

Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН

PONTUS EUXINUS  
ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ : XI



**ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2019**

XI Всероссийская научно-практическая конференция молодых учёных по проблемам водных экосистем,

посвященная памяти д.б.н., проф. С. Б. Гулина

*Материалы конференции*

Севастополь, 23–27 сентября 2019 г.

Севастополь  
ФИЦ ИнБЮМ

2019

относились к индифферентам, 10,4 % - к галофилам и 4,2 % - к галофобам. По отношению к рН среды к алкалифилам относилось 20,8 % водорослей, индифферентам - 13,9 %, ацидофилам - 3,5 %.

Большинство микроводорослей предпочитали стояче-текучие воды - 23,6 %. На группу водорослей, обитающих в стоячих водах, приходилось 4,2 %. Представителем текучих вод был всего один вид - *Gomphonema parvulum* Kütz.

Сапробиологический анализ фитопланктона показал, что на группу  $\beta$ -мезосапробов приходилось 40,0 %. На виды, предпочитающие чистые воды, в совокупности приходилось 31,6 %, загрязненные - 28,4 %.

Средний индекс сапробности по Пантле-Букк в весенний период составил 2,05, в летний - 1,85, что свидетельствует об умеренном загрязнении воды озера Долгое.

Таким образом, планктонная альгофлора озера Долгое в весенний период характеризовалась как динофитово-цианопрокарриотно-диатомово-хлорофитовая, в весенний - цианопрокарриотно-хлорофитово-диатомовая. Согласно эколого-географической характеристике, в озере доминировали широко распространенные, пресноводные, планктонные формы микроводорослей, предпочитающие слабощелочные стояче-текучие воды. Согласно сапробиологическому анализу воды озера Долгое относятся к III классу качества вод - умеренно загрязненные.

### Список литературы

1. Баринова С. С., Медведева А. Л., Анисимова О. В. Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель-Авив, 2006. 498 с.
2. Судницына Д. Н. Альгофлора водоемов Псковской области. Псков : ООО «ЛОГОС Плюс», 2012. 224 с.
3. Федоров, В Д. О методах изучения фитопланктона и его активности : [учеб. пособие]. Москва : Изд-во МГУ, 1979. 167 с.

### АНАЛИЗ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ГЕМОЦИТОВ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*, *CRASSOSTREA GIGAS* И *ANADARA KAGOSHIMENSIS*

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

Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН,  
г. Севастополь

*Ключевые слова: гемоциты, мидии, устрицы, анадара*

Рост и выживание моллюсков в марикультуре обусловлены влиянием множества факторов, среди которых наиболее значимыми являются отклонение от оптимума температуры воды, солёности и концентрации кислорода. У двустворчатых моллюсков физиологические реакции на факторы окружающей среды, антропогенные факторы и болезни опосредуются клетками, циркулирующими в гемолимфе - гемоцитами [1]. Гемоциты двустворчатых моллюсков участвуют в процессах восстановления раковины, транспорта питательных веществ и внутренних защитных реакций. Иммунная функция гемоцитов в настоящее время считается одной из наиболее важных для коммерчески культивируемых видов. Четкое понимание роли и функций гемоцитов у двустворчатых моллюсков требует их точной классификации, морфологической и физиологической характеристики. Существует множество публикаций по характеристике гемоцитов различных видов двустворчатых моллюсков. Однако различие, классификация и номенклатура клеток в гемолимфе моллюсков все еще является предметом обсуждения [2]

В настоящем исследовании гемоциты двух аквакультурных черноморских двустворчатых моллюсков *Mytilus galloprovincialis*, *Crassostrea gigas* и одного перспективного для аквакультуры вида *Anadara kagoshimensis*, охарактеризовали с помощью световой микроскопии и проточной цитометрии. Структура и морфология гемоцитов исследовалась по микрофотографиям. Функциональные параметры, включая уровень смертности, пролиферацию и спонтанную выработку АФК, исследовали методом проточной цитометрии.

Двустворчатые моллюски *A. kagoshimensis* отбирались в мае 2018 в прибрежной акватории г. Севастополь, мидии *M. galloprovincialis* и тихоокеанские устрицы *C. gigas* были получены с устрично-мидийной фермы (озеро Донузлав, Крым) в течение октября 2017 г. - ноября 2017 г. Гемолимфу отбирали стерильным шприцом из мускула-замыкалеля, трижды отмывали в стерильной морской воде. Микроскопическое исследование проводилось при помощи светового микроскопа (Biomed PR-2 Lum), оборудованного камерой (Levenhuk C NG Series). Диаметр клетки (без учета псевдоподий) и ядра измерялся в программе ImageJ 1.44 р. На каждом мазке подсчитывалось минимум 1000 клеток. Ядерно-плазматическое отношение (ЯПО) рассчитывалось исходя из отношения диаметра ядра к диаметру клетки. Уровень смертности, пролиферативная активность и спонтанная продукция активных форм кислорода (АФК) анализировались на проточном цитометре Beckman Coulter FC500 при помощи программы Flowing Software 5.2.

У мидий и анадары на основании по показателям прямого и бокового рассеяния два типа клеток с различным относительным размером и уровнем гранулярности - гранулярные и агранулярные. Микроскопическое исследование подтвердило наличие клеток с гранулами в цитоплазме и клеток без включений. У устриц были описаны три типа гемоцитов: агранулоциты, гиалиноциты и гранулоциты. Основным типом клеток гемолимфы у мидий и устриц были агранулярные клетки, составляющие  $78.4 \pm 8.9\%$  и  $86.7 \pm 2.7\%$  (агранулоциты и гиалиноциты), соответственно. У анадары преобладали гранулярные клетки  $85.85 \pm 2.79\%$ . Агранулоциты были наименьшим типом клеток мидий, устриц и анадары ( $8.0 \pm 0.1$  мкм;  $9.1 \pm 0,1$  мкм и  $7.8 \pm 0.8$  соответственно). У устриц и мидий они обладали округлой формой и крупными ядрами. У анадары агранулярные клетки были преимущественно эллиптической формы, хотя обнаруживались и амебоподобные округлые элементы. Гиалиноциты устриц были крупнее ( $9.7 \pm 0.2$  мкм) с эксцентрическими ядрами и неправильной формы. Гранулярные клетки всех видов содержали многочисленные эозинофильные, базофильные и смешанные гранулы и образовывали псевдоподии. На мазках гемолимфы анадары были идентифицированы клетки не содержащие гранул в цитоплазме. Данный тип клеток имел схожие с гранулярными клетками морфометрические характеристики (диаметр клетки -  $13.9 \pm 2.0$  мкм; диаметр ядра -  $8.9 \pm 1.3$  мкм), однако морфологически они существенно отличались. Цитоплазма имела эозинофильную окраску, сравнительно крупное ядро с высоким содержанием эухроматина располагалось преимущественно в центре клетки. ЯПО данного типа клеток в 1.9 раз превышал ЯПО гранулярных клеток. Однако, поскольку данные типы клеток нельзя разделить методами отличными от световой микроскопии, в настоящей работе они рассматриваются исключительно как подтипы гранулярных клеток.

Проточная цитометрия показала, что агранулярные гемоциты мидий и устриц продуцируют значительно меньше активных форм кислорода по сравнению с гранулоцитами. Последнее свидетельствует о том, что гранулярные клетки двустворчатых моллюсков, в частности мидий и устриц, в большей степени способны к продукции АФК в сравнении с агранулоцитами, а значит преимущественно участвуют в иммунном ответе. Интересно, что в исследовании гемолимфы анадары отсутствуют статистические различия в способности генерировать АФК между

идентифицированными морфотипами. Это, вероятно, свидетельствует о том, что гранулярные клетки анадары в равной степени с агранулярными участвуют в иммунном ответе. Аналогичный результат был получен в работе Dang C. et al. на виде *Anadara trapezia* (Deshayes, 1839) [3].

Таким образом, методом проточной цитометрии и световой микроскопии выделено два основных типа клеток гемолимфы *A. kagoshimensis* и *M. galloprovincialis* - гранулярные и агранулярные, а так же три типа у *C. gigas* - гранулоциты, агранулоциты и гиалиноциты.

Работа выполнена в рамках Госзадания (номер гос. регистрации № 0828-2018-0003).

#### Список литературы

1. Andreyeva A. Y., Efremova E. S., Kukhareva T. A. Morphological and functional characterization of hemocytes in cultivated mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and effect of hypoxia on hemocyte parameters // Fish & Shellfish Immunology. 2019. Vol. 89. P. 361–367. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.04.017>
2. Hine P. M. The inter-relationships of bivalve haemocytes // Fish & Shellfish Immunology. 1999. Vol. 9, iss. 5. С. 367–385. <https://doi.org/10.1006/fsim.1998.0205>
3. Dang C., Cribb T. H., Osborne G., Kawasaki M., Bedin A. S., Barnes A. C. Effect of a hemiuroid trematode on the hemocyte immune parameters of the cockle *Anadara trapezia* // Fish & Shellfish Immunology. 2013. Vol. 35, iss. 3. P. 951–956. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.07.010>

### ИЗУЧЕННОСТЬ ЗООПЛАНКТОНА ВОДОХРАНИЛИЩ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Климова Н.Б.

Уральский филиал ФГБНУ ВНИРО (УралВНИРО) г. Екатеринбург

*Ключевые слова:* гидробиология, исследования, водохранилища, зоопланктон

Территория Свердловской области принадлежит бассейнам семи основных рек, пересекающих границу области: Тавда, Тура, Пышма, Исеть, Чусовая, Уфа, Сытва. Неравномерность распределения речного стока по территории и во времени потребовала его регулирования путем создания водохранилищ. Отличительная особенность регулирования стока основных рек области - каскадное расположение водохранилищ, которых в настоящее время насчитывается более 413, большинство из них имеют площадь от 0,1 тыс. до 10 тыс. км<sup>2</sup> [1]. Первые водохранилища на Урале - это заводские пруды, вызванные к жизни горно-металлургическими предприятиями, которые берут свое начало с 1700 года [2]. Общая площадь уральских водохранилищ к началу XX в. составила 450 км<sup>2</sup>, максимальные глубины достигали от 4 до 16 м.

Современные водохранилища Свердловской области - преимущественно эвтрофные водоемы, либо интенсивно цветущие, либо зарастающие и заиляющиеся, с достаточно загрязненной водой, что обусловлено их возрастом, географическим положением, морфометрическими характеристиками и высокой антропогенной нагрузкой. Подавляющее большинство водохранилищ относится к объектам промышленного и условно сельского хозяйственно-бытового назначения и практически не исследованы с гидробиологической точки зрения.

Начало изучения зоопланктона в водохранилищах Свердловской области было заложено в 30-40-е гг. XX в. Г. В. Алешиным, Г. П. Померанцевым и З. Н. Берг. Ими впервые дана краткая характеристика зоопланктона водохранилищ Свердловского