



ТРУДЫ
VI МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
**«МОРСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ОБРАЗОВАНИЕ:
MARESEDU-2017»**
30 октября - 2 ноября 2017 г.

УДК [551.46+574.5](063)

ББК 26.221я431+26.38я431+28.082.40я431

Т78

Труды VI Международной научно-практической конференции “Морские исследования и образование (MARESEDU-2017)” : [сборник]. - Тверь: ООО "ПолиПРЕСС", 2017. - 742 с.: ил., карты, схемы. ISBN 978-5-9500750-8-7

Сборник «Труды VI Международной научно-практической конференции “Морские исследования и образование (MARESEDU-2017)”» представляет собой книгу тезисов докладов участников конференции. Сборник состоит из глав, соответствующих секциям технической программы конференции: общая (пленарная), океанология, геофизические исследования на акваториях, морская геология, морская биология, рациональное природопользование, гидрология, англоязычная секция Marine Geology. Все тезисы представлены в редакции авторов.

В рамках конференции участники обсудили состояние и перспективы развития комплексных исследований Мирового океана, актуальные проблемы природопользования и сохранения биоразнообразия в водных пространствах, освоение ресурсов континентального шельфа, достижения науки и современные методы исследований акваторий, концепции и подходы в обучении морским наукам, традиционно широко были представлены самые свежие результаты научно-исследовательских морских экспедиций. Отличительная черта конференции и сборника - комплексность обсуждаемых исследований и значительное количество докладов, авторами которых были студенты различных вузов страны, принявшие активное участие в работе форума.

Подготовлено к выпуску издательством ООО "ПолиПРЕСС" по заказу ООО «Центр морских исследований МГУ имени М.В. Ломоносова».

ООО "ПолиПРЕСС".

170026, Россия, г. Тверь, Комсомольский пр-т, д.7

polypress@yandex.ru

ООО «Центр морских исследований МГУ имени М.В. Ломоносова».

Свидетельство о внесении записи в ЕГРЮЛ 77 № 017538482

от 19 июня 2014г.

119234. Москва, Ленинские горы, Научный парк МГУ, владение 1, стр. 77

(495) 930-85-52/ 930-80-58

Все права на издание принадлежат ООО «Центр морских исследований МГУ имени М.В. Ломоносова».

© ООО «Центр морских исследований МГУ имени М.В. Ломоносова»

© ООО "ПолиПРЕСС"

Уточнение списка фауны мшанок отделяющихся от Белого моря водоемов молекулярно-генетическими методами.

Радкевич Эмир Мустафович¹, Максимов Владислав Сергеевич¹, Васильева Елена Николаевна¹, Герасева Елизавета Павловна¹, Литвин Анна Валерьевна¹, Шагиев Айдар Халилович¹, Николаева Полина Андреевна¹, Джаврунова Екатерина Хонгоровна¹, Панова Вера Викторовна¹, Катанова Ольга Михайловна², Мардашова Мария Валерьевна³, Лапашина Анна Сергеевна¹, Неретина Татьяна Владимировна⁴

¹ Факультет Биотехнологии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова

² Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

³ ЦМИ МГУ им. М.В. Ломоносова

⁴ ББС МГУ им. Н.А. Перцова

Введение

В окрестностях Беломорской биостанции МГУ (Кандалакшский залив) расположено несколько водоемов на разных стадиях отделения от моря [Краснова и др., 2013], обладающих уникальным набором морской, солоноватоводной и континентальной фауны [Балабин и др., 2014]. Зачастую подобные водоемы служат своеобразными рефугиумами для реликтовой арктической фауны [Наумов, 2006] или создают уникальные условия для поселения редкой для региона биоты [Краснова, Пантюлин, 2013]. На каменистой протоке двух таких водоемов – озера Кисло-Сладкого, частично соединенного с морем, и соленой лагуны на Зеленом Мысу – обнаружены необычные для района мшанки: нетипичный представитель *Electra crustulenta* var. *balthica* (Cheilosomatida: Membraniporoidea), ранее не отмечаемый в ближайших окрестностях ББС МГУ, и мшанка, которая по классическим определителям идентифицируется как обычная для региона *Bowerbankia caudata* (= *Amathia gracilis*) (Ctenostomatida: Vesiculariidae), по месту обитания и фенотипически отличная от других известных популяций [Клюге, 1962; Гостиловская, 1978].

Для представителей рода *Electra* характерна высокая изменчивость морфологических признаков, и не всегда фенотипические параметры, несмотря на их обилие и разнообразие, позволяют судить о филогенетических связях [Nikulina, Schaefer, 2007]. В частности, эврибионтная форма *Electra crustulenta* отличается высокой вариабельностью общепринятых определительных признаков в зависимости от условий обитания [Гостиловская, 1978]. В семействе Vesiculariidae и в роде *Bowerbankia* в частности недавно произошла ревизия таксонов с использованием молекулярных методов [Waeschenbach et al., 2015], что несколько осложняет сравнение материалов из разных регионов, особенно собранных до и после ревизии. В настоящее время уточнение видовых списков требует сочетания морфологических и молекулярных подходов к идентификации образцов.

Для установления систематического положения найденных мшанок среди родственных форм, собранных в окрестностях ББС МГУ и имеющих в генбанке NCBI представителей мировой фауны мы привлекли молекулярно-генетические методы. В рамках студенческой практики факультета биотехнологии и биоинформатики МГУ по молекулярной биологии выполнена молекулярная часть работы и анализ полученных последовательностей биоинформатическими средствами.

Материалы и методы

Мшанки были собраны в течение лета 2016 и 2017 гг. на сублиторали Еремеевского порога (N 66.552016, E 33.115946), на пороге Кисло-Сладкого озера (N 66.548240, E 33.137759) и лагуны на Зеленом Мысу (N 66.530940, E 33.093486; рис. 1). Образцы колоний фиксировали 96% этанолом. Часть колоний содержалась в лаборатории в проточной воде от недели до нескольких месяцев перед фиксации.



Рис. 1. Места сбора мшанок в окрестностях Киндо-полуострова. Красной точкой отмечено типичное морское местообитание, желтыми – протоки отделяющихся водоемов.

Экстракцию ДНК проводили с использованием специального набора Diatom™ DNA Prep (IsoGene, Москва, Россия). Выделенную ДНК использовали в качестве матрицы для амплификации фрагментов митохондриальных генов цитохромксидазной субъединицы 1 (CO1) и 16S рРНК, ядерных генов 18S рРНК (3 фрагмента). Полимеразные цепные реакции (ПЦР) проводили с помощью PCR ScreenMix-HS (Evrogen, Москва, Россия). Были установлены следующие параметры амплификации: начальная денатурация и активация полимеразы в течение 5 мин при 95°C, затем 40 циклов, состоящих из трех стадий: 15 сек при 95°C, 30 сек при температуре отжига, различной для каждого гена (Таблица 1) и 1 мин при 72°C. После завершения всех циклов проводилось окончательное удлинение в течение 5 мин при 72°C. Далее продукты охлаждались при температуре 4°C. ПЦР продукты очищали этанольной преципитацией (ацетат аммония 0.125 M, раствор 70% этанола).

Таблица 1. Температуры отжига и длины исследуемых фрагментов.

Ген	Температура отжига (°C)	Длина фрагмента (нукл.)
CO1	~ 47	~ 700
16S	~ 60	~ 500
28S	~ 52	~ 400
18S (I)	~ 49	~ 700
18S (II)	~ 49	~ 600
18S (III)	~ 52	~ 800

Реакции секвенирования ДНК проводили с помощью набора для секвенирования BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Perkin-Elmer Corporation, Foster City, CA). Секвенирование выполнялось устройством ABI Prism 3500 sequencer (Applied Biosystems, Perkin-Elmer Corporation, Foster City, CA).

Чистка и сборка ридов проводились с помощью программы Codon Code Aligner 6.0.2 (Codon Code Corporation, Centerville, Massachusetts). Искали гомологи полученных нуклеотидных последовательностей генов с помощью сервиса BLASTn [Altschul et al., 1990]. Выравнивание секвенированных последовательностей с гомологами из GeneBank проводили алгоритмом MUSCLE with default [Edgar, 2004]. Построение филогенетических деревьев проводилось программой MEGA методом Neighbor-Joining с 100 бутстреп тестами.

Результаты

Анализ последовательностей всех трех генов дает одинаковую картину. *Electra crustulenta* var. *balthica* с порогов двух отделяющихся водоемов идентичны и в действительности совпадает с образцами *E. crustulenta* из генбанка. *B. caudata* из проток отделяющихся водоемов полностью идентичны и отличаются от всех прочих представителей рода из типичного морского местообитания и имеющих в генбанке последовательностей этого вида (рис. 2).

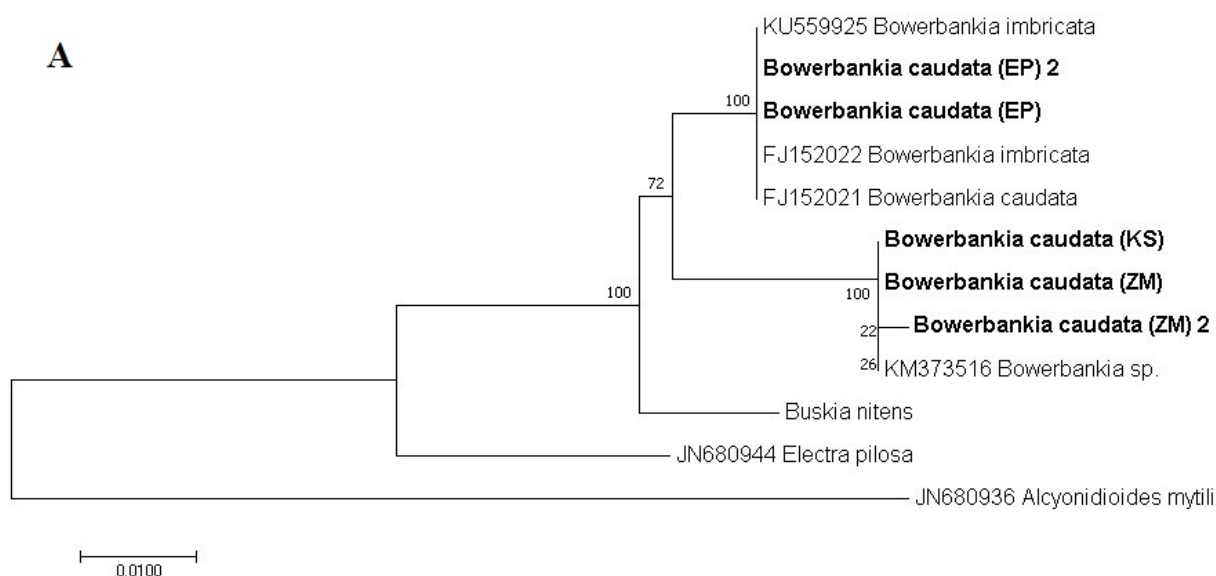


Рис. 2. Молекулярно-генетический анализ новых последовательностей 18S. Neighbor-Joining анализ с 100 бутстреп тестами. Аутгруппами во всех тестах были представители из родов *Electra* и *Alcyonidioides*. Жирным выделены изучаемые объекты. EP = Еремеевский порог, KS = Кисло-Сладкое озеро, ZM = лагуна на Зеленом мысу. *B. caudata* из отделяющихся водоемов полностью идентичны и отличаются от всех прочих представителей рода из типичного морского местообитания и имеющих в генбанке последовательностей этого вида.

Закключение

По нуклеотидным последовательностям колонии нетипичной *Electra crustulenta* var. *balthica* из двух местообитаний – с порога Кисло-Сладкого озера и с порога лагуны на Зеленом мысу оказались идентичными и соответствуют имеющимся в генбанке последовательностям *Electra crustulenta*.

Bowerbankia caudata с этих двух порогов также совпали по нуклеотидным последовательностям и отличаются от всех прочих *B. caudata*, и *B. imbricata* не менее, чем на видовом уровне. Таким образом, исследованная везикуляриида является новым для окрестностей ББС МГУ видом и требует дальнейшего сравнения с материалом мировой фауны.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 15-29-02447 и 16-05-00548а.

Список литературы

Балабин, Ф.А., Карпычев, В.В., Мардашова, М.В., Меньшенина, Л.Л., Краснова, Е.Д. Смена бентосных сообществ в эстуарии ручья, вытекающего из Нижнего Ершовского озера // Материалы III Международной молодежной научно-практической конференции "Морские исследования и образование" (Москва, 22-24 октября 2014 г.). – Москва, 2014. – С. 137–141.

Гостиловская М.Г. Определитель мшанок Белого моря – Л.: Наука, 1978. – 248 с.

Клюге Г.А. Мшанки северных морей СССР. Определители по фауне. – Т. 76. М.–Л., 1962. – 584 с.

Краснова Е.Д., Пантюлин А. Н. Кисло-сладкие озера, полные чудес // Природа, 2013. – № 2. – С. 39–48.

Краснова Е.Д., Пантюлин А.Н., Рогатых Т.А., Воронов Д.А. Инвентаризация отделяющихся от моря водоемов на Карельском берегу Белого моря // Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря. – Петрозаводск, 2013. – С. 164–167.

Наумов А.Д. Двустворчатые моллюски Белого моря. Опыт эколого-фаунистического анализа. – СПб., 2006. – 367 с.

Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W. Lipman, D.J. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol., 1990. – V. 215. – P. 403–410.

Edgar R.C. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity // BMC Bioinformatics, 2004. – V. 5. – P. 113.

Nikulina E.A., Schaefer P. An evaluation of the monophyly of the genus *Electra* Lamouroux, 1916 (Bryozoa, Cheilostomata) with phylogenetic analyses of ribosomal genes // Bryozoan Studies 2007: Proceedings of the 14th International Bryozoology Conference, Boone, North Carolina, July 1-8, Virginia Museum of Natural History, 2007. – P. 177–185.

Waeschenbach A., Vieira L.M., Reverter-Gil O., Souto-Derungs J., Nascimento K. B., Fehlaue-Ale K.H. A phylogeny of Vesiculariidae (Bryozoa, Ctenostomata) supports synonymization of three genera and reveals possible cryptic diversity // Zoologica Scripta, 2015. – V. 44(6). – P. 667–683.