 10–15 миль на друг от друга, гидробиологические – на дистанции 25–30 миль друг от друга. СТД-зондирования выполнялись зондом Idronaut Ocean Seven 320 Plus M. По данным СТД рассчитывалась динамическая топография (5–300 м, дин. м) и геострофические скорости.

Большие скопления (до 18.94 экз./м²) молодых медуз (30–60 мм) *Aurelia aurita* (Linnaeus, 1758) наблюдали в зоне сочинского поверхностного антициклонического вихря (ПАВ) и в районе Новороссийска (до 18.17 экз./м²), где также наблюдался небольшой ПАВ. Холодноводный аборигенный гребневик *Pleurobrachia pileus* (O. F. Müller, 1776) преобладал в открытых глубоководных районах. Гребневики *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865 были представлены молодыми особями (6–13 мм) до 7 экз./м², которые встречались преимущественно в виде пятен в зоне действия ОЧТ. Пространственное распределение этих пятен соответствовало пятнам теплой воды в ОЧТ. Гребневик *Beroe ovata* Bruguière, 1789, который питается гребневыми *M. leidyi*, распределён преимущественно по периферии ОЧТ, размер особей 6–25 мм.

Исследование показало, что развитие интенсивной струи ОЧТ вблизи континентального склона наряду с формированием динамического фронта, приводят к практически полной изоляции вод прибрежных антициклонов от других частей моря. Это создает благоприятные условия для развития молоди всех видов желетелых (рис. 1) в зонах квазистационарных антициклонических круговоротов между ОЧТ и береговой линией (в момент исследований у берегов Кавказа они были в зоне 3–5 миль от берега).

Если в такой антициклон попадают богатые биогенными веществами воды терригенного происхождения, то в зависимости от их состава и объема, прибрежный антициклон может превращаться в квазистационарный оазис для развития молоди черноморских желетелых (рис. 1).

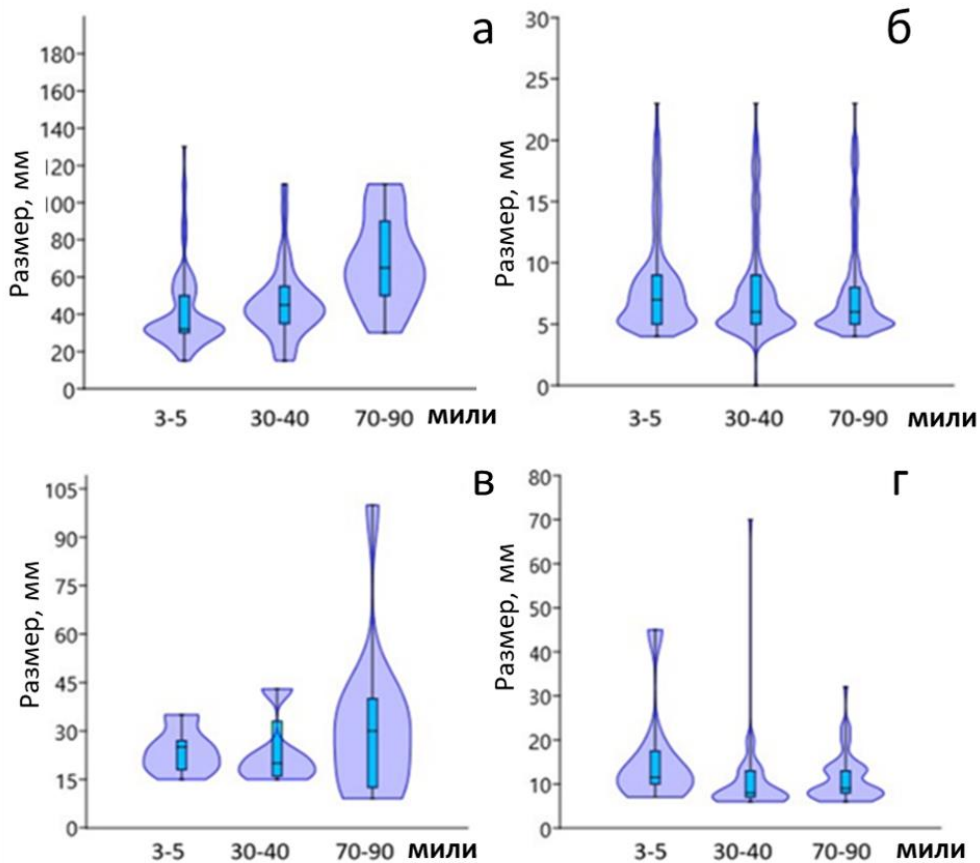


Рис. 1 Распределение размерных групп желателых на разном расстоянии от берега в милях под 1 м²: а – *Aurelia aurita*, б – *Pleurobrachia pileus*, в – *Beroe ovata*, г – *Mnemiopsis leidyi* (средняя линия в прямоугольнике — это значение медианы, его высота — межквартильный диапазон: площадь между 1-м и 3-м квартилями 25% и 75% процентилей).

Последнее определяет вспышки обилия медуз, которые в Черном море иногда приводят к образованию в прибрежье колоссальных скоплений. Пики развития, учащающиеся по мере изменения климата, вызывают законное беспокойство, поскольку пищевая активность желателых высока, а состав рациона совпадает с рационом личинок рыб.

Работа выполнена в рамках темы 121041400077-1 «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом».

РОЛЬ FGF-СИГНАЛИНГА В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ РАННЕГО РЕГЕНЕРАТИВНОГО ОТВЕТА У БЕЛОМОРСКОЙ ПОЛИХЕТЫ *ALITTA VIRENS*

Шалаева А. Ю., Козин В. В.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, a.shalaeva@spbu.ru

В регенерации животных важная роль отведена сигнальным молекулам и их взаимодействию. Один из таких регуляторов – сигнальный путь факторов роста фибробластов (FGF), способный активировать множество внутриклеточных компонентов, позволяющих получить различный ответ со стороны клетки, в т. ч. пролиферацию, миграцию и/или апоптоз (Ornitz, Itoh, 2015). Для позвоночных животных показано, что при регенерации эти сигнальные молекулы, источником которых выступают нервы, индуцируют формирование регенерационной бластемы, недифференцированной совокупности клеток (McCusker et al., 2015). Её появление является ключевым шагом всего репаративного процесса, без успешного прохождения которого дальнейшая регенерация невозможна. По мере своего роста бластема тоже становится сигнальным центром и источником молекул FGF, который регулирует процессы роста и дифференцировки её клеток (Shibata et al., 2016).

Для беспозвоночных животных, в частности, на модели регенерации сегментов полихеты *Alitta virens*, показано, что FGF-сигналинг может выполнять те же функции, что и при восстановлении конечностей и хвостовых частей у позвоночных (Shalaeva et al., 2021). Для более точного описания роли FGF, мы провели ингибиторный анализ на ранних стадиях каудальной регенерации *A. virens*. Для ингибирования мы использовали фармакологический агент SU5402, угнетающий работу рецептора FGF. Затем при помощи гибридизации *in situ* мы оценили вклад FGF-сигналинга в индукцию экспрессии ряда регуляторных генов. Мы изучили экспрессию мезодермальных маркеров (*Avi-twist*), маркеров мультипотентного состояния клеток (*Avi-vasa*, *Avi-piwi*), связанных с дедифференцировкой (Kozin, Kostyuchenko, 2015), и маркеров задних позиционных значений (*Avi-cdx*, *Avi-post2*). Все эти гены в норме активируются после ампутации в области раны, что отражает индукцию клеточных источников регенерации и восстановление позиционной информации за счёт молекулярного морфаллаксиса (Kostyuchenko, Kozin, 2021).

Наши данные показывают, что при воздействии на объекты фармакологическим агентом сразу после ампутации, не происходит формирования регенерационной почки. В этих условиях домены экспрессии некоторых исследованных нами генов, таких как *Avi-vasa*, *Avi-cdx* оказываются смещены в пределы прилежащего к ране сегмента. *Avi-post2*, пик экспрессии которого в норме наблюдается на стадии 1 день после ампутации (дпа) (Novikova et al., 2013), при ингибировании FGF в течение первых суток регенерации демонстрирует такой же паттерн экспрессии, как в контроле. Для генов *Avi-piwi*, *Avi-twist* мы наблюдали полное подавление экспрессии при ингибировании с 0 до 2 дпа. Однако мы установили, что в течение первых суток регенерации в нормальных условиях достаточно для появления и поддержания экспрессии *Avi-piwi* и *Avi-twist* даже при ингибировании FGF с 1 дпа до 2 дпа. При фармакологическом воздействии со стадии формирования бластемы (2 дпа) до ее дифференцировки (4 дпа) мы наблюдали уменьшение мезодермального домена экспрессии *Avi-twist*, который сохраняется только в терминальной части регенерационной почки. Сама почка при этом имеет заметные морфологические отклонения от нормы, в том числе недоразвитые нервные и мышечные элементы. Тем не менее, терминальные структуры обеих систем органов восстанавливаются, что не позволяет говорить о полном подавлении дифференцировки мезодермальных и нейроэктодермальных производных. Это согласуется с тем, что индукция транскрипции *Avi-cdx* происходит даже в условиях ингибирования FGF с 0 до 2 дпа, несмотря на отсутствующую в результате этого эксперимента регенерационную почку.

Таким образом, можно заключить, что FGF-сигналинг, скорее всего, не связан с процессами восстановления переднезадней оси в регенерирующей части животного. Однако этот путь межклеточной коммуникации имеет важное значение для репрограммирования и дифференцировки мезодермальных тканей. Полученные данные позволяют утверждать, что у *Alitta virens* FGF-сигналинг играет важную роль не только в индукции бластемы, но и в морфогенетических процессах, происходящих уже в сформированной регенерационной почке.

Работа выполнена при поддержке гранта № 23-74-10046 на базе УНБ «Беломорская» и РЦ «Микроскопии и микроанализа» СПбГУ.

**БЕЛОК ГЕЛЬЗОЛИНОВОГО СЕМЕЙСТВА В ТОНКИХ НИТЯХ
ГЛАДКОЙ МЫШЦЫ МИДИИ ГРЕЯ *CRENOMYTILUS GRAYANUS******Шевченко У. В.***

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток,
shevchenkouv15@gmail.com*

Двустворчатые моллюски известны своим уникальным способом защиты от хищников и от внешних неблагоприятных воздействий – они плотно смыкают створки раковин и удерживают их длительное время в таком состоянии. Данный феномен известен как catch-состояние (англ. catch – схватывать) или запирательный тонус (Twarog, 1976; Cohen, Castellani, 1988). Это состояние гладких мышц двустворчатых моллюсков было описано более ста лет назад (Parnas, 1910). Запирательный тонус проявляется в виде сохранения напряжения гладкой мускулатуры в течение длительного времени (часы, сутки) без затраты энергии АТФ в условиях состояния расслабления (Twarog, Muneoka, 1973; Ishii et al., 1989). Мы изучаем catch-состояние на примере работы сократительной модели, реконструированной из белков, выделенных из заднего мускула-замыкателя мидии Грея *Crenomytilus grayanus*. Данный мускул относится к типу гладких мышц и обладает выраженной способностью к catch.

В составе мышечных и немышечных клеток известны так называемые «белки концевых фактора», связывающиеся с актином и регулирующие сборку и управление полимерным актином. Они поддерживают популяцию готовых к сборке мономеров актина (профилин), образуют зародыши полимеризации актина (формин, Arp2/3 комплекс, гельзолин), регулируют состояние полимерного актина (АДФ/кофилин), а также разрезают и блокируют растущие концы актиновых филаментов (гельсолин, АДФ/кофилин). При помощи этих «концевых факторов» саркомерные белки в активно сокращающихся миофибриллах подвергаются постоянному динамическому обмену без ущерба для общей организации (Littlefield, Fowler, 2008; Sange, Sanger, 2008). Механизм регуляции длины тонких нитей до сих пор остается крупной нерешённой проблемой (см. обзоры Littlefield, Fowler, 1998, 2008).

В ходе хроматографической очистки (гель-фильтрация) глобулярного актина, полученного из запирательной мышцы мидии Грея, мы обратили внимание на необычное поведение нескольких

фракций из начала пика элюирования – вязкость этого актина была в разы меньше вязкости фракций актина из центральной части пика. Вязкость, измеряемая методом «падающего шарика», даёт нам качественную картину состояния белкового полимера: чем короче полимеры в растворе, тем меньше вязкость. Соответственно, полимеры актина в этих фракциях были гораздо короче полимеров из фракций основного пика элюирования. Мы предположили, что во фракции актина из начала хроматографии присутствует неизвестный компонент, влияющий на длину актинового полимера. Это предположение подтвердилось и при тестировании скорости полимеризации: вызвавшая наш интерес фракция актина полимеризовалась и достигала плато полимеризации гораздо быстрее актина из фракции центральной части пика. На основании чего мы предположили, что это некий белковый фактор, влияющий на зародышеобразование актинового полимера.

Чтобы визуально обнаружить неизвестную примесь на ДСН-электрофореze, мы сильно сконцентрировали пробы фракций хроматографии и обнаружили над зоной актина тонкую и ранее неизвестную нам белковую зону около ~48 кДа, содержание которой во фракциях уменьшалось по мере приближения к пику хроматограммы. Незначительное в сравнении с актином содержание неизвестного белка в препарате актина, сочетающееся с весьма значительным его эффектом на скорость полимеризации и на вязкость полимерного актина дополнительно указывает на то, что обнаруженный белок является белком концевго фактора и взаимодействует только с концевой частью, а не со всем полимером актина (как например тропомиозин).

Найденная нами белковая зона, вырезанная из геля после ДСН-электрофореze, использовалась в качестве материала для масс-спектрометрии. По ее результатам показано, что наш не идентифицированный белок имеет гомологию с гельзолином позвоночных. Суммируя уже известные особенности взаимодействия неизвестного белкового фактора с актином, мы предположили, что белок с молекулярной массой ~48 кДа из тонких нитей запирательной мышцы *C. grayanus* принадлежит к семейству гельзолинов.

Белки гельзолинового семейства разнообразны и широко представлены в животном мире, диапазон их молекулярной массы колеблется от 35 кДа до 180 кДа (Shalini et al., 2013). Гельзолины могут выполнять как кеппирование (+)-конца актина, так и разрезание актинового полимера (Ono, 2007). В клетках скелетных мышц и в изолированных миофибриллах гельзолиновые метки обнаруживались в области I-полос саркомера (Rouayrenc et al., 1984; Gonsior, Hinssen, 1995). При этом мышцы беспозвоночных, в отличие от позвоночных, содержат гельзолин в гораздо более высоких концентрациях, как это было показано для мышц ракообразных (Bock et al., 1994; Lück et al.,

1995). О присутствии гельзолина в мышцах двустворчатых моллюсков ранее не сообщалось. Проведенная нами идентификация данного белка и понимание его функций в гладкомышечных клетках двустворчатых моллюсков может оказаться важным для дальнейшего изучения механизма запирающего тонуса. Мы полагаем, что в мускуле-замыкателе сборка и разборка актиновых нитей может значительно влиять на catch-состояние. Так, от длины тонких нитей напрямую может зависеть развиваемое мышцей усилие, которое определяет силу смыкания створок раковины двустворчатого моллюска. В свою очередь, значение этой силы во время, или непосредственно после перехода к состоянию запирающего тонуса может быть напрямую связано с количеством и длиной вовлечённых в процесс сокращения тонких нитей.

Таким образом, в нашем исследовании феномена catch-механизма появился новый вопрос, связанный с выяснением роли регуляции актиновых полимеров и, соответственно, со значимостью длины тонких нитей сократительного домена в гладкой запирающей (catch) мышце двустворчатых моллюсков, ставящий новые задачи для дальнейших исследований.

РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ ERBB В ФОРМИРОВАНИИ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И ХРОМАФФИННЫХ КЛЕТОК *Danio rerio*

Широков М. П., Дячук В. А.

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток,
Shirokovm.99@gmail.com

Клетки нервного гребня (КНГ) – временная популяция мультипотентных стволовых клеток, способных к миграции на значительные расстояния (Eisen, Weston, 1993). КНГ дают начало различным дифференцированным клеткам, включая нейроны и глию периферической нервной системы (ПНС), а также меланоциты и клетки черепно-лицевых хрящей и костей (Le Douarin, Kalcheim, 2009). Одним из типов клеток, происходящих из КНГ, являются предшественники шванновских клеток (ПШК), которые, как показано, также способны дифференцироваться в разные типы клеток.

Среди широкого спектра биомоделей позвоночных одной из ключевых в биологии КНГ становится тропическая рыба *Danio rerio*. Причиной столь широкого использования *D. rerio* стало удобство работы с прозрачными личинками, возможность генетического моделирования процессов развития и фармакологические экспериментальные возможности объекта (Kimmel, 1989). Так, с помощью транскриптомов единичных клеток установлены профили экспрессии генов КНГ и ПШК (Fabian et al., 2022; Tatarakis et al., 2021). В дополнение к внутренним генетическим программам регулирования миграции и дифференциации, эти процессы регулируются и сигналами окружающей среды. Например, известно, что у мутантов *erbb2* и *erbb3* рецепторов отсутствуют некоторые типы сенсорных нейронов в спинальных ганглиях (Lyons et al., 2005).

Цель данного исследования – определить роль рецепторов ErbB 2/3 в формировании ПНС и хромаффинных клеток в раннем развитии *D. rerio*.

Мы использовали дикий тип *D. rerio* (разрешение от комиссии по биомедицинской этике № 5–260123). Для проведения исследования применяли иммуногистохимический метод и фармакологическое воздействие на личинок ингибиторами рецепторов *erbb 2/3*. Для анализа влияния рецепторов ErbB на формирование глии ПНС и хромаффинных клеток использовали эмбрионов и личинок *D. rerio* на стадиях развития 16 ч, 1 сут, 2 сут, 3 сут и 5 сут после оплодотворения. Количество ErbB-

рецепторов в двух группах личинок фармакологически уменьшали, используя низкомолекулярный необратимый ингибитор PD 168393 в концентрации 10 μ M, для которого ранее показано, что он приводит к аномальной пигментации и отсутствию сенсорных нейронов (Dooley et al., 2013), а также обратимый ингибитор AG-1478 в концентрации 100 nM. Анализ клеточных популяций глии в ПНС и хромаффинных клеток проводили на 10 сут после оплодотворения.

Обнаружено, что транскрипционный фактор PNOX2B является маркером незрелых нейронов и хромаффинных клеток в раннем развитии *D. rerio*.

Показано, что при воздействии ингибитором PD 168393 у личинок *D. rerio* на симпатических ганглиях количество SOX10⁺ глиальных клеток снизилось по сравнению с контрольной группой через 16 ч после оплодотворения на 57,7%, через 1 сут – на 76,9%, через 2 сут – на 73,08%, через 3 сут – на 69,23% и через 5 суток – на 23,8%. На аксонах спинальных ганглиев количества SOX10⁺ глиальных клеток по сравнению с контрольной группой снизилось на 71,3% через 16 ч после оплодотворения, через 1 сут – на 71,25%, через 2 сут на 70%, через 3 сут – на 57,5% и через 5 суток – на 12,5%. Снижение количества PNOX2B⁺/NuC/D⁻ хромаффинных клеток по сравнению с контрольной группой составило 20,69% через 16 ч после оплодотворения, через 1 сут – 51,72%, через 2 сут – 48,28%, через 3 сут – 27,59% и через 5 сут – 24,14%.

При воздействии ингибитором AG-1478 у личинок *D. rerio* на симпатических ганглиях количество SOX10⁺ глиальных клеток по сравнению с контрольной группой снизилось на 61,54% через 16 ч после оплодотворения, через 1 сут – на 73,08%, через 2 сут – на 57,69%, через 3 сут – на 53,85% и через 5 сут – на 26,92%. На аксонах спинальных ганглиев снижение количества SOX10⁺ глиальных клеток по сравнению с контрольной группой составило через 16 ч после оплодотворения 41,25%, через 1 сут – 45%, через 2 сут – 62,5%, через 3 сут – 30% и через 5 сут – 11,25%. Снижение количества PNOX2B⁺/NuC/D⁻ хромаффинных клеток по сравнению с контрольной группой составило 51,72% через 16 ч после оплодотворения, через 1 сут – 41,67%, через 2 сут – 58,62%, через 3 сут – 37,93% и через 5 суток – 31,03%.

Доказано снижение количества SOX-10 иммунопозитивных клеток глии в ПНС, а также PNOX2B⁺/NuC/D⁻ хромаффинных клеток *D. rerio* при воздействии фармакологическими ингибиторами рецепторов ErbB. На основе полученных данных сделано заключение о роли в раннем развитии *D. rerio* ErbB рецепторов в процессе дифференциации КНГ и ПШК в глиальные клетки в ПНС, а также в хромаффинные клетки почечной железы.

Исследование поддержано Российским научным фондом (грант № 22–14–00245).

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ И ИХ РОЛЬ В РЕГЕНЕРАЦИИ СТЕНКИ ТЕЛА ГОЛОТУРИИ *EUPENTACTA FRAUDATRIX*

Шульга А.П., Калачева Н.В., Долматов И.Ю.

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,
г. Владивосток, alena.lavruk@mail.ru*

Матриксные металлопротеиназы (ММП) – семейство внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, которые являются ключевыми белками в механизмах взаимодействия клетка – клетка и клетка – внеклеточный матрикс (ВКМ). Они участвуют в изменении структуры ВКМ, входят в состав сигнальных систем и влияют на дифференцировку, апоптоз и пролиферацию клеток. Эти белки играют важную роль в морфогенезе, а также восстановлении и ремоделировании тканей в ответ на повреждение. Показана их роль в неконтролируемом изменении соединительной ткани при метастазировании опухоли, а также при артритах и сердечно-сосудистых заболеваниях. Иглокожие способны восстанавливать наружные покровы тела и внутренние органы после различных повреждений и потому являются уникальными объектами для исследования ММП и их роли в изменении свойств ВКМ, миграции и трансдифференцировке клеток. Регенерация происходит за счет трансдифференцировки соматических клеток одних тканей в другие.

Голотурия *Eupentacta fraudatrix* способна восстанавливать продольные мышечные ленты (ПМЛ) после поперечного разрезания. Этот процесс протекает в три этапа: первый (1–5 сут после повреждения) – заполнение раны морулоцитами и амебоцитами, увеличение количества внеклеточного матрикса; второй этап (5–10 сут после повреждения) – активное начало миграции и трансдифференцировки клеток целомического эпителия и формирование ПМЛ; третий этап (20–40 сут после повреждения) – миграция и трансдифференцировка клеток целомического эпителия, рост и соединение концов ПМЛ.

Преыдущие исследования показали, что на ранних сроках после разрезания, на стадии заживления раны и подготовки тканей к регенерации, активируются высокомолекулярные протеиназы. В дальнейшем происходит экспрессия ММП с меньшей молекулярной массой. На поздних стадиях регенерации, в период дифференцировки и формирования утраченных структур, решающее значение имеет

экспрессия ММП-подобных белков с более низкими молекулярными массами.

Методом МАЛДИ масс-спектрометрии в гомогенатах тканей стенки тела и мышцы голотурии *E. fraudatrix* определено два белка ММП с молекулярной массой 47 кДа и 53 кДа. Первый – *ММП16-1* является фурин-активируемой протеиназой. Второй белок (*ММП16-2*) относится к группе архитипических ММП, у которых очень высокая идентичность, но у *ММП16-2* отсутствует активируемый фурином мотив $RX[K/R]R$.

Для определения роли этих белков в регенерации мышцы проводили анализ экспрессии генов на разных стадиях регенерации ПМЛ методом ПЦР в реальном времени. Исследования проводили на половозрелых особях голотурий *E. fraudatrix*. Повреждение наносили ножницами путем поперечного перерезания стенки тела и правого дорзального амбулакра. Животных фиксировали через 2, 3, 5, 7, 10 и 20 сут после повреждения, использовали по 5 животных на каждый срок. Для данных генов провели сравнительный анализ уровня экспрессии в регенерации относительно интактных животных (норма) (рис.1).

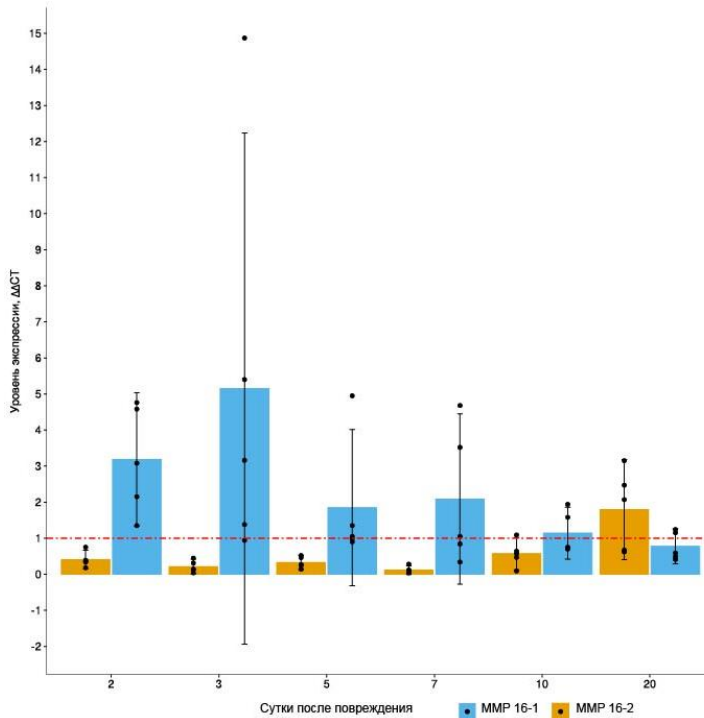


Рис.1. Изменение уровня экспрессии генов *ММП16-1* и *ММП16-2* при регенерации стенки тела после повреждения относительно интактных животных. Метод ΔΔСТ. Красной пунктирной линией отмечен уровень экспрессии интактных животных (норма).

Для *ММП16-1* показано увеличение транскриптов данного гена на 3 сут регенерации в среднем в 5,5 раза, затем происходит снижение экспрессии на 5–7 сут, и к 20 сут экспрессия приближается к норме. Для гена *ММП16-2* показано значительное снижение экспрессии относительно нормы к 7 сут регенерации, на 10 сут она стремится к норме, а на 20 сут регенерации экспрессия увеличивается в 2 раза.

На графике можно отметить животных, уровень экспрессии генов у которых значительно превосходит значение средней экспрессии, а также особей, у которых экспрессия остается в пределах нормы. Данный эффект мы можем объяснить разным физиологическим состоянием голотурий. Так для гена *ММП16-1* показано, что заживление раны после повреждения идет не равномерно, у части животных ген активен уже на 2–3 сут, а у других животных повышенная экспрессия продолжается и на 5–7 сут после нанесения раны.

Наши исследования подтверждают роль ММП, как белка участвующего в ремоделировании ВКМ. На первой и второй стадии регенерации ПМЛ мы видим повышение экспрессии *ММП16-1*, в это время происходят активные процессы перестройки ВКМ, увеличивается количество внеклеточного матрикса, который образует основу для миграции трансдифференцирующихся клеток целомического эпителия. В то время как экспрессия *ММП16-2* незначительна и повышается только к 20 сут, когда активны процессы прорастания мышц, нервов и амбулакров.

СЕРОТОНИН И FMRF-АМИД В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ЛИЧИНОК ПОЛИХЕТ РОДА *MARENZELLERIA* ИЗ ФИНСКОГО ЗАЛИВА

Шунькина К. В., Старунова З. И., Старунов В. В.

Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, wormslab@yandex.ru

Полихеты рода *Marenzelleria* – типичные обитатели Северной Атлантики, в Балтийском море впервые обнаружены в 80-х годах прошлого века, а в российских водах регулярно встречаются с 1996 г. (Максимов, 2010). Инвазия видов рода *Marenzelleria* в Финский залив оказалась очень успешной благодаря способности червей выдерживать низкие значения солености, что привело к формированию новых бентосных сообществ, где преобладающим видом являются маренцеллерии. На данный момент в Финском заливе обитают два вида: *M. arctica* и *M. neglecta* (Максимов, 2009, 2010), взрослые особи которых различаются по морфологическим признакам, а также по местам и глубине обитания. Данных о различии в сезонной динамике жизненных циклов у этих видов полихет нет.

Черви рода *Marenzelleria* являются перспективным объектом для изучения особенностей индивидуального развития и адаптации к распространению. В жизненном цикле эти виды имеют планктонную личинку, развитие которой происходит в зимний период. Сильное снижение солености или даже полное опреснение, по всей видимости, не останавливают развитие, а скорее всего только тормозят его.

Сбор личинок *Marenzelleria* spp. проводили на южном берегу Финского залива в сезон размножения ежегодно с 2019 г.. Так как определительные признаки известны только для взрослых особей (Sikorski, Bick, 2014), в сборах, скорее всего, присутствуют личинки обоих видов. В ходе исследования развития нервной системы у личинок *Marenzelleria* sp. для проведения сравнительного анализа использовали наиболее широко изученные нейротрансмиттеры – серотонин и FMRF-амид. Для изучения распределения нейромедиаторов в развитии нервной системы *Marenzelleria* spp. использовали методы иммуногистохимии с применением флуоресцентных красителей. Препараты изучали при помощи конфокального лазерного микроскопа Leica TCS SP5.

На стадии претрохофоры и трохофоры *Marenzelleria* spp. под прототрохом появляется первая пара серотонин- и FMRFамид-положительных нейронов. У нектохеты в эпифере начинает формироваться церебральный ганглий, от него отходят отростки, формирующие окологлоточное нервное кольцо, вдоль стенок тела видны парные нервные волокна будущей брюшной нервной цепочки. У 5-

сегментной личинки выявляются серотонин- и FMRF-амид-положительный нейропиль в области церебрального ганглия, сформированное окологлоточное нервное кольцо, а также нервы будущей брюшной нервной цепочки с несколькими парами крупных тел нейронов, расположенными в центральной части тела личинки. У 10–12-сегментной личинки уже присутствуют все основные отделы и элементы серотонин- и FMRF-амидергической нервной системы. Хорошо развит церебральный ганглий, брюшная нервная цепочка, ганглии туловищного мозга и периферические нервы. 18-сегментная личинка готова к оседанию и имеет для этого все структуры, характерные для взрослого червя.

Показано, что в развитии нервной системы существует последовательность появления нейротрансмиттеров. Первыми в развитии аннелид появляются серотонин и FMRF-амид, позже появляются другие медиаторы. Полученные данные по развитию нервной системы *Marenzelleria* spp. подтверждают эту закономерность, уже на стадии претрохофоры можно обнаружить первые серотонин- и FMRF-амид-положительные нейроны. Наше исследование в будущем будет продолжено с использованием других нейромедиаторов (например, гистамина и гамма-аминомасляной кислоты).

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Таксон» ЗИН РАН и при использовании коллекционных материалов Зоологического института РАН (Санкт-Петербург, Россия) в рамках темы госзадания № 122031100281-5.

**ОСОБЕННОСТИ РАЦИОНОВ КОРМЛЕНИЯ БЕЛУХ
DELPHINAPTERUS LEUCAS (PALLAS, 1776) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ
УСЛОВИЯХ СОДЕРЖАНИЯ**

Щербакова Е.А.¹, Мищенко П.В.¹, Суворова И.В.²

¹*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,*

Владивосток, nscmb@mail.ru

²*Центр океанографии и морской биологии «Москвариум», г. Москва,
science@moskvarium.ru*

Белуха *Delphinapterus leucas* (Monodontidae) является одним из самых популярных видов среди морских млекопитающих для содержания в дельфинариях и океанариумах. Вопрос организации полноценного и сбалансированного питания для животных, содержащихся в условиях неволи – один из самых важных.

Основными кормовыми объектами дальневосточной белухи являются: кета (*Oncorhynchus keta*), навага (*Eleginus gracilis*) и сельдь (*Clupea*), второстепенное место занимают: камбала (*Pleuronectes*), краснопёрка (*Tribolodon*), корюшка (*Hypomesus*), бычки (*Malacocottus*), горбуша (*Oncorhynchus gorbusha*), охотский сиг (*Coregonus*), бельдюга (*Zoarces*), представители морских собачек (*Parablennius*), минога (*Lampetra*), кунджа (*Salvelinus leucomaenis*), из ракообразных – песчаная креветка (*Crangon crangon*), морской таракан (*Saduria entomon*), рак Шренка (*Cambaroides*), и головоногие моллюски, в особенности кальмар (*Berryteuthis*).

Рацион может отличаться в зависимости от условий обитания, температурного режима, доступности кормовых объектов, а также может быть обусловлен возрастом, полом, репродуктивным статусом и физиологическим состоянием животного. Так же важно учитывать потребности организма каждой особи в основных питательных веществах. При составлении рационов питания для белух, содержащихся в искусственных условиях, необходимо учитывать все эти факторы, поскольку правильно подобранный кормовой рацион является основой качественного уровня жизни и благоприятного состояния животных.

Таким образом, целью данной работы было сравнить рационы кормления белух *Delphinapterus leucas* при содержании в разных океанариумах.

Были обработаны данные по рационам кормления белух из «Приморского океанариума» – филиала ННЦМБ ДВО РАН, где животных содержат как в стационарных условиях главного корпуса, так

и в открытом вольерном комплексе, а также из Центра океанографии и морской биологии «Москвариум», где белух содержат в постоянных условиях.

По результатам исследования было выявлено, что в рационах питания животных, содержащихся в «Приморском океанариуме» и «Москвариуме», присутствует неодинаковый видовой состав кормовых объектов. По данным за 2022 год, в рационах белух «Приморского океанариума», содержащихся в открытых морских вольерах, присутствуют 9 видов рыб и 1 моллюск. У белух, содержащихся в условиях главного корпуса – 8 видов рыбы и 1 моллюск. У белух, содержащихся в «Москвариуме», присутствуют 5 видов рыб и 1 моллюск.

В рационах белух вольерного комплекса «Приморского океанариума» преобладали: терпуг (*Pleurogrammus* sp.), сельдь (*Clupea pallasii*), горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*), корюшка (*Osmerus* sp.), кета (*Oncorhynchus keta*). В кормовом составе белух главного корпуса преобладали: терпуг (*Pleurogrammus* sp.), сельдь (*Clupea pallasii*), горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*), а также треска (*Gadus macrocephalu*), голец (*Salvelinus* sp.) и кальмар (*Berryteuthis magister*). В рационе белух «Москвариума» преобладали: сельдь (*Clupea pallasii*), горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*), салака (*Clupea harengus membras*), мойва (*Mallotus* sp.), голец (*Salvelinus* sp.) и кальмар (*Berryteuthis magister*).

Было выявлено, что сезонные изменения оказывают значительное влияние на рацион питания белух вольерного комплекса «Приморского океанариума». За всё время исследования отмечено наибольшее потребление корма животными в ноябре и в апреле. В августе и сентябре количество потреблённого корма составляет меньшую часть от годового рациона. Сезонность не оказывала влияния на рационы питания животных главного корпуса «Приморского океанариума» и «Москвариума». Белухи «Приморского океанариума», содержащиеся в главном корпусе, в год потребляют больше кг и ккал корма, чем белухи, содержащиеся в вольерном комплексе и в «Москвариуме». Установлена разница в рационах кормления самцов и самок. Так, самки белух вольерного комплекса съедают меньше кг и ккал корма, чем самка главного корпуса «Приморского океанариума», но почти в два раза больше самки, содержащейся в «Москвариуме». Самцы «Приморского океанариума» и самец «Москвариума», съедают больше, чем самки.

В результате анализа и обработки данных из разных океанариумов, был выявлен различный видовой состав кормовых объектов и индивидуальный подход по составлению рационов кормления для каждой особи, исходя из условий содержания и их физиологических особенностей.

(Тезисы приведены в авторской редакции)

ПЕЛАГИЧЕСКИЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ И ПЛОТНОСТЬ ОСЕДАНИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВИДОВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ В ПРИБРЕЖЬЕ ПРИМОРЬЯ

Щербакова Н. В.

*Тихоокеанский филиал Всероссийского научно-исследовательского
института рыбного хозяйства и океанографии (ТИНРО),
г. Владивосток,
natalya.shcherbakova@tinro-center.ru*

В Приморском крае основными объектами культивирования среди двустворчатых моллюсков являются приморский гребешок, тихоокеанская мидия и тихоокеанская устрица. В качестве посадочного материала используют в основном спат, собранный в природе на искусственные субстраты. Для того чтобы определить возможность сбора спата на участке марикультуры, необходимо оценить состояние воспроизводства вида. Одним из критериев оценки воспроизводства видов является плотность личинок в планктоне, которая обеспечивает пополнение популяций, а также плотность спата на коллекторах.

Исследования проводили в 2022 г. на двух участках юго-восточной части Амурского залива: у северо-западного побережья о-ва Русский и в прол. Старка, а также в б. Киевка. В каждом районе брали по 3 планктонные пробы. Пробы отбирали еженедельно с начала июня до конца августа, над глубиной до 20 м, тотально (от дна до поверхности) с помощью модифицированной сети Апштейна с диаметром входного отверстия 25 см. В момент проведения планктонной съемки на каждой станции измеряли температуру воды от поверхности до дна с помощью гидрологического зонда. Размер личинок определяли по длине их раковин с точностью до 25 мкм. Сроки начала оседания личинок определяли по времени появления великонхов поздних стадий (Куликова, Колотухина, 1989). Сбор спата приморского гребешка проводили в прол. Старка на стандартные для этого вида коллекторы – сетные мешки размером 30×40 см с наполнителем из полипропиленовой дели с ячейей 1 см. Коллекторы, собранные в гирлянды по 8 штук с интервалом в 1 м выставляли в июне до появления личинок поздних стадий. Плотность молоди определяли осенью, в октябре, в экз./коллектор. Для оценки размерного состава спата измеряли высоту его раковин с точностью до 1 мм.

Температура воды, благоприятная для нереста бореальных видов двустворчатых моллюсков, таких как приморский гребешок и тихоокеанская мидия составляет 8–10°C, в районах Амурского залива в

верхнем слое она превысила отметку 8°C во второй декаде мая, а в б. Киевка – в конце мая–начале июня, что способствовало началу нереста тихоокеанской мидии и приморского гребешка. Температура воды, благоприятная для нереста субтропическо-низкобореального вида, такого как тихоокеанская устрица, составляет 17–18°C, в исследованных районах Амурского залива она установилась в конце июня–начале июля.

По результатам планктонных исследований личинки приморского гребешка в районах Амурского залива встречались в течение всего июня (таблица 1), при температуре 11,1–18,3°C. Наиболее интенсивное их оседание началось в середине июня и завершилось к концу месяца. В б. Киевка личинки гребешка развивались при температуре 11,5–18,1°C, оседание личинок началось на две недели позднее и завершилось к концу второй декады июля. Личинки тихоокеанской мидии в районах Амурского залива встречались в июне и в июле при температуре 11,1–19,8°C. Оседание личинок закончилось к концу июля. В б. Киевка личинки тихоокеанской мидии единично отмечены с третьей декады июня по вторую декаду июля при температуре 11,8–19,2°C. Личинки тихоокеанской устрицы обнаружены только в районах Амурского залива при температуре 18,6–23,2°C. У северо-западного побережья о-ва Русский они появились в начале июля, а в прол. Старка – только во второй декаде июля. Оседание личинок устрицы завершилось к концу второй декады августа.

Таблица 1. Период встречаемости личинок двустворчатых моллюсков в планктоне, сроки начала их оседания и плотность в разных районах побережья Приморья в 2022 г.

| Район | Период встречаемости, декада/месяц | Начало оседания, декада/месяц | Максимальная плотность личинок на разных стадиях / на стадии оседания, экз./м ³ |
|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------|--|
| Приморский гребешок | | | |
| О-в Русский | I-III / 06 | I / 06 | 77/23 |
| Прол. Старка | I-III / 06 | I / 06 | 37/7 |
| Б. Киевка | II / 06 – II / 07 | II / 06 | 14/7 |
| Тихоокеанская мидия | | | |
| О-в Русский | I / 06 – III / 07 | I / 06 | 225/124 |
| Прол. Старка | I / 06 – III / 07 | I / 06 | 119/41 |
| Б. Киевка | II 06 – II / 07 | II / 06 | 10/5 |
| Тихоокеанская устрица | | | |
| О-в Русский | I / 07 – II / 08 | II / 07 | 51/22 |
| Прол. Старка | II / 07 – II / 08 | II / 07 | 23/11 |

Результаты обследования коллекторов в октябре 2022 г. в прол. Старка показали, что плотность молоди приморского гребешка изменялась от 72 до 698 экз./коллектор и в среднем составила 382 экз./коллектор. Высота створок молоди гребешка в коллекторах в проливе варьировала в пределах 5–17 мм, в среднем была довольно низкой – 6,2 мм (рисунок 1), в предыдущие годы средняя высота изменялась от 12,1 до 20,5 мм. Плотность молоди мидии в коллекторах изменялась от 1202 до 5067 экз./коллектор и в среднем составила 2629 экз./коллектор. Высота створок молоди мидии варьировала в пределах 5–25 мм и в среднем составила 8,7 мм.

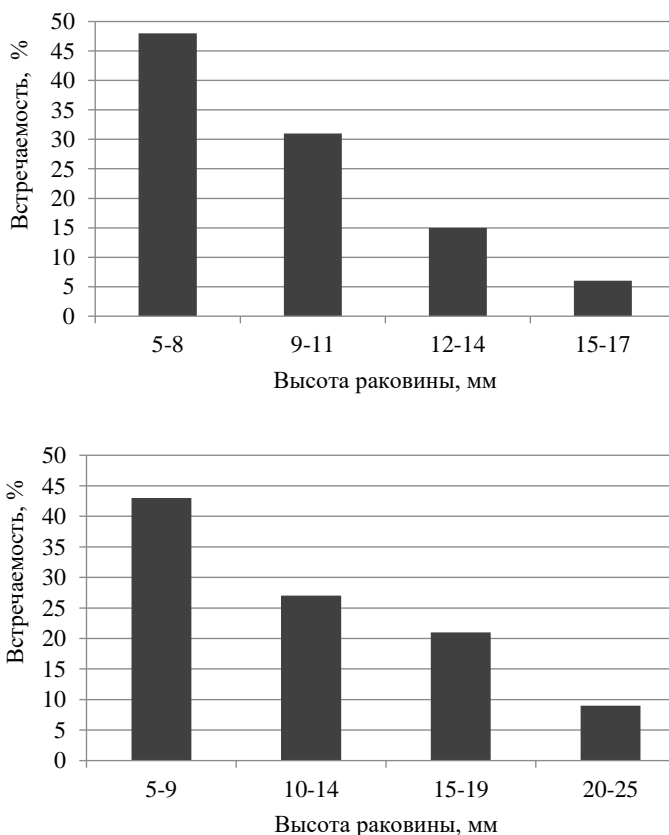


Рисунок 1. Размерная структура молоди приморского гребешка (слева) и тихоокеанской мидии (справа) в гребешковых коллекторах в проливе Старка осенью 2022 г.

Таким образом, в 2022 г. плотность личинок бореальных видов в районах исследований была не высокой по сравнению с предыдущими годами (Щербакова и др., 2019). Наибольшие значения плотности личинок тихоокеанской мидии и приморского гребешка отмечены у северо-западного побережья о-ва Русский, что обусловлено орографией

берегов, скоростью и направлением течений, наличием маточных поселений.

Численность личинок субтропическо-низкобореального вида, тихоокеанской устрицы, в 2022 г. также не была высокой. Плотность личинок устрицы на стадии оседания была относительно высокой (Ляшенко и др., 2019), хорошей выживаемости личинок способствовали устойчивые благоприятные значения температуры воды в период их развития в июле–августе. Оседание личинок тихоокеанской устрицы в Амурском заливе в 2022 г. происходило в июле–августе, а приморского гребешка и тихоокеанской мидии – в основном в июне.

В коллекторах причиной замедленного роста приморского гребешка в прол. Старка в 2022 г., скорее всего, стало обилие спата тихоокеанской мидии.

О «ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ ВРЕМЕНИ» В ЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ КАМБАЛОВЫХ РЫБ С РАЗНОЙ ЭКОЛОГИЕЙ ВОСПРОИЗВОДСТВА

Юсупов Р. Р.

*Институт биологических проблем Севера (ИБПС) ДВО РАН,
г. Магадан, ryusupov_mag@mail.ru*

Для полного прохождения периода эмбрионального развития гидробионтов требуется определенное количество тепловой энергии. В качестве одного из показателей продолжительности эмбриогенеза используют понятие «физиологического времени» (Зеленников, Кузнецова, 2002), которое определяется как сумма температуры воды за период инкубации икры в целом, или за время прохождения отдельных этапов или стадий эмбрионального развития и выражается в «градусоднях» или «градусо-часах». В пределах биологического оптимума диапазона температур для развития вида этот показатель является величиной более или менее стабильной.

Общий анализ эмбрионального развития достаточно полно изученных нами четырех видов камбал, нерестящихся в разные сезоны, позволил выявить не только видоспецифичность в длительности эмбриогенеза и количестве необходимого тепла для прохождения отдельных этапов и стадий, но и некоторые особенности надвидового уровня, характерные для этого процесса. Выяснено, что «холодолюбивые» северная палтусовидная и полярная камбалы, нерест и развитие которых происходит зимой, большей частью в период ледостава, и ранней весной, требуют для полного прохождения эмбриогенеза существенно большего количества тепла, чем «теплолюбивые» желтоперая и звездчатая, воспроизводство которых происходит в весенне-летний сезон. Для первой пары видов сумма тепла составляет соответственно 2147 и 2297 град/ч, тогда как во второй паре эта величина не превышает 1195 и 1330 град/ч. Для большей объективности оценки выявленных различий дополнительно привлечены данные из литературы по камбалам других видов, для которых возможно было рассчитать «физиологическое время». Результаты попарного сравнения 15 видов камбаловых рыб методом многомерного анализа независимых выборок (UPGA) представлены на рисунке 1а.

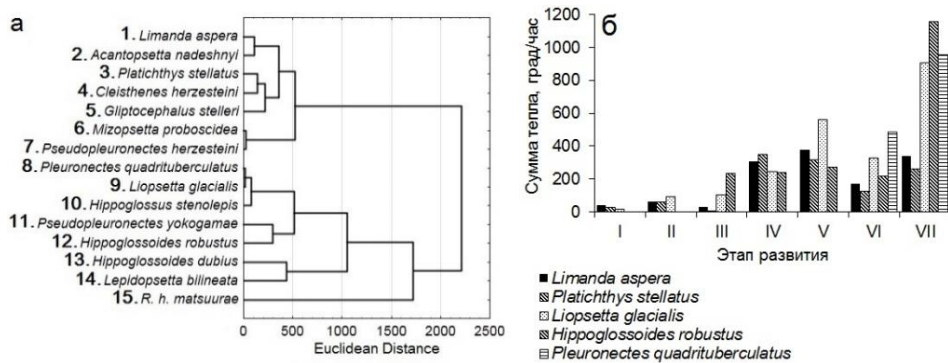


Рис. 1. Дендрограмма сходства по общей сумме принятого тепла (а) и гистограмма его распределения по этапам развития (б) у камбаловых рыб в эмбриональный период: 1, 3, 9, 12 – собственные данные; 2, 6 – по: Николотова, 1970; 4, 5, 7, 8, 11, 13, 14 – по; Перцева-Остроумова, 1961; 10 – по: Forester, Alderdice, 1973; 15 – по: Domingues-Petit et al., 2013.

По интересующему нас признаку все исследуемые виды четко дифференцируются в два крупных кластера. Первую группу (виды 1–7) образуют камбалы, нерест и эмбриональное развитие которых происходит в весенне-летний период при положительной температуре. У таких камбал для полного прохождения эмбрионального развития суммарная величина требуемого тепла составляет в среднем по всем видам 1190 град/ч. Во вторую группу (виды 8–15) входят камбалы с осенне-зимним размножением, воспроизводство которых в естественных условиях происходит при низкой положительной или отрицательной температуре воды, по большей части времени подо льдом. У камбал этих видов для полного завершения эмбриогенеза требуется в среднем 2190 град/ч.

Анализ эмбриогенеза 4 видов камбал по этапам развития показал, что основное различие в количестве принятого тепла у камбал с разной экологией нереста приходится на VII этап, в течение которого происходит закладка и развитие ряда важных дефинитивных органов (рис. 1б). Если для звездчатой и желтоперой камбал на этом этапе требуется соответственно 269 и 337 град/ч, то для полярной камбалы эта величина равняется 910, северной палтусовидной – 1158 град/ч. Для желтобрюхой камбалы, у которой удалось исследовать два последовательно завершающих этапа развития, сумма принятого тепла на VII этапе составила 960 град/ч.

Результаты исследований позволяют выдвинуть гипотезу о том, что у видов камбал, нерест и развитие которых происходит гидрологической зимой, значительное количество тепла, требуемого на завершающем этапе эмбриогенеза, можно принять как адаптацию к условиям среды на момент выхода предличинок из оболочки яиц. Она направлена на максимальное морфофункциональное развитие

эмбрионов и повышение выживаемости предличинок в условиях слабого развития фито- и зоопланктона гидрологической весной и, соответственно, низкой пищевой обеспеченности.

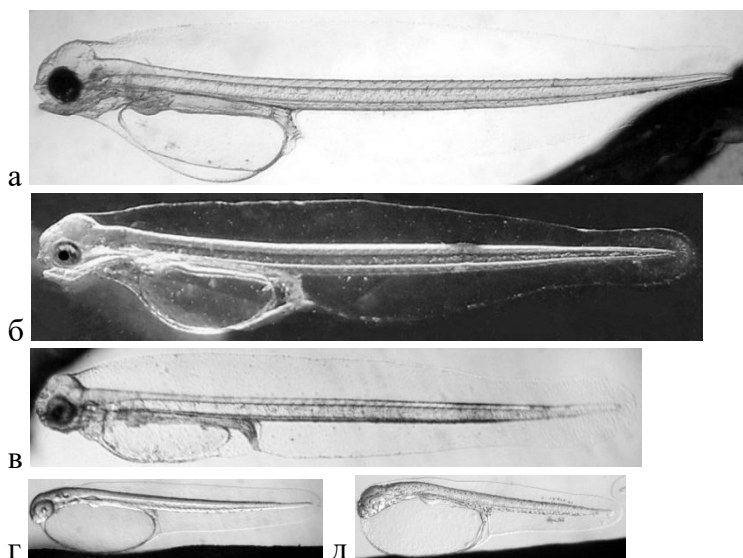


Рис. 2. Только что вылупившиеся предличинки камбал северной части Охотского моря: а – желтобрюхая, б – полярная, в – северная палтусовидная, г – желтоперая, д – звездчатая.

Только что вылупившиеся предличинки желтобрюхой, полярной и северной палтусовидной камбал крупнее, чем предличинки желтоперой и звездчатой. Они характеризуются высокой двигательной активностью и маневренностью благодаря подвижным грудным плавникам. У них сформирована подвижная нижняя челюсть, а дифференциация желудочно-кишечного тракта на отделы близка к дефинитивному состоянию. Подвижное состояние глаз позволяет предположить и наличие функции аккомодации. Таким образом, предличинки этих видов камбал, выйдя из из яйцевых оболочек, морфо-функционально уже готовы к быстрому переходу на внешнее питание.

НОВОСТИ МОРФОЛОГИИ НЕМАТОД: Фолликулярный оогенез и аутономия

Юшин В. В.¹, Клайс М.², Берт В.²

*¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
ДВО РАН,*

г. Владивосток, vvyushin@yandex.ru

*²Гентский университет, г. Гент, Бельгия, nini.claeys@ugent.be,
Wim.Bert@UGent.be*

Развитие изобретенной в 30-х годах XX века трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) обеспечило в 60-х годах прорыв в познании строения тканей и клеток, а в 70-х и 80-х стало основой золотого века микроскопической анатомии беспозвоночных. В эти годы сделаны основные ультраструктурные исследования и открытия в зоологии беспозвоночных. Итогом трёх десятилетий ТЭМ явилось уникальное двадцатитомное издание «Микроскопической анатомии беспозвоночных». Тем не менее, ТЭМ до сих пор остается востребованным методом в исследовании микроскопических объектов – субклеточных структур, бактерий, микроводорослей, протист, мужских гамет, эмбрионов и личинок, а также микроскопических многоклеточных, к которым относятся и нематоды.

По морским нематодам, составляющим важнейшую часть разнообразия этого типа животных, знания до сих пор на удивление ограничены. По вопросам ультраструктуры морских нематод по-прежнему следует обращаться к двум изданиям книги академика В.В. Малахова (1986 и 1994). Не удивительно, что изучение морских нематод с помощью ТЭМ до сих пор может приносить нестандартные новости. В сообщении кратко представлены ведущиеся в настоящее время исследования ультраструктуры морских нематод, связанные с их размножением и репарацией тканей.

Фолликулярный оогенез у морских свободноживущих нематод отряда *Monhysterida*. По сложившейся в мировой литературе терминологии, оогенез нематод определяют как солитарный, то есть не связанный ни с какими вспомогательными соматическими клетками – фолликулярными или питающими (*nurse cells*). У морских нематод ооциты растут, как правило, одиночно внутри простой эпителиальной или миоэпителиальной трубки, т.е. ооциты во время роста всегда находятся в контакте с эпителием яичника, через который они получают питательные вещества. Эпителий оказывается промежуточным звеном

при транспорте питательных веществ из кишечника через первичную полость к ооциту.

Фолликулярный оогенез распространён чрезвычайно широко, он известен у большинства беспозвоночных: Polychaeta, Copepoda, Insecta, Bryozoa, Brachiopoda, Hemichordata, Chaetognatha, Ascidiacea, Cephalochordata и в целом может рассматриваться как первичный способ взаимоотношений половых и соматических клеток Bilateria в целом. Такое положение ставит вопрос – может ли быть так, что у предков нематод ооциты также развивались в фолликулах, которые впоследствии были утрачены как морфологическое состояние. Для подтверждения этого следовало найти пресловутую «промежуточную группу», т.е. нематод, у которых в яичниках развиты отношения ооцит-эпителий по типу фолликула. И эта группа была найдена – свободноживущие морские нематоды из надсемейства Monhysteroidea. Исследования яичников нематод *Daptonema kornoense* (Monhysterida, Monhysteroidea, Hualidae) и *Diplolaimelloides meyli* (Monhysterida, Monhysteroidea, Monhysteridae) показало, что в них формируются настоящие фолликулы.

У этих видов рода женская гонада представлена единственным (передним) прямым яичником, в котором ооциты выстраиваются в идущую вдоль тела цепочку постепенно увеличивающихся в размерах клеток. Переход к вителлогенезу у *Daptonema kornoense* приводит к значительной перестройке поверхности ооцита и эпителия яичника. Эпителиальные клетки стенки образуют длинные тонкие выросты, проникающие между ооцитами так, что каждый из них оказывается полностью окруженным соматическими клетками, формирующими настоящий фолликул. Вокруг вителлогенного ооцита формируется широкое периооцитное пространство, которое пересекают многочисленные отростки ооцитов.

По одному исследованию *D. kornoense* было трудно судить, являются ли фолликулы особенностью морфологии яичников более высокого таксона морских нематод, нежели род. Для прояснения ситуации были исследованы яичники нематоды *D. meyli*, представителя другого семейства – Monhysteridae, у которой также были обнаружены фолликулы – каждый вителлогенный ооцит окружён отростками эпителиальных клеток яичника и находится в своём индивидуальном фолликуле.

С точки зрения морфологии никаких сомнений в определении оогенеза у монхистерид *Daptonema* и *Diplolaimelloides* как фолликулярного нет. У этих видов каждый вителлогенный ооцит находится в настоящем замкнутом фолликуле, образованном эпителиальными клетками яичника. При этом фолликулы обнаружены у представителей двух семейств, т.е. эта неожиданная для нематод морфологическая организация яичников может быть характерной для

всего надсемейства Monhysteroidea отряда Monhysterida. Можно предположить, что фолликулярный оогенез, древнейшая особенность билатерий, сохранился в этой группе морских нематод как отражение анцестрального состояния. Это тем более интересно, что согласно морфологическим и молекулярно-филогенетическим данным монхистериды иногда рассматриваются как базальная группа для всего класса нематод Chromadorea. Возможно, монхистериды, как «промежуточная группа», демонстрируют нам устройство яичников, которое было у предка всей этой ветви нематод.

Аутотомия у морских нематод. Нематоды, имеющие высоко детерминированное развитие, вплоть до эутелии, имеют весьма ограниченные возможности к регенерации. Регенерацию ограничивает и анатомия нематод, которые изолированы от внешней среды непроницаемой кутикулой, являющейся одновременно и внешним скелетом, при нарушении целостности которого животное погибает. В связи с этим у нематод и явление аутомии, отбрасывания части тела, хоть и известное, в том числе у *C. elegans*, но довольно редкое явление. Среди морских нематод род *Siphonolaimus* (Monhysterida, Siphonolaimoidea, Siphonolaimidae) давно известен тем, что у всех видов рода в популяции всегда присутствует очень большое количество особей, утративших заднюю часть тела с хвостовым концом, где ректумом и анусом оканчивается пищеварительный тракт. «Бесхвостые» животные с характерным закруглённым задним концом выглядят абсолютно жизнеспособными, у самок развиты яичники, в матках накапливаются оплодотворенные яйца, способные к развитию.

Объяснить большое количества «бесхвостых» животных в популяции можно способностью их к аутомии. Приступая к анализу этого явления, прежде всего, стоило сравнить строение нормального хвостового конца с его заросшим (зажившим?) аналогом. Восстанавливает ли *Siphonolaimus* сквозной пищеварительный тракт с ректумом и анусом для нормальной жизнедеятельности? ТЭМ исследования нормальных и предположительно аутомировавших самок на сериях продольных срезов показали, что, как и у обычных самок, у аутомоатов кишечная трубка соединена с вновь сформированным ректумом, открывающимся наружу анальным отверстием. Таким образом, у *Siphonolaimus* в эволюции развилась способность к заживлению раны в месте повреждения после аутомии или других событий (например, повреждение хищником). Теперь будет интересно выяснить, действительно ли эти нематоды способны к естественной аутомии, а затем изучить процесс аутомии и формирования нового заднего конца нематоды.

УЧАСТНИКИ ВЫСТАВКИ НАУЧНОГО ОБОРУДОВАНИЯ

ПАО ЦГРМ «Генетико» — один из крупнейших лабораторно-производственных комплексов на территории России, построенный по стандартам GLP. В состав ПАО ЦГРМ «Генетико» входит собственная медико-генетическая и биоинформатическая службы. Специалисты Центра — члены Российского общества медицинских генетиков и Европейского общества генетики человека, авторы публикаций в российских и зарубежных научных журналах. В 2017 году в составе Центра была открыта лаборатория высокопроизводительного секвенирования, на базе которой проводится секвенирование нового поколения (next generation sequencing, NGS), которое позволяет в больших масштабах определить последовательность как нескольких генов, так и всего генома с высокой точностью и скоростью. Проводимые в Центре исследования по секвенированию являются самыми быстрыми и доступными по стоимости. ПАО ЦГРМ «Генетико» сотрудничает с ведущими медицинскими центрами, научными лабораториями, образовательными учреждениями и научно-исследовательскими институтами.

Наши преимущества:

- Индивидуальный подход к каждому исследованию. Мы выполняем поставленные задачи, учитывая особенности вашего исследования. Предоставляем полный отчет о проведенной работе.
- Уникальный опыт исследований в области генетики — более 10 лет на рынке. Используем только высокотехнологичное оборудование и оригинальные реагенты.
- Лучшие сроки выполнения исследования. Наша лаборатория и специалисты находятся в Москве и не зависят от международных логистических цепочек.
- Высокий уровень безопасности полученных данных. Все данные проведенных исследований хранятся на защищённых серверах в России и не передаются в сторонние организации.

Компания ПАО ЦГРМ «Генетико» выполняет следующие услуги:

- Выделение ДНК, РНК
- Подготовка библиотек для высокопроизводительного секвенирования
- Секвенирование генома, экзона и транскриптомов
- Секвенирование единичных клеток
- Секвенирование готовых библиотек
- Секвенирование 16s рРНК
- Секвенирование по Сэнгеру
- Биоинформатический анализ и составление технических отчетов
- Сборка генома
- Оценка уровня метилирования
- Секвенирование метагенома.

ООО «ДальАналит» является ведущим поставщиком лабораторного оборудования и расходных материалов. Компания имеет крупнейший склад оборудования и расходных материалов на территории Дальнего Востока. В офисе компании расположена постоянно действующая выставка. Компания является представителем заводов производителей Китая и Южной Кореи. Главный партнер компании в Китае - Hunan Erus - ведущий поставщик лабораторного оборудования и расходных материалов в Китае. ООО «ДальАналит» является официальным представителем группы компаний «Лабконцепт» - крупнейшего поставщика оборудования на территории России, что позволяет поставлять аналитическое оборудование, включая ввод в эксплуатацию, гарантийное и постгарантийное обслуживание. Сервисная служба компании Лабконцепт находится во Владивостоке, что позволяет оперативно обслуживать поставляемое оборудование.

ООО «Группа компаний Лабконцепт» — официальный дистрибьютор ведущих мировых и российских производителей аналитического, испытательного, общелабораторного оборудования, мебели и расходных материалов. Собственные производственные площадки расположены в Санкт-Петербурге, на одной из них производится узловая сборка высокоэффективных жидкостных хроматографов под торговой маркой LicArt 62, на другой – полный цикл сборки лабораторной весоизмерительной техники, а также оборудования для пробоподготовки.

Преимущества компании:

- Аналитическая лаборатория, оснащенная современным оборудованием, позволяющая проводить полное тестирование приборов, оперативно работать с собственными и клиентскими методиками
- Собственное сборочное производство хроматографического оборудования и производство полного цикла высокоточного весоизмерительного оборудования, а также оборудования для пробоподготовки.
- Обучение персонала лабораторий заказчиков: начальное, углубленное, по индивидуальным программам, теоретическое и практическое.
- Возможности по доработке и адаптации приборов, в том числе сторонних производителей под специализированные задачи заказчиков.

Компания «SkyGen» – поставщик оборудования, реагентов и химреактивов для научно-исследовательских лабораторий.

Подбираем и доставляем необходимые материалы и оборудование для исследований в области молекулярной и клеточной биологии мировых life-science брендов с 2012 года. За это время нашими клиентами стали 3 000 лабораторий в России и странах СНГ.

Помогаем в запуске и настройке приборов, проводим поверку и калибровку общелабораторного оборудования и амплификаторов.

Наша научная поддержка – команда экспертов – молекулярные биологи, биотехнологи, биоинженеры, которые понимают процессы лабораторной диагностики изнутри и знают какие продукты подойдут в каждом конкретном случае. Мы напрямую сотрудничаем с исследовательскими институтами, геномными центрами и лабораториями России.

Мы первыми сделали доступными для ученых такие бренды, как NEB, Oxford Nanopore, 10X Genomics, Nimagen, Hanil Scientific.

В настоящее время мы поставляем оборудование более 50 брендов для исследований в области молекулярной и клеточной биологии, развиваем направление ветеринарии, клинико-лабораторной диагностики и фармации.

«SkyGen» – Вдохновляем на научные открытия!

Компания «Хеликон» – один из лидирующих поставщиков современного оборудования, реагентов, расходных материалов и сервисной поддержки в сфере геномики, протеомики, клеточных технологий, ветеринарии и пищевой безопасности, клинической диагностики, биофармы и криминалистики с 1997 года.

- Мы предлагаем вам не просто продукты и услуги, а надежное партнерство, профессиональную поддержку, бесплатное обучение, своевременную доставку и возможность попробовать, прежде чем купить. Партнерство с нами позволит реализовать ваши задачи с максимальным эффектом и минимальными затратами;
- Команда квалифицированных и опытных специалистов всегда рада помочь вам с выбором оптимального решения исходя из ваших потребностей, формированием персональных условий сотрудничества и своевременным информированием о появлении новинок и запуске интересных акций;
- На производственных площадках Компании Хеликон уже более 20 лет производятся камеры для электрофореза и вестерн-блоттинга, системы гель-документирования, трансиллюминаторы, а также различные виды лабораторных и магнитных штативов и колбодержателей, известных среди российских ученых благодаря оптимальному соотношению «цена-качество»;
- Долговременные и устойчивые связи с компаниями-производителями обеспечивают нам постоянное наличие широкого ассортимента товаров и оперативное появление новинок;
- Среди наших клиентов крупнейшие институты и научные центры страны, ведущие фармацевтические и биотехнологические компании, агропромышленные холдинги и бюро судебно-медицинской экспертизы.

Мы ценим долговременные и прочные отношения с нашими партнерами и предлагаем квалифицированную помощь и поддержку на всех этапах сотрудничества.

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
Всероссийской конференции
«Морская биология в 21 веке:
биология развития, молекулярная и клеточная биология,
биотехнология морских организмов»
(памяти академика Владимира Леонидовича Касьянова)

12–15 сентября 2023 г.
Владивосток, Россия

ABSTRACTS
of the All-Russian Conference
"Marine Biology in the 21st Century:
Developmental Biology, Molecular and Cell Biology,
Marine Biotechnology"
(in commemoration of the Academician Vladimir L. Kasyanov)

September 12–15, 2023
Vladivostok, Russia

Отпечатано с оригинал-макета, подготовленного в ННЦМБ ДВО РАН

Дизайн обложки М. А. Селиверстова
Подготовка оригинал-макета С. А. Тюрин

Отпечатано в типографии ООО «Рея»
690074, г. Владивосток, ул. Снеговая, 13



Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
«Национальный научный центр
морской биологии им. А.В. Жирмунского»
Дальневосточного отделения
Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН)

690041, Россия, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17,
тел.: 8 (423) 231 09 05
nscmb@mail.ru
www.imb.dvo.ru



«Приморский океанариум»
филиал ННЦМБ ДВО РАН

690922, Россия, г. Владивосток,
о. Русский, ул. Академика Касьянова, д.25
тел.: 8 (423) 223 94 22, +7 984 197 45 22
primocean@primocean.ru
www.primocean.ru