

на правах рукописи

КАПРАНОВА Лариса Леонидовна

**ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДВУСТВОРЧАТОГО
МОЛЛЮСКА *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAMARCK, 1819
В ПЕРИОД РАЗМНОЖЕНИЯ**

1.5.16. Гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Севастополь – 2022

Работа выполнена в отделе аквакультуры и морской фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН» (ФИЦ ИнБЮМ), г. Севастополь

Научный руководитель:

Рябушко Виталий Иванович — доктор биологических наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник отдела аквакультуры и морской фармакологии ФИЦ ИнБЮМ, г. Севастополь.

Научный консультант:

Нехорошев Михаил Валентинович — кандидат химических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник Отдела аквакультуры и морской фармакологии ФИЦ ИнБЮМ, г. Севастополь.

Официальные оппоненты:

Волкова Ирина Владимировна — доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гидробиологии и общей экологии ФГОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет», г. Астрахань.

Жукова Наталья Владимировна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории сравнительной биохимии ИБМ «Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН», г. Владивосток.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН», п. Борок, Ярославская обл.

Защита состоится «16» июня 2022 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.221.01 при ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН» по адресу: 299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2. e-mail: dissovet@ibss-ras.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФИЦ Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН по адресу: 299011, РФ, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2, или на сайте: <https://ibss-ras.ru/science/dissertation-council-24-1-221-01/announcement/1660/>

Автореферат разослан «__»_____2022 г.

Учёный секретарь диссертационного совета 24.1.221.01,

кандидат биологических наук

Наталья Валериевна Поспелова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В условиях развития конхиокультуры комплексные исследования выращиваемых моллюсков, в т. ч. изучение процессов роста и репродукции с применением разнообразных эколого-биохимических показателей, являются важной задачей гидробиологии, морской биохимии и биотехнологии (Benniona, 2019). При изучении размножения двустворчатых моллюсков необходимо, в первую очередь, учитывать состояние гонад на разных стадиях репродуктивного цикла. Тестостерон, эстрадиол, жирные кислоты макро- и микроэлементы, в частности селен (Se) и цинк (Zn), обладая высокой физиологической активностью, принимают непосредственное участие в размножении моллюсков (Lowe et al., 1979; Falchuk et al., 2001; Ahsan et al., 2014). Исследование содержания этих веществ в гонадах на разных стадиях репродуктивного цикла и в половых продуктах (ПП) мидий является одним из важных направлений биохимических исследований. При изучении экологической составляющей процесса размножения необходимо принимать во внимание механизмы взаимоотношения моллюсков и среды обитания, например, влияние хлорорганических соединений (ХОС) на состав жирных кислот (ЖК-состав) мидий, способных аккумулировать гидрофобные ХОС (Stange et al., 1994; Perugini et al., 2004), а также конъюгировать стероидные гормоны (Scott, 2018). Накопление ХОС в гонадах мидий на разных стадиях репродуктивного цикла и влияние ХОС на ЖК-состав личинок (трохофор) до настоящего времени не были исследованы. Недостаточная изученность эколого-биохимических аспектов размножения мидии *M. galloprovincialis*, обитающей в Чёрном море, с учетом влияния факторов загрязнения окружающей среды определяет актуальность диссертационной работы. Полученные данные также представляют практический интерес для совершенствования биотехнологии воспроизводства морских гидробионтов и получения функциональных продуктов на их основе.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время имеются данные о содержании стероидных гормонов в тканях самцов и самок мидий в зависимости от сезона года (Janer, 2006). Ряд работ посвящен изучению ЖК-состава моллюсков (Besnard et al., 1989; Conquer et al., 1999; Berge, Barnathan, 2005; Dridi et al., 2007). Однако до сих пор не определено содержание половых гормонов в гонадах мидий на разных стадиях репродуктивного цикла и в ПП. Отсутствует информация о ЖК-составе личинок и сперматозоидов мидий, а также о динамике содержания ЖК в гонадах в зависимости от стадии репродуктивного цикла. Не установлено влияние ХОС на ЖК-состав. Отсутствуют сведения о накоплении макро- и микроэлементов в гонадах мидий, отличающихся по цвету раковин, на протяжении репродуктивного цикла,

включая ПП и личинки. Не рассмотрены процессы экскреции биологически активных веществ (БАВ) и микроэлементов вместе с ПП. Также не разработаны технологии получения функциональных продуктов на основе гонад и ПП мидии *M. galloprovincialis*.

Цель работы — изучение эколого-биохимических характеристик мидии *M. galloprovincialis* из Чёрного моря в период размножения в природных условиях и при загрязненности ХОС. Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить концентрации общего тестостерона и эстрадиола в гонадах, яйцеклетках и сперматозоидах мидий на разных стадиях репродуктивного цикла;
2. Исследовать состав жирных кислот и динамику изменения их концентраций в зависимости от стадии репродуктивного цикла в гонадах, ПП и личинках (трохофорах) мидий;
3. Оценить степень аккумуляции ХОС в гонадах и ПП мидий, а также установить влияние ХОС на ЖК-состав трохофор;
4. Определить концентрации макро- и микроэлементов в гонадах, и личинках мидий с черной и коричневой окраской раковин;
5. Рассчитать экскрецию тестостерона, эстрадиола, Se и Zn культивируемыми мидиями;
6. Разработать новые технологии получения биологически активных веществ из мидии и продуктов на их основе.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование содержания тестостерона, эстрадиола, ЖК, макро- и микроэлементов в гонадах на разных стадиях репродуктивного цикла, в ПП и личинках мидии *M. galloprovincialis*. Показано, что содержание стероидных гормонов в моллюсках зависит от их половой принадлежности, стадии репродуктивного цикла и соответствует сезонному циклу размножения. Максимальная концентрация тестостерона обнаружена в сперматозоидах, эстрадиола — в гонадах самок на 3 стадии репродуктивного цикла. Состав ЖК гонад также зависит от стадии репродуктивного цикла мидий. МНЖК и ПНЖК преобладают в гонадах самцов и в ПП. В сперматозоидах их суммарное содержание выше, чем в гонадах самок и яйцеклетках. Относительное содержание НЖК в яйцеклетках выше, чем в сперматозоидах, а в гонадах самок выше, чем у самцов. Впервые определено влияние нереста мидий на изменение уровня загрязненности ХОС гонад и ПП. В гонадах коллекторных мидий, яйцеклетках и сперматозоидах обнаружены пять конгенов ПХБ, ДДТ и его метаболитов. Вымет половых продуктов уменьшает содержание ХОС в гонадах вследствие передачи ХОС в яйцеклетки и сперматозоиды, и с ними — в морскую среду. ЖК-состав личинок мидий в значительной мере зависит от степени загрязненности среды их обитания ПХБ.

Различия в элементном составе коричневой и черной цветовых морф мидий наиболее заметны в ПП и трохофорах. Тестостерон, эстрадиол, ЖК, макро- и микроэлементы экскретируются во время нереста в водную среду вместе с половыми продуктами.

Теоретическая значимость. Теоретическая значимость работы заключается в исследовании динамики концентраций стероидных гормонов и жирных кислот в гонадах, яйцеклетках и сперматозоидах мидий, что говорит о необходимости потребления моллюсками из окружающей среды не только жирных кислот, но и стероидных гормонов. В результате проделанной работы была показана связь между содержанием жирных кислот, половых стероидов и микроэлементов в гонадах (в зависимости от стадии репродуктивного цикла), яйцеклетках и сперматозоидах. В гонадах самцов мидий к концу репродуктивного цикла отмечено уменьшение концентрации тестостерона и увеличение — на начальных стадиях репродуктивного цикла и перед нерестом. В сперматозоидах в пересчете на сухую массу содержание общего тестостерона выше, чем в гонадах, что согласуется с характером конъюгации тестостерона с жирными кислотами, когда перед нерестом повышается доля свободного экзогенного тестостерона, а в середине цикла, находясь в связанном состоянии с ЖК, концентрация тестостерона практически не меняется. Максимальная концентрация эстрадиола в гонадах самок, наоборот, отмечена в середине репродуктивного цикла, что определяет природу эстрадиола. Эти факты свидетельствуют о роли стероидных гормонов и ЖК в регуляции гаметогенеза вне зависимости от их происхождения в организме. На примере селена впервые удалось показать взаимосвязь элементного состава гонад на разных стадиях репродуктивного цикла с концентрацией тестостерона, что подтверждает экзогенное происхождения стероидов, ЖК, макро- и микроэлементов в организме мидий. На примере ХОС показан характер биоаккумуляции токсикантов и их влияние на ЖК-состав гонад, ПП и трохофор моллюсков. Вымет ПП уменьшает содержание ХОС в гонадах мидий вследствие передачи ХОС в яйцеклетки и сперматозоиды.

Практическая значимость. Разработаны новые технологии получения биологически активных веществ из гонад, половых продуктов и эмбриональных тотипотентных стволовых клеток мидии *M. galloprovincialis*: получение биологически активного вещества для поддержания общего физиологического статуса человека; разработка функционального продукта на основе эмбриональных тотипотентных стволовых клеток; создание масляной композиции, обогащенной полиненасыщенными жирными кислотами и каротиноидами; получение из гонад мидий вещества, обладающего противоопухолевой активностью.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Исследования выполнены в рамках Госзадания ФИЦ ИнБЮМ по темам: «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» № 121030300149–0; «Фундаментальные исследования популяционной биологии морских животных, их морфологического и генетического разнообразия» № 121040500247–0; «Молисмологические и биогеохимические основы гомеостаза морских экосистем» № 121031500515–8.

Методы исследований. Концентрацию стероидов в пробах определяли методом иммуноферментного анализа, используя наборы стандартов: «Testosterone ELISA EIA-1559» и «Estradiol ELISA EIA-2693» («DRG Instruments GmbH», Германия). Идентификация МЭЖК выполнена в ЦКП «Спектрометрия и хроматография» ФИЦ ИнБЮМ методом хромато-масс-спектрометрии с помощью газового хроматографа «Кристалл 5000» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия, Йошкар-Ола) с квадрупольным масс-спектрометрическим детектором и калибровочной смеси эфиров жирных кислот «Supelco 37 component FAME mix». Содержание пестицидов — методом газовой хроматографии с помощью газового хроматографа «Кристалл 5000» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия, Йошкар-Ола) с детектором электронного захвата, стандартных образцов 6 конгенов ПХБ фирмы «Supelco» и хлорированных пестицидов ХОП-5, включающих ДДТ и его метаболиты. Анализ макроэлементов проводили методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии с помощью сканирующего электронного микроскопа «SU3500» («Hitachi», Япония) и методом масс-спектрометрии с применением масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой «Plasma Quant MS Elite» («Analytik Jena», Германия), многоэлементного стандарта «IV-ICPMS-71A» («Inorganic Ventures», США) и стандартного материала «ERM®-CE278k» (ткани мидии *M. edulis*). Выделение и очистку БАВ липидной природы из гонад и ПП мидии *M. galloprovincialis* из Чёрного моря осуществляли классическими методами: экстракцией, осаждением и отгонкой растворителей.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Концентрации тестостерона, эстрадиола, жирных кислот, макро- и микроэлементов в гонадах, половых продуктах и личинках мидий зависят от их пола, стадии репродуктивного цикла и цветовых морф.
2. Тестостерон, эстрадиол, жирные кислоты, макро- и микроэлементы экскретируются во время нереста в водную среду вместе с половыми продуктами.
3. Концентрация хлорорганических соединений в гонадах, яйцеклетках и сперматозоидах мидий зависит от половой принадлежности и стадии

репродуктивного цикла. Полихлорбифенилы влияют на состав жирных кислот личинок.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов обеспечена большим объёмом фактического материала (более 1000 проб), многократностью повторения измерений и применением статистического анализа экспериментальных данных. Все полученные результаты и выводы подкреплены данными, приведенными в рисунках и таблицах.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием, выполненным в соответствии с поставленными целью и задачами. Автором проведен сбор и обработка материала, статистический анализ полученных результатов. Диссертант принимал непосредственное участие в постановке экспериментов, проведении биохимических анализов, обсуждении результатов и написании текстов совместных статей. Диссертационная работа написана лично соискателем.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на семинарах отдела и доложены на отечественных и международных конференциях: международная научная конференция «Актуальные проблемы аквакультуры в современный период» (Ростов-на-Дону, 2015); XVIII международная научная конференция «Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России» (Грозный, 2016); VII международная научно-практическая конференция «Проблемы и перспективы современной науки» (Москва, 2016).

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, перечня сокращений и условных обозначений, а также списка литературы, включающего 258 источника, в т. ч. 189 — иностранные работы. Общий объем рукописи — 188 страниц. Работа включает 20 таблиц и иллюстрирована 18 рисунками.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 13 — в специализированных изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, в т. ч. 9 статей и 4 патента; 4 — в сборниках материалов международных конференций. 7 статей входят в базы WoS и Scopus. В статьях, опубликованных в соавторстве, вклад соискателя состоит в выборе и разработке методов исследования, получении экспериментальных данных, обсуждении и написании текста статей и тезисов. Права соавторов публикаций не нарушены.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность д. б. н. В. И. Рябушко и к. х. н. М. В. Нехорошеву за помощь в разработке методологии исследований, участие в написании совместных работ, а также за общее руководство и консультативную помощь при подготовке диссертации. Особую благодарность выражаю к. х. н. С. В. Капранову и к. б. н. Л. В. Малаховой за

проделанную методическую работу, помощь в статистической обработке данных и участие в написании совместных работ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** сформулирована проблема, обоснована её актуальность, определены цель и основные направления исследований при выполнении диссертационной работы.

В **Главе 1 Стероидные гормоны, жирные кислоты и элементный состав двустворчатых моллюсков (литературный обзор)** рассмотрены вопросы происхождения тестостерона и эстрадиола в организме беспозвоночных, этерификация стероидов с ЖК, проблемы количественного определения стероидов у мидий. Описана роль ЖК в организме моллюсков и связь с содержанием тестостерона, а также влияние ХОС на рост и развитие гидробионтов. Затронуты проблемы исследований элементного состава мидий с черной и коричневой окраской раковин, накопление элементов и их роль в организме мидий. Перечислены возможные способы расчета экскреции тестостерона, эстрадиола, ЖК и микроэлементов. Рассмотрено, в какой степени изученности находится каждое из избранных направлений, что уже сделано другими авторами, что в этих вопросах еще неясно, и поэтому требует дальнейших исследований.

В **Главе 2 Материалы и методы исследований** дано описание объектов (предметов) исследований и районов отбора проб. Для исследований выбрали гонады, ПП и трохофоры двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819, культивируемого у берегов Крыма (Чёрное море). Материал для исследований отбирали на двух участках Крымского побережья Чёрного моря в бухте Ласпи (44.42° N, 33.70° E) и Карантинной бухте (44.61° N, 33.49° E) г. Севастополя. Личинки *M. galloprovincialis* получали путем искусственного оплодотворения и выращивали до стадии трохофоры.

Подробно описаны методы и методики исследований, средства измерений, вспомогательное оборудование, а также статистическая обработка результатов.

Количественное определение общего тестостерона и эстрадиола проводили методом иммуноферментного анализа («User's Manual. Testosterone ELISA. EIA–1559» и «User's Manual. Estradiol ELISA. EIA–2693»). Состав жирных кислот в гонадах и половых продуктов мидии определяли с применением хромато–масс–спектрометрии (Кейтс, 1975; Хасанов и др., 2006; Капранова et al., 2019). Экскрецию тестостерона и эстрадиола культивируемыми мидиями оценивали расчетным методом (Пиркова и др., 2019; Капранова, 2020). Хлорорганические

соединения идентифицировали методом газовой хроматографии (Ровинский, 1986). Анализ макро- и микроэлементов проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа типа «SU3500» (Kapranova et al., 2021) и масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) «Plasma Quant MS Elite» (Kapranova et al., 2021).

Концентрации ЖК, общего тестостерона и эстрадиола в ПП и гонадах для каждой стадии репродуктивного цикла определяли в трех и десяти повторностях. В предположении нормальности распределения результатов измерений оценка достоверности различий концентраций гормонов и ЖК у самцов и самок мидий на разных стадиях репродуктивного цикла проводили путем расчета t-критериев Стьюдента и непараметрического критерия Колмогорова-Смирнова для пар независимых выборок. Для статистического анализа состава ЖК в трохофорах мидий, выращенных в условиях загрязненности ПХБ, эксперимент проводили в пяти повторностях и использовали пакет функций «Statistical Toolbox», интегрированный в программу «Matlab» (версия 8.2). Статистически значимые различия между выборками устанавливали согласно однофакторному дисперсионному анализу (число степеней свободы $df = 4$) и попарному апостериорному сравнению по критерию Тьюки-Крамера. При исследовании концентрации конгенов ПХБ, Σ ДДТ, общих липидов в воде, гонадах, яйцеклетках и сперматозоидах мидий измерения проводили в 16 повторностях, различия между средними в выборках считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Определение макро- и микроэлементов проводили в пяти биологических и трех аналитических повторностях. Статистические различия оценивали в программе «PAST 4.01», применяя однофакторный дисперсионный анализ и апостериорный попарный анализ по критерию Тьюки.

В Главе 3 Содержание стероидных гормонов в мидиях впервые приведены концентрации общего тестостерона и эстрадиола в ПП мидий и в гонадах на разных стадиях репродуктивного цикла, а также рассчитана экскреция стероидов в водную среду вместе с половыми продуктами.

Концентрации тестостерона и эстрадиола в гонадах и ПП мидий зависят от половой принадлежности, стадии репродуктивного цикла и соответствуют сезонному циклу размножения животных. В гонадах самцов мидий к концу репродуктивного цикла отмечено уменьшение концентрации тестостерона и увеличение — на начальных стадиях репродуктивного цикла и перед нерестом. В сперматозоидах в пересчете на сухую массу содержание общего тестостерона выше, чем в гонадах, что согласуется с характером конъюгации тестостерона с жирными кислотами, когда перед нерестом повышается доля свободного экзогенного тестостерона, а в середине цикла, находясь в связанном состоянии с

ЖК, концентрация тестостерона практически не меняется. Максимальная концентрация эстрадиола в гонадах самок, наоборот, отмечена в середине репродуктивного цикла, что определяет природу эстрадиола. Эти факты свидетельствуют о роли стероидных гормонов и ЖК в регуляции гаметогенеза вне зависимости от их происхождения в организме мидий.

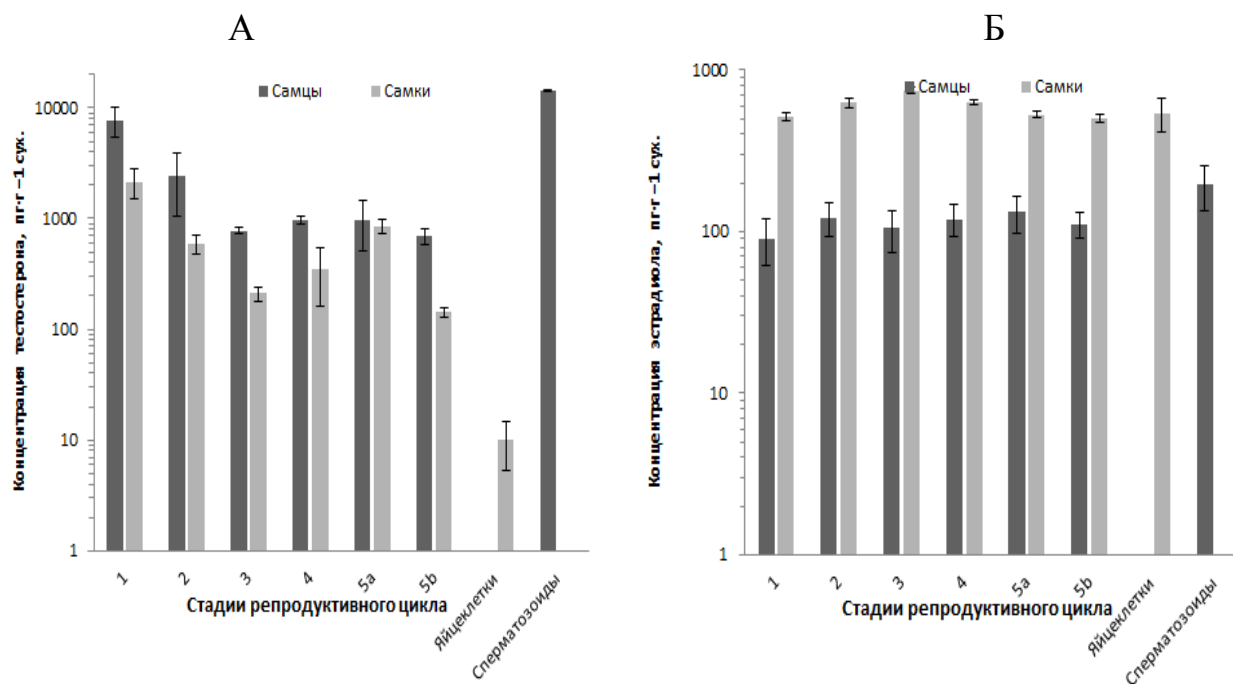


Рисунок 1 — Концентрация тестостерона (А) и эстрадиола (Б) в гонадах мидии *Mytilus galloprovincialis* в зависимости от стадии репродуктивного цикла. 5a и 5b — гонады до и после нереста

Тестостерон и эстрадиол из гонад мидий экскретируется вместе с ПП в окружающую среду, что связано с поддержанием равновесия между свободными и связанными с ЖК формами стероидов. Одна тонна мидий во время нереста способна выделять в окружающую среду вместе со спермой до 0,1 мг тестостерона, 0,005 мг эстрадиола. С яйцеклетками — 0,0005 мг общего тестостерона и 0,014 мг эстрадиола. Тестостерон и эстрадиол, потребляемые вместе с пищей и водой, необходимы моллюскам для роста и развития, а также для осуществления нереста. Часть потребляемых мидиями гормонов включается в процесс метаболизма. Избыточные формы экскретируются в водную среду вместе с половыми продуктами.

В Главе 4 Состав жирных кислот гонад, половых продуктов и личинок мидий приведен состав ЖК в гонадах и трохофорах мидий, собранных как в природных условиях на мидийно-устричной ферме, так и при выращивании в условиях загрязненности ПХБ (рис. 2 и 3).

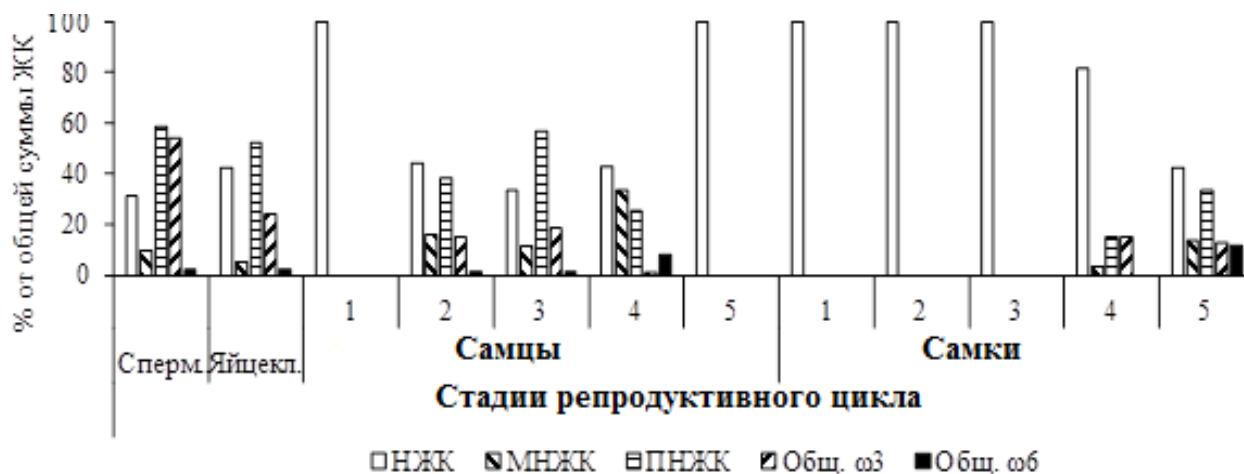


Рисунок 2 — ЖК-состав (% от суммы всех ЖК) сперматозоидов, яйцеклеток и гонад разных стадий репродуктивного цикла мидии *Mytilus galloprovincialis*

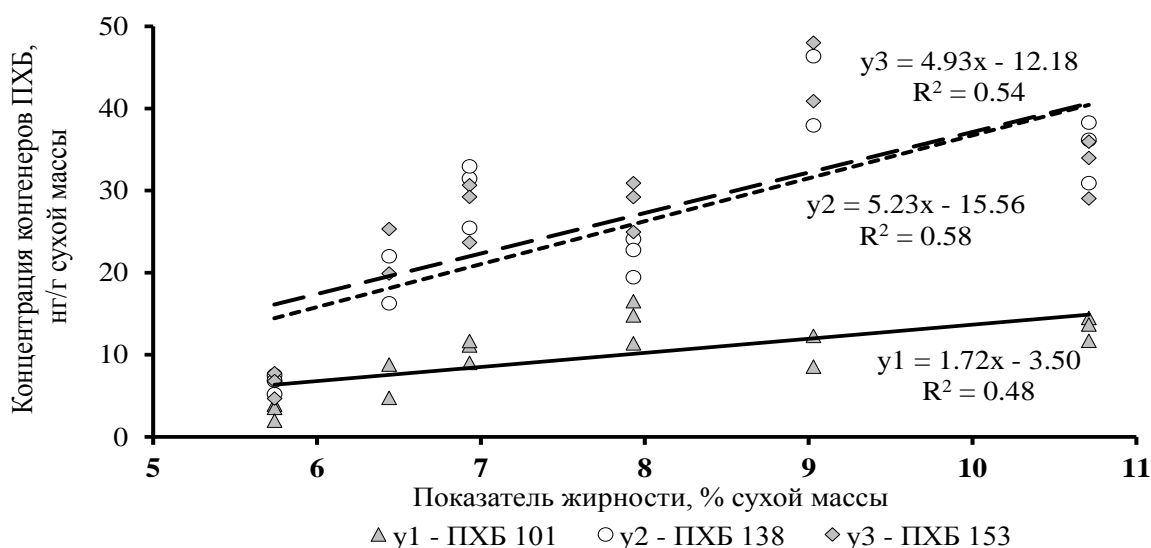


Рисунок 3 — Зависимость содержания трех конгенов ПХБ в органах мидии *Mytilus galloprovincialis* от жирности ($p \leq 0,05$)

В гонадах и ПП мидий идентифицированы 22 ЖК. Состав ЖК в гонадах зависит от стадии репродуктивного цикла. Максимальная концентрация суммарных ЖК зафиксирована на первой стадии репродуктивного цикла. Снижение концентрации отмечено на второй стадии и рост на третьей, что согласуется с изменением концентраций стероидов в гонадах. С первой по четвертую стадии репродуктивного цикла в гонадах самок преобладают НЖК. В гонадах самцов, начиная со второй стадии, МНЖК и ПНЖК преобладают над другими ЖК. В гонадах самок МНЖК и ПНЖК обнаружены на 4 и 5 стадиях репродуктивного цикла.

Особую ценность для биотехнологических целей представляют ПП, в которых содержание МНЖК и ПНЖК достигает максимальных значений по сравнению с гонадами. В яйцеклетках содержание НЖК выше, чем в сперматозоидах. В сперматозоидах ПНЖК доминируют над НЖК и МНЖК. Жирные кислоты, содержащиеся в ПП мидий, вероятно, могут использоваться другими гидробионтами, так как со спермой и яйцеклетками в водную среду может экскретироваться до 50 % ПНЖК, тогда как в личинках этот показатель не превышает 10 % (табл. 1).

Таблица 1 — Содержание ЖК в гонадах, ПП и трохофорах мидии *Mytilus galloprovincialis*

Стадии репродуктивного цикла, ПП	Содержание ЖК в общих липидах, %								
	НЖК			МНЖК			ПНЖК		
	♂♂	♀♀	Трохофоры	♂♂	♀♀	Трохофоры	♂♂	♀♀	Трохофоры
1	100	100	58,2	н. о.	н. о.	31,6	н. о.	н. о.	10,2
2	48,2	100		15,8	н. о.		36,0	н. о.	
3	35,1	100		11,3	н. о.		53,6	н. о.	
4	42,5	81,1		35,9	3,7		21,6	15,2	
5	100	44,4		н. о.	22,1		н. о.	33,5	
Яйцеклетки	н. п.	46,7		н. п.	5,2		н. п.	48,1	
Сперматозоиды	34,0	н. п.	9,8	н. п.	56,2	н. п.			

Примечание: н. п. — не применимо н. о. — не обнаружено.

Впервые определено влияние нереста на изменение уровня загрязненности гонад и ПП ХОС (табл. 2).

Таблица 2 — Концентрации конгенов ПХБ, Σ ДДТ ($\text{нг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы), общих липидов (% сухой массы) в гонадах и ПП самцов и самок мидии *Mytilus galloprovincialis*

Объект	Общие липиды	ПХБ 28	ПХБ 101	ПХБ 138	ПХБ 153	ПХБ 180	Σ ПХБ ₅	Σ ДДТ
	$\text{нг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы							
Г ♀♀ до нереста	9,03	1,23	10,43	42,17	44,46	1,51	99,80	1,53
Г ♀♀ после нереста	7,93	0,63	14,24	22,12	28,35	2,12	67,46	1,30
Яйцеклетки	10,71	0,80	13,29	35,13	32,99	3,29	85,50	0,47
Г ♂♂ до нереста	6,44	0,77	6,78	19,14	22,61	4,55	53,85	1,20
Г ♂♂ после нереста	5,74	н. о.	3,15	6,53	6,42	0,47	16,57	н. о.
Сперматозоиды	6,93	0,67	10,61	29,97	27,86	6,64	75,75	2,14

Примечание: н. о. — не обнаружено.

До и после нереста в гонадах, яйцеклетках и сперматозоидах культивируемых мидий обнаружены пять конгенов ПХБ, ДДТ и его метаболиты (ДДЭ и ДДД). Концентрация ПХБ в пробах более чем в 70 раз превышает содержание ДДТ и его метаболитов и составляет от 97 до 100 % суммы ХОС. Это показывает, что среда обитания мидий загрязнена хлорорганическими токсикантами. Наибольшие концентрации определены для высокохлорированных ПХБ 101, 138 и 153. Уровень биоаккумуляции ХОС в гонадах зависит как от их концентрации в воде, так от содержания ЖК, которое определяется репродуктивным статусом моллюсков. Зависимость концентраций конгенов ПХБ 101; 138 и 153 от жирности тканей мидий может быть описана линейной функцией (рис. 3).

Для оценки аккумуляционной способности мидий в отношении ХОС определены коэффициенты накопления K_n (табл. 3).

Таблица 3 — K_n ХОС в мягких тканях и гонадах самцов и самок мидии *Mytilus galloprovincialis*

Объект	K_n ПХБ 28	K_n ПХБ 101	K_n ПХБ 138	K_n ПХБ 153	K_n ПХБ 180	K_n Σ ПХБ ₅	K_n Σ ДДТ
Мягкие ткани ♀♀	н. д.	$1,4 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^4$	$0,9 \cdot 10^4$	$2,3 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$	$3,2 \cdot 10^3$
Мягкие ткани ♂♂	н. д.	$1,5 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$	$0,8 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^4$	$3,4 \cdot 10^3$
Г ♀♀ до нереста	$4,3 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^4$	$1,7 \cdot 10^4$	$9,4 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^4$	$9,5 \cdot 10^3$
Г ♂♂ до нереста	$2,7 \cdot 10^3$	$8,1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^4$	$8,6 \cdot 10^3$	$2,8 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^4$	$7,5 \cdot 10^3$

Примечание: н. д. — нет данных; Г — гонады.

K_n конгенов ПХБ гонадами до нереста имели высокую вариабельность и отличались на порядок, изменяясь от $2,7 \cdot 10^3$ до $2,8 \cdot 10^4$. $K_n \Sigma$ ПХБ₅ в гонадах самок почти в два раза превышал таковой у самцов.

Вымет ПП уменьшает содержание ХОС в гонадах мидий вследствие передачи ХОС в яйцеклетки и сперматозоиды, и с ними — в морскую среду. В целом, сумма концентраций ХОС в гонадах и ПП мидий не превышает санитарно-эпидемиологические нормы РФ для морепродуктов.

ЖК-состав личинок мидий в значительной мере зависит от степени загрязненности среды их обитания ПХБ. На примере трохофор рассмотрено влияние ПХБ на ЖК-состав, а значит на стероидный состав мидий, так как стероиды этерифицируются преимущественно НЖК (рис. 4). Увеличение концентрации ненасыщенных ЖК и снижение доли НЖК в пробах под воздействием даже минимальных концентраций загрязнителей говорит о защитной реакции организма личинок. При концентрации ПХБ $10 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$

наблюдается минимальный ЖК-отклик, так как эта концентрация губительна для живых организмов.

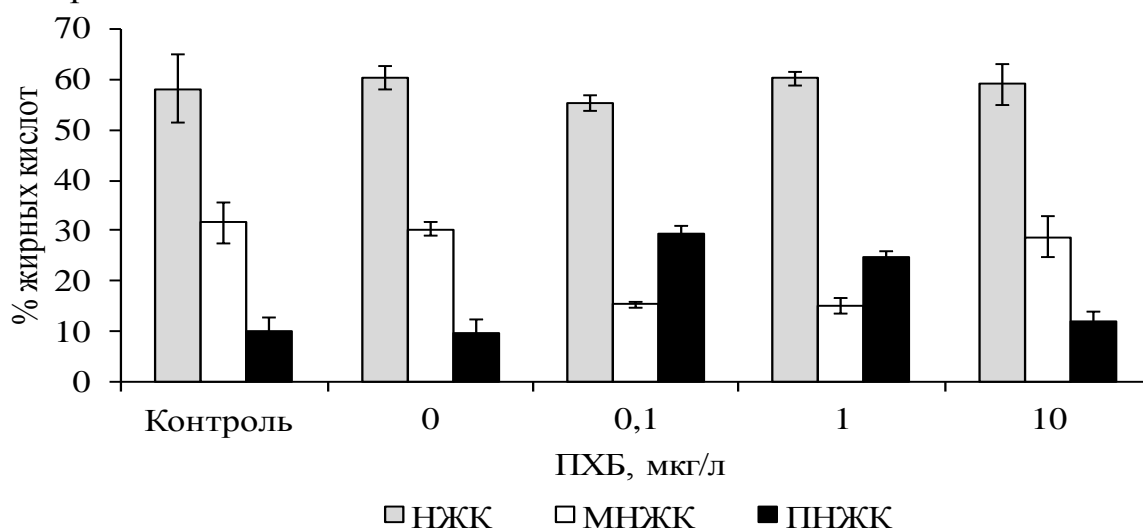


Рисунок 4 — Содержание ЖК в трохофорах мидии *Mytilus galloprovincialis* в зависимости от загрязненности среды ПХБ

Уровни стеариновой (С18:0) НЖК и суммы двух изомеров октадеценовых (С18:1) МНЖК резко снижаются при воздействии даже 0,1 мкг·л⁻¹ ПХБ, а процентное содержание суммы двух изомеров октадеценовых (С18:1) кислот возрастает в 3 раза при увеличении концентрации ПХБ до 10 мкг·л⁻¹.

Снижение содержания НЖК и увеличение МНЖК, вероятно, связано с окислением ЖК, входящих в структуру клеточных мембран личинок.

Сведения, полученные при изучении влияния концентрации поллютантов на ЖК-состав трохофор мидий, могут быть полезны при создании лечебно-профилактических продуктов, когда необходимо определять точную дозировку БАВ, при которой «отклик» организма максимален. В дальнейшем несложно пересчитать сухую массу личинок на массу тканей животных или человека.

В Главе 5 содержание макро- и микроэлементов в мидиях описан элементный состав гонад самок и самцов, половых продуктов и личинок мидий с черной и коричневой окраской раковин (табл. 4). Содержание элементов в тканях мидий зависит от пола, возраста и стадии репродуктивного цикла. В гонадах самцов и самок черных и коричневых цветовых морф мидий не наблюдали достоверных различий в макроэлементном составе, тогда как в ПП и личинках различия были существенные. В гонадах и ПП коричневых мидий содержание углерода, следовательно, содержание органических соединений выше, чем мидиях с черным цветом раковин. В яйцеклетках коричневых самок кислорода в два раза меньше, а в трохофорах на порядок больше, чем в моллюсках с черным

цветом раковин. Это указывает на высокое содержание полисахаридов и/или других энергетических доноров и гликогена в трохофорах коричневых мидий.

Таблица 4 — Значимые различия ($p < 0,05$) в макроэлементном составе (С, О, N, Р, S) черных и коричневых цветовых морф мидии *Mytilus galloprovincialis*

	Г ♂ кор.	Г ♂ чер.	Г ♀ кор.	Г ♀ чер.	Сп. кор.	Сп. чер.	Я кор.	Я чер.	Т кор.	Т чер.
Г ♂ кор.					Р	Н	С, О, N, Р			С, О, N, Р
Г ♂ чер.			С, N		Р	О, N, P, S	С, О, Р			С, О, N, Р
Г ♀ кор.		С, N			Н, Р	С	О			С, О
Г ♀ чер.					Р	Н	С, О			С, О, N
Сп. кор.	Р	Р	Н, Р	Р		Н, Р, S	С, О, N, Р	Р	Р	С, О, N, Р
Сп. чер.	Н	О, N, Р, S	С	Н	Н, Р, S		С, О, S	Н	Н, S	С, О, S
Я кор.	С, О, N, Р	С, О, N, Р	О	С, О, N	С, О, N, Р	С, S		С, О, N	С, О, N	О
Я чер.					Р	Н	С, О, N			С, О, N
Т кор.					Р	Н, S	С, О			С, О, N
Т чер.	С, Р	С, N, Р	С	С, N	С, N, Р	С, S	С, О	С, N	С, N	

Примечание: кор. — мидии с коричневыми раковинами; чер. — мидии с черными раковинами; ± — доверительный интервал с вероятностью 95 %; Г — гонады; Сп. — сперматозоиды; Я — яйцеклетки; Т — трохофоры.

Десятикратное превышение азота в сперматозоидах и трохофорах коричневых мидий указывает на различный аминокислотный состав моллюсков, что обусловлено генетически и условиями обитания. В сперматозоидах и трохофорах коричневых мидий фосфора, и соответственно АТФ, больше, чем в моллюсках черной цветовой морфы. В яйцеклетках наоборот. В сперматозоидах мидий с черными раковинами содержание серы в пять раз выше, чем у коричневых, вероятно, из-за наличия серосодержащих аминокислот.

В гонадах самцов и самок коричневых мидий концентрация Mn, Ca, K и P выше, чем у мидий с черными раковинами. В гонадах самок с черной и коричневой окраской раковин преобладают Cu, Fe и As, но в гонадах коричневых мидий содержание этих элементов ниже, чем у мидий черной цветовой морфы. Больше всего различий удалось выявить в трохофорах и яйцеклетках черных и коричневых цветовых морфах мидий, что при дальнейшем развитии может отражаться на биохимическом составе моллюсков.

При рассмотрении процессов, связанных с нерестом мидий, из всех существующих микроэлементов, которые способны накапливать и экскретировать мидии, следует выделить Se и Zn, необходимые для поддержания

функций репродуктивной системы (Lowe et al., 1979). Концентрация Se в гонадах и ПП самок и самцов мидий зависит от репродуктивного цикла (табл. 5).

Таблица 5 — Концентрация Se и Zn в гонадах, яйцеклетках и сперматозоидах мидии *Mytilus galloprovincialis*

Стадии репродуктивного цикла, половые продукты	Концентрация элементов, $\text{мкг} \cdot \text{г}^{-1}_{\text{сух.}}$			
	Se		Zn	
	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀
1	н. д.	н. д.	н. д.	н. д.
2	$12,0 \pm 1,5$	н. д.	$33,3 \pm 6,6$	н. д.
3	$8,7 \pm 0,7$	$10,8 \pm 1,7$	$24,6 \pm 3,6$	$35,6 \pm 11,8$
4	$9,3 \pm 1,9$	$9,0 \pm 2,5$	$16,3 \pm 1,9$	$4,5 \pm 31,2$
5a	$10,7 \pm 2,8$	$9,7 \pm 3,3$	$22,9 \pm 5,7$	$56,3 \pm 17,9$
5b	$8,8 \pm 1,4$	$13,7 \pm 1,9$	$27,5 \pm 3,7$	$53,6 \pm 10,9$
Яйцеклетки	н. п.	$14,7 \pm 2,9$	н. п.	$49,3 \pm 8,2$
Сперматозоиды	$14,4 \pm 1,8$	н. п.	$19,3 \pm 6,4$	н. п.

Примечание: н. д. — нет данных; н. п. — не применимо; 5a и 5b — гонады до и после нереста.

Степень усвоения Se из пищи (q) во время нереста — от 0,1 до 0,4, что ниже среднегодовых значений степени усвоения пищи на рост у гидробионтов q_{Π} (K_2), равных 0,14 и 0,42 (Биоэнергетика, 1990). Значения q для Zn — от 0,1 до 0,6, что выше среднегодовых значений степени усвоения пищи на рост q_{Π} (K_2), равных 0,14 и 0,42. Поэтому можно утверждать, что Se и Zn экскретируются с разной интенсивностью (табл. 6).

Рассчитанные значения предельного коэффициента пищевого накопления (K_{Π}) для Se и Zn в гонадах мидий в весенний период составляют от 0,64 до 1,36, что выше степени усвоения и вовлечения в биохимические процессы (q) рассматриваемых микроэлементов (табл. 7).

Следует отметить, что расчеты количества элементов, также, как и стероидных гормонов, экскретируемых мидиями во время нереста, демонстрируют лишь то, что они имеют значительные величины и, вероятно, играют существенную роль в экологическом метаболизме моря. Во время нереста элементный и гормональный состав мидий не постоянны, так как зависят от ряда факторов: питания, сезонности, температуры, состояния гонад, роста мидий и др.

Таблица 6 – Степень усвоения Se и Zn из пищи (q) мидией *Mytilus galloprovincialis*

Стадии репродуктивного цикла, ПП	q Se ($q_{II} = 0,14$)		q Zn ($q_{II} = 0,14$)	
	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀
3	$0,09 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,07$	$0,17 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,01$
4	$0,10 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,05$	$0,13 \pm 0,02$
5a	$0,11 \pm 0,06$	$0,10 \pm 0,08$	$0,16 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,01$
5b	$0,09 \pm 0,04$	$0,13 \pm 0,08$	$0,19 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,01$
Стадии репродуктивного цикла, ПП	q Se ($q_{II} = 0,42$)		q Zn ($q_{II} = 0,42$)	
	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀
3	$0,30 \pm 0,06$	$0,35 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,03$
4	$0,32 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,08$	$0,40 \pm 0,06$
5a	$0,35 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,02$	$0,46 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,03$
5b	$0,31 \pm 0,11$	$0,40 \pm 0,20$	$0,51 \pm 0,07$	$0,44 \pm 0,20$

Примечание: 5a и 5b — гонады до и после нереста.

Таблица 7 – Максимальный коэффициент пищевого накопления микроэлементов (K_{II}) мидии *Mytilus galloprovincialis*

Стадии репродуктивного цикла, ПП	K_{II} Se ($q_{II} = 0,14$)		K_{II} Zn ($q_{II} = 0,14$)	
	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀
3	$0,64 \pm 0,23$	$0,79 \pm 0,52$	$1,21 \pm 0,07$	$0,79 \pm 0,07$
4	$0,71 \pm 0,31$	$0,64 \pm 0,53$	$0,86 \pm 0,35$	$0,93 \pm 0,12$
5a	$0,79 \pm 0,42$	$0,71 \pm 0,62$	$1,14 \pm 0,07$	$1,14 \pm 0,07$
5b	$0,64 \pm 0,74$	$0,93 \pm 0,61$	$1,36 \pm 0,07$	$1,07 \pm 0,07$
Стадии репродуктивного цикла, ПП	K_{II} Se ($q_{II} = 0,42$)		K_{II} Zn ($q_{II} = 0,42$)	
	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀
3	$0,71 \pm 0,12$	$0,83 \pm 0,05$	$1,14 \pm 0,02$	$0,81 \pm 0,07$
4	$0,76 \pm 0,02$	$0,74 \pm 0,02$	$0,90 \pm 0,23$	$0,95 \pm 0,14$
5a	$0,83 \pm 0,05$	$0,76 \pm 0,05$	$1,10 \pm 0,05$	$1,07 \pm 0,07$
5b	$0,74 \pm 0,23$	$0,95 \pm 0,54$	$1,21 \pm 0,22$	$1,05 \pm 0,54$

Примечание: 5a и 5b — гонады до и после нереста; $K_{II} = q / q_{II}$.

В Главе 6 Разработка технологий получения функциональных продуктов на основе гонад и половых продуктов мидий описано получение и применение функциональных продуктов на основе физиологически активных веществ и эмбриональных тотипотентных клеток из мидии *M. galloprovincialis*.

Разработана технология получения биологически активного вещества из мидии *M. galloprovincialis* (Патент 2599834), которое применяется для поддержания общего физиологического статуса и репродуктивной активности человека или как средство в качестве добавки к регенерирующей косметике или к пище. Изобретение относится к биотехнологии и позволяет осуществлять экстракцию биологически активных компонентов, в частности тестостерона, из гонад и/или половых продуктов гидробионтов.

Технология получения функционального продукта из мидии *M. galloprovincialis* (Патент 2743060) предназначена для получения из оплодотворенных яйцеклеток продукта с высокой физиологической активностью, содержащего биологически активные вещества и эмбриональные тотипотентные стволовые клетки. Изобретение относится к биотехнологии и позволяет получать продукт с повышенным содержанием полиненасыщенных жирных кислот, тестостерона и аминокислот.

В способе получения масляной композиции, обогащенной полиненасыщенными жирными кислотами и каротиноидами из мидий (Патент 2743019) разработана технология получения масляного раствора витамина Е, обогащенного эйкозапентаеновой (C20:5 ω 3), докозагексаеновой (C22:6 ω 3), арахидоновой (C20:4 ω 6) полиненасыщенными жирными кислотами и каротиноидами. Изобретение относится к биотехнологии и предназначено для применения как в чистом виде в фармацевтике, так и в производстве косметических и пищевых продуктов.

Для реализации технологии получения вещества из гонад мидий, обладающего противоопухолевой активностью (Патент 2674033), используют гонады, находящиеся на 4–5 стадиях репродуктивного цикла, когда концентрация полиненасыщенных жирных кислот максимальна. Изобретение относится к биотехнологии и фармацевтической промышленности, предназначено для получения лекарственных веществ из гидробионтов и может быть использовано в медицине для создания препаратов, которые обладают противоопухолевой активностью.

ВЫВОДЫ

1. Концентрации тестостерона и эстрадиола в гонадах мидий зависят от половой принадлежности, стадии репродуктивного цикла и соответствует сезонному циклу размножения моллюсков. На начальных стадиях репродуктивного цикла и перед нерестом в гонадах самцов повышается содержание тестостерона. Максимальная концентрация тестостерона обнаружена в сперматозоидах, эстрадиола — в гонадах самок на 3-й стадии репродуктивного цикла.

2. Состав ЖК в гонадах мидий зависит от половой принадлежности, стадии репродуктивного цикла и степени загрязненности среды обитания ПХБ. В гонадах самцов преобладают МНЖК и ПНЖК. ПНЖК доминируют в сперматозоидах. В гонадах самок и личинках доминируют НЖК.

3. Уровень биоаккумуляции хлорорганических соединений в гонадах мидий повышается с ростом количества липидов в моллюсках и концентрации загрязнителя в воде. Вымет половых продуктов уменьшает содержание ХОС в гонадах мидий вследствие передачи ХОС в яйцеклетки и сперматозоиды, и с ними — в морскую среду. ПХБ влияют на ЖК-состав личинок (трохофор) мидий. С увеличением концентрации полихлорбифенилов в среде выращивания личинок увеличивается содержание ненасыщенных жирных кислот и снижается доля насыщенных жирных кислот.

4. Установлены статистически значимые различия в элементном составе гонад, половых продуктов и трохофор различных полов черных и коричневых мидий. В гонадах самцов и самок черных и коричневых мидий отсутствуют достоверные различия в макроэлементном (С, О, N, P, S) составе, тогда как в половых продуктах и личинках различия существенны. В гонадах самок коричневых и черных мидий преобладает Cu, Fe и As, но в гонадах коричневых мидий содержание этих элементов достоверно ниже, чем в черных. Содержание Zn и Se в моллюсках с черными раковинами выше.

5. Во время нереста тестостерон, эстрадиол, жирные кислоты и элементы экскретируются из гонад вместе с половыми продуктами в окружающую среду. Экскреция стероидов необходима для размножения мидий и поддержания в организме равновесия между свободными и конъюгированными с жирными кислотами формами стероидов.

6. Разработаны и запатентованы 4 новые технологии получения лечебно-профилактических продуктов из мидии *M. galloprovincialis*: препарат, стимулирующий половое поведение; вещество, обладающего противоопухолевой активностью; функциональный продукт на основе эмбриональных тотипотентных клеток; масляная композиция, обогащенная витамином E и ПНЖК.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. **Kapranova L. L.,** Ryabushko V. I., Kapranov S. V., Lishaev V. N., Nekhoroshev M. V. Elemental composition of gonads, gametes and larvae in black and brown morphs of the Bivalve Mollusk *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2021. Vol. 57, no. 6. P. 1290–1299. DOI: 10.1134/S0022093021060090 (WoS).

2. Kapranov S. V., Karavantseva N. V., Bobko N. I., Ryabushko V. I., **Kapranova L. L.** Element contents in three commercially important edible Mollusks harvested off the Southwestern Coast of Crimea (Black Sea) and assessment of human health risks from their consumption // *Foods*. 2021. Vol. 10, iss. 10. Article no. 2313 (26 p.). DOI: 10.3390/foods10102313 (**Scopus, WoS**).
3. Kapranov S. V., Karavantseva N. V., Bobko N. I., Ryabushko V. I., **Kapranova L. L.** Sex- and sexual maturation-related aspects of the element accumulation in soft tissues of the bivalve *Mytilus galloprovincialis* Lam. collected off coasts of Sevastopol (southwestern Crimea, Black Sea) // *Environmental Science and Pollution Research*. 2021. Vol. 28, iss. 17. P. 21553–21576. DOI: 10.1007/s11356-020-12024-z (**Scopus, WoS**).
4. **Капранова Л. Л.**, Рябушко В. И., Нехорошев М. В., Капранов С. В. Стероидные гормоны, селен и цинк в биологической системе гонады – половые продукты – личинки мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // *Морской биологический журнал*. 2021. Т. 6, № 4. С. 39–50. DOI: 10.21072/mbj.2021.06.4.04 (**Scopus**).
5. **Капранова Л. Л.**, Малахова Л. В., Нехорошев М. В., Лобко В. В., Рябушко В. И. Состав жирных кислот в трохофорах мидий *Mytilus galloprovincialis*, выращенных в условиях загрязнённости полихлорбифенилами // *Морской биологический журнал*. 2020. Т. 5, № 2. С. 38–49. DOI: 10.21072/mbj.2020.05.2.04 (**Scopus**).
6. **Капранова Л. Л.** Экскреция тестостерона и эстрадиола культивируемой мидией *Mytilus galloprovincialis* Lam. (Чёрное море) // *Труды Карадагской научной станции им. Т. И. Вяземского — природного заповедника РАН*. 2020. № 2 (14). С. 56-65. DOI: 10.21072/eco.2021.14.06
7. **Kapranova L. L.**, Nekhoroshev M. V., Malakhova L. V., Ryabushko V. I., Kapranov S. V., Kuznetsova T. V. Fatty acid composition of gonads and gametes in the Black Sea Bivalve Mollusk *Mytilus galloprovincialis* Lam. at different stages of sexual maturation // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2019. Vol. 55, iss. 6. P. 448–455. DOI: 10.1134/S0022093019060024 (**WoS**).
8. **Никонова Л. Л.**, Малахова Л. В., Нехорошев М. В., Рябушко В. И. Хлорорганические соединения в гонадах и половых продуктах двустворчатого моллюска мидий *M. galloprovincialis* L.; 1819, культивируемого у берегов Крыма (Черное море) // *Вода: химия и экология*. 2017. № 3. С. 40–45.
9. **Nikonova L. L.**, Nekhoroshev M. V., Ryabushko V. I. Total testosterone and estradiol in the gonads and gametes of the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2017. Vol. 53, iss. 6. P. 519–522. DOI: 10.1134/S0022093017060114 (**Scopus, WoS**).

10. **Капранова Л. Л.**, Нехорошев М. В., Рябушко В. И., Капранов С. В. Способ получения масляной композиции, обогащенной полиненасыщенными жирными кислотами и каротиноидами из мидии *M. galloprovincialis* : пат. на изобр. 2743019 Российская Федерация. МПК А23D 9/00 (2006.01); С11В 1/10 (2006.01); А23L 33/10 (2016.01); патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»; № 2020121276; заявл. 22.06.2020; опубл. 12.02.2021, Бюл. № 5.
11. **Капранова Л. Л.**, Нехорошев М. В., Рябушко В. И., Капранов С. В. Способ получения функционального продукта из мидии *Mytilus galloprovincialis* : пат. на изобр. 2743060 Российская Федерация. МПК А23L 33/10 (2016.01); А23L 17/50 (2016.01); С11В 1/10 (2006.01); патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»; № 2020121278; заявл. 22.06.2020; опубл. 15.02.2021, Бюл. № 5.
12. **Капранова Л. Л.**, Рябушко В. И., Нехорошев М. В., Апрышко Г. И. Способ получения вещества из гонад мидий *M. galloprovincialis*, обладающего противоопухолевой активностью : пат. на изобр. 2674033 Российская Федерация. МПК А61К 35/618 (2015.01); А61Р 35/00 (2006.01); патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН»; № 2017139047; заявл. 09.11.2017; опубл. 04.12.2018, Бюл. № 34.
13. **Никонова Л. Л.**, Нехорошев М. В. Способ получения биологически активного вещества из черноморской мидий *M. galloprovincialis* L. : пат. на изобр. 2599834 Российская Федерация. МПК А23L/10, А23L 17/50/ ; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН»; заявл. 22.09.2014; опубл. 20.10.2016, Бюл. № 29.

Публикации в сборниках материалов международных конференций

1. **Никонова Л. Л.**, Нехорошев М. В. Концентрация общего тестостерона в гонадах и половых продуктах черноморской мидии *M. galloprovincialis* Lam. // Проблемы и перспективы современной науки : материалы VII междунар. науч.-практ. конф., 28.05.2016 г., Москва, РФ. Москва : Центр научного сотрудничества «Международные научные исследования», 2016. Ч. 2. С. 82–87.
2. Головина И. В., **Никонова Л. Л.**, Поспелова Н. В., Нехорошев М. В. Влияние температуры на активность каталазы в гонадах *Mytilus galloprovincialis*

черной и коричневой морфы в весенний репродуктивный период // Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России: материалы XVIII междунар. научной конф., 4–5 ноября 2016 г., Грозный, РФ. Грозный : Академия наук ЧР, 2016. Ч. II. С. 357–360.

3. **Никонова Л. Л.**, Нехорошев М. В. Концентрация общего тестостерона в гонадах и половых продуктах черноморской мидии *M. galloprovincialis* Lam. // Актуальные проблемы аквакультуры в современный период : материалы Междунар. науч. конф., 28.09.–02.10.2015 г., Ростов-на-Дону, РФ. Ростов-на-Дону : АзНИИРХ, 2015. С. 114–118.
4. **Никонова Л. Л.**, Нехорошев М. В. Концентрация эстрадиола в гонадах и половых продуктах черноморской мидии *M. galloprovincialis* Lam. // Актуальные проблемы аквакультуры в современный период : материалы Междунар. науч. конф., 28.09.–02.10.2015 г., Ростов-на-Дону, РФ. Ростов-на-Дону : АзНИИРХ, 2015. С. 118–120.