



## ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2021

XII Всероссийская научно-практическая конференция молодых учёных с международным участием по проблемам водных экосистем, посвященная 150-летию Севастопольской биологической станции — ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»

Материалы конференции

Севастополь, 20–24 сентября 2021 г.

Севастополь ФИЦ ИнБЮМ 2021 региона, так и для Черноморского, второй представлен только в Чёрном море. Зависимость гаплотипов от рыб-хозяев не наблюдается.

Было предложено две гипотезы, объясняющие такую сильную дивергенцию. Первая предполагает, что эти две клады стоит рассматривать как один вид, который в силу изоляции бассейнов, а также особенностей оседлой жизни хозяев, имеет сложную генетическую внутривидовую структуру. Вторая гипотеза предполагает, что это криптические виды. В пользу этого предположения свидетельствуют исследования [2,3], где было показано, что для гиродактилидов генетическая изменчивость в 1% уже позволяет говорить о новом виде. Поэтому наиболее распространенная особь из Черного и Средиземного морей была описана как Gyrodactylus gerasevi n. sp., тогда как генетический кластер, объединяющий только особей из двух районов Крыма, был признан G. sphinx. Оба вида относятся к G. orecchiae—species group.

Работа выполнена в рамках темы № 121030100028-0 гос. задания ФИЦ ИнБЮМ.

#### Список литературы

- 1. Dmitrieva E., Piras M.C., Garippa G., Merella P. New host and locality records for Gyrodactylus Sphinx (Platyhelmintes: Monogenea) // Современные проблемы теоретической и морской паразитологии : сборник научных статей / под ред.: К. В. Галактионова, А. В. Гаевской. Севастополь : Изд-ль Бондаренко Н. Ю., 2016. С. 139—142.
- 2. Huyse T., Houdt J. V., Volckaert F. A. M. Paleoclimatic history and vicariant speciation in the "sand goby" group // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2004. Vol. 32, iss. 1. P. 324–336. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2003.11.007
- 3. Zietara M.S., Lumme J. The crossroads of molecular, typological and biological species concepts: two new species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae) // Systematic Parasitology. 2003. Vol. 55. P. 39–52. https://doi.org/10.1023/A:1023938415148

### МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОЦИТОВ ANADARA KAGOSHIMENSIS (TOKUNAGA, 1906) ПРИ ГИПЕРОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

#### Рычкова В. Н., Кухарева Т. А., Кладченко Е. С., Андреева А. Ю.

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

Ключевые слова: гемоциты, гиперосмотический стресс, морфометрия, Anadara kagoshimensis

Anadara kagoshimensis — это моллюск-вселенец в Черноморском регионе, который естественным образом распространен по всей территории Индийского и Тихого океанов. Функциональное состояние гемоцитов у двустворок семейства Arcidae исследовано в основном у океанических видов, устойчивых к высокой солености. Известно, что анадара толерантна к гиперсоленности, так при солености около 30 % моллюск показавает высокую скорость роста молоди и нерестовую активность. При увеличении солености и температуры отмечают у Anadara trapezia

снижение общей антиоксидантной способности, а у *Anadara granosa* — увеличение скорости инфильтрации и потребления кислорода. Но функциональное состояние гемоцитов анадары при гиперосмотическом стрессе никогда не исследовалось у черноморских моллюсков, которые привыкли к среде с пониженной соленостью.

Цель настоящей работы — исследовать в условиях эксперимента *in vivo* влияние гиперосмотической нагрузки на морфофункциональные характеристики клеток гемолимфы у двустворчатого моллюска-вселенца *A. kagoshimensis*.

Особей *А. kagoshimensis* собирали в июле 2020 года в прибрежной акватории г. Севастополь. Исследовано 30 экземпляров массой 17,6  $\pm$  1.9 г и высотой створки 30,5  $\pm$  1,0 мм. Для адаптации к лабораторным условиям моллюски находились в течение недели в емкостях с проточной морской водой из расчета 3 – 5 литра на особь (содержание кислорода – 6,77 мг/л; соленость 19,6 ‰). Контрольная группа содержалась при солености 19,6 ‰. Увеличение солености (до 35 ‰ и 45 ‰) осуществлялось путем добавления соли (the Red sea salt, France) со скоростью 0,8  $\pm$  0,2 ррт в час. Для удаления метаболитов вода в аквариумах менялась ежедневно с сохранением величин соленостей. Моллюсков кормили смесью микроводорослей.

Гемолимфу для анализа отбирали стерильным шприцом из экстрапаллиальной полости, затем трижды отмывали в морской воде в течение 5 минут (300g) и фильтровали через фильтр с диаметром ячейки 20 мкм. После отмывки одна часть концентрата клеток использовалась для приготовления мазков, а другая (50 мкл) – для измерения осмолярности на осмометре Astori OsmoSpecial 1. Окраска мазков проводилась по комбинированному методу Паппенгейма. Мазки анализировались при помощи светового микроскопа (Biomed PR-2 Lum), оборудованного камерой (Levenhuk C NG Series). В программе ImageJ 1.44 р по фотографиям измерялись большой и малый диаметры клеток (без учета псевдоподий) и их ядер. Для расчета площади поверхности  $(\bar{S_c})$  и объема  $(V_c)$  эритроцита использовались формулы, представленные в работе (Houchin, 1958). Толщина определялась по уравнению, предложенному Чижевским (Чижевский, 1959). Используя формулы объема и площади эллипсоида вращения (Ташкэ, 1980), были рассчитаны данные показатели для ядер эритроцитов. На основании полученных значений были определены удельные поверхности эритроцитов и их ядер. На каждом мазке подсчитывалось 1000 клеток.

Достоверность различий оценивали при помощи U-критерия Манна — Уитни. Результаты представлены в виде  $\overline{x} \pm SE$ .

На препаратах гемолимфы анадары идентифицировано 2 типа клеток: эритроциты и амебоциты; наиболее распространенным из которых был первый. Эритроциты представляли собой крупные клетки, большая и малая оси которых были  $16,15\pm0,11$  мкм и  $13,33\pm0,08$  мкм, соответственно. Цитоплазма имела светлые оттенки, в ней наблюдалось большое число базофильных гранулярных включений, количество которых колебалось от 14 до 30 единиц. Клетки были округлой формы (величина индекса  $C_1/C_2$  составляла  $1,222\pm0,007$ ) с небольшим ацентричным ядром, обладающим плотной структурой. Размеры ядра составляли 4,95±0,03 мкм и 3,68±0,03 мкм. Содержимое ядра компактное с высоко концентрированным хроматином, цвет резко базофильный, что свидетельствует низкой функциональной активности данной структуры. Также это подтверждает пониженное значение ядерно-плазматического отношения 0,085±0,001.

Гиперосмотическая нагрузка сопровождалась изменением линейных параметров эритроцитов и их ядер. Большая ось эритроцитов при 35 ‰ уменьшилась на 4 % (p<0,05), а при дальнейшем увеличении солёности до 45 ‰ она, наоборот, возросла на 10 % (p<0,05). Что касается малой оси клетки, то при 35 ‰ ее размер оставался на уровне контрольных значений (13,40±0,11 мкм), а при 45 ‰ – увеличился на 9 %

(p<0,05). Такие же тенденции отмечались и для размерных характеристик ядра эритроцита при изменении солености.

В условиях гиперосмотического стресса у анадары фиксировались изменения объемных характеристик клеток и их ядер. Так при 35 ‰ объем клетки снизился на 6 ‰ (p<0,05), а объем ядра оставался на уровне контрольных значений ( $36,25\pm0,652$  мкм³), а при 45 ‰ отмечалось увеличение объемов этих двух структур на 23 % (p<0,05) для гемоцитов и на 35 % (p<0,05) для их ядер. Что касается ядерноплазматического отношения, то его рост отмечался при 45 ‰ на 8 % (p<0,05).

Осмолярность гемолимфы анадары ( $493,42\pm4,54$  мОсм·кг<sup>-1</sup>) соответствовала осмолярности морской воды (470 мОсм·кг<sup>-1</sup>) и увеличивалась постепенно при гиперосмотических условиях. В ходе эксперимента значительная разница между уровнями осмолярности морской воды и гемолимфы не отмечалась. Осмолярность гемолимфы анадары, акклиматизированной к 35 ‰, составляла  $1188,51\pm3,48$  мОсм·кг<sup>-1</sup>, в то время как осмолярность морской воды 1202 мОсм·кг<sup>-1</sup>. При дальнейшем увеличении солености до 45 ‰ у моллюсков значения осмолярности гемолимфы находились в пределах от 1294 до 1314 мОсм·кг<sup>-1</sup>, а осмолярность морской воды, соленость которой была 45 ‰, была 1300 мОсм·кг<sup>-1</sup>.

Наиболее выраженными изменениями при гиперосмотическом стрессе были увеличение линейных и объёмных характеристик эритроцитов анадары. Это может свидетельствовать о том, что у гемоцитов вероятно имеется реакция регуляторного увеличения объема в условиях гиперосмотической нагрузки.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по Теме № 0556-2021-0003 «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом».

#### Список литературы:

- 1. Ташкэ К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию. Бухарест: Изд-во Академии Респ. Румынии, 1980. 291 с.
- 2. Чижевский А.Л. Структурный анализ движущейся крови. М.: Изд-во АН СССР, 1959.-474 с.
- 3. *Houchin D.N., Munn J.I., Parnell B.L.* A method for the measurement of red cell dimensions and calculation of mean corpuscular volume and surface area // Blood. 1958. 13. P. 1185-1191.

# СООБЩЕСТВА ФИТОФИЛЬНОГО ЗООПЛАНКТОНА Р. ПЕРЬИ (ЯРОСЛАВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

#### Сиротин А. Л.

ФГБОУ Костромской государственный университет, г. Кострома

Ключевые слова: фитофильный зоопланктон, макрофиты, р. Перья, биотоп

Организмы зоопланктона имеют важнейшее значение в функционировании гидроценозов. Для лотических экосистем наибольшее влияние сообщества гидробионтов оказывает фитофильный зоопланктон, зоопланктон плёсов, стариц и других рефугиумов с замедленным течением. Вместе с тем в современной литературе недостаточно сведений о структуре и функционировании сообществ фитофильного зоопланктона [1, 2].

Река Перья относится к Верхневолжскому бассейновому округу, протекает в Любимском районе Ярославской области и впадает в р. Кострому – приток р. Волги.