

Федеральный исследовательский центр
Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН

PONTUS EUXINUS
ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ XIII



ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2023

XIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием для молодых ученых по проблемам водных и наземных экосистем, посвященная 60-летию со дня преобразования Севастопольской биологической станции в ИнБЮМ

Материалы конференции

Севастополь, 9–14 октября 2023 г.

Севастополь
ФИЦ ИнБЮМ
2023

СПОСОБНОСТЬ К ИММУННОМУ ОТВЕТУ ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ, ЗАРАЖЕННОЙ СВЕРЛЯЩЕЙ ГУБКой

Лавриченко Д. С., Подольская М. С., Челебиева Э. С., Кладченко Е. С.

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН»,
г. Севастополь

Ключевые слова: гемоциты, клеточный состав гемолимфы, активные формы кислорода, фагоцитарная активность, сверлящая губка, тихоокеанская устрица.

Тихоокеанская устрица *Magallana gigas* (Thunberg, 1793) – один из наиболее распространенных промысловых видов моллюсков. *M. gigas* заменила многие локальные виды устриц на побережье Тихоокеанского и Атлантического бассейнов, благодаря своей устойчивости к вирусам [1]. Однако в последнее время участились случаи поражения моллюсков сверлящей губкой *Pione vastifica* (Hancock, 1849).

Сверлящие губки наносят серьезный урон по марикультурным хозяйствам, поскольку пораженные устрицы становятся более хрупкими и теряют товарный вид. *P. vastifica* является возбудителем биоэрозии; при контакте с моллюском она создает множественные визуально заметные отверстия и туннели на поверхности раковины [2]. Ранее были зарегистрированы случаи, что губка просверливала раковину полностью, а на жабрах находилась патогенная микрофлора [3]. Это является потенциальной угрозой для потребителя, поскольку устрицы принимаются в пищу сырыми, не проходя термическую обработку. Целью данной работы являлось изучение потенциального влияния сверлящей губки на маркеры иммунной системы (клеточный состав гемолимфы, способность к спонтанной продукции АФК и фагоцитарная активность) устриц.

В работе было исследовано 110 особей *M. gigas*: 26 здоровых и 84 зараженных *P. vastifica*. Здоровыми считались устрицы без визуально заметных следов бурения губкой. Гемолимфа отбиралась по стандартным протоколам [4]. Оценку функциональных параметров проводили на проточном цитометре MACSQuant (Miltenyi Biotec, Германия). Для анализа клеточного цикла и клеточного состава гемоцитов использовался ДНК-краситель SYBR Green I (SGI). При помощи красителя 2-7-дихлорфлуоресцеин-диацетат (DCF-DA) исследовалась способность гемоцитов к спонтанной продукции активных форм кислорода (АФК). Полученные данные анализировались с помощью программного обеспечения MACS Quantify Software 2.13. Для оценки фагоцитарной активности использовали флуоресцентные латексные частицы зимозана Phagocytosis Assay Kit (Green Zymosan) (США). Анализ проводился на флуоресцентном оптическом микроскопе Olympus CX43.

Клеточный состав здоровых и инфицированных моллюсков значительно различался ($p \leq 0,01$). Преобладающим типом клеток в гемолимфе здоровых устриц являлись гиалиноциты, составив $40,8 \pm 2,7 \%$, в то время как у зараженных особей - агранулоциты насчитывали $54,7 \pm 4,3 \%$. У зараженных моллюсков также отмечается меньшее содержание гранулоцитов, чем у здоровых – $15,8 \pm 2,8 \%$. Данная тенденция может быть обусловлена индукцией процесса миграции у зараженных сверлящей губкой устриц клеток гемолимфы к инфицированным участкам. Раковина у двустворчатых моллюсков является барьерной защитой, поэтому при ее повреждении может увеличиваться количество патогенной микрофлоры, что приводит к воспалительным процессам в организме моллюска.

Производство активных форм кислорода (АФК) в клетках устриц также значительно различалось у зараженных и здоровых особей. Наибольшее отличие наблюдалось в случае гранулоцитов, где уровень продукции АФК у инфицированных особей было

выше более чем в 2 раза по сравнению со здоровыми устрицами ($p \leq 0,01$). Такое повышение параметра может быть связано с функциональной ролью каждого типа клеток, а также свидетельствовать об активации иммунного ответа. Последнее также подтверждается результатами оценки фагоцитарной активности.

Фагоцитоз является основной защитной реакцией против чужеродных частиц, которая может быть ингибирована инфекционным агентом или являться ответом на проникновение паразитов. Агранулоциты как здоровых, так и зараженных устриц не проявляли фагоцитарную активность. Достоверный рост фагоцитарной активности был зарегистрирован в гранулоцитах и гиалиноцитах устриц, зараженных губкой ($p \leq 0,01$).

Таким образом, настоящее исследование продемонстрировало, что заражение *P. vastifica* сопровождается активацией иммунного ответа (продукция АФК, фагоцитарная активность). Мы также предполагаем, что изменение клеточного состава гемолимфы связано с инфильтрацией гемоцитов.

Работа выполнена в рамках гранта РФФ № 23-26-00019 «Сверлящая губка Черного моря: влияние на иммунную систему устриц и оценка эффективности метода гипосмотического шока для борьбы с ее распространением на марикультурной ферме».

Список литературы

1. Petton B., Destoumieux-Garzon D., Pernet F., Toulza E., De Lorgeril J., Degremont L., Mita G. The Pacific oyster mortality syndrome, a polymicrobial and multifactorial disease: state of knowledge and future directions // *Frontiers in Immunology*. 2021. Vol. 12. P. 630343. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.630343>
2. Mao Che L., Le Campion-Alsumard T., Boury-Esnault N., Payri C., Golubic S., Bézac C. Biodegradation of shells of the black pearl oyster, *Pinctada margaritifera* var. *cumingii*, by microborers and sponges of French Polynesia // *Marine Biology*. 1996. Vol. 126. P. 509–519. <https://doi.org/10.1007/BF00354633>
3. Watts J. C., Carroll J. M., Munroe D. M., Finelli C. M. Examination of the potential relationship between boring sponges and pea crabs and their effects on eastern oyster condition // *Diseases of Aquatic Organisms*. 2018. Vol. 130, no. 1. P. 25–36. <https://doi.org/10.3354/dao03257>
4. Andreyeva A. Y., Gostyukhina O. L., Kladchenko E. S., Vodiasova E. A., Chelebieva E. S. Acute hypoxic exposure: effect on hemocyte functional parameters and antioxidant potential in gills of the pacific oyster, *Crassostrea gigas* // *Marine Environmental Research*. 2021. Vol. 169. P. 105389. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105389>

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ *MAGALLANA GIGAS*, ВЫЗВАННЫЙ ПОРАЖЕНИЕМ СВЕРЛЯЩЕЙ ГУБКой *PIONE VASTIFICA*

Подольская М. С., Лавриченко Д. С., Гостюхина О. Л., Челебиева Э. С.,
Кладченко Е. С.

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН»,
г. Севастополь

Ключевые слова: устрица, гемолимфа, гемоциты, окислительный стресс, АФК, антиоксиданты.