

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ**

Направление подготовки 06.04.01 Биология
Профиль «Биоресурсы и биоразнообразие»

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ)**

ГЛАЗУНОВОЙ ГЛОРИИ ФИЛИППОВНЫ

**МОРФОЛОГИЯ ЯДОВИТОГО АППАРАТА
И КРАТКАЯ ТОКСИНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
КРЫЛАТКИ-ЗЕБРЫ *PTEROIS VOLITANS* L. 1758
(ACTINOPTERYGI: SCORPAENIFORMES)**

Работа завершена:

«25» мая 2021 г.  (Г.Ф. Глазунова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

Ст. преподаватель каф. зоологии и общ. биологии

«01» 06 2021 г.  (А.В. Беспятых)

Заведующий кафедрой:

Кандидат биологических наук, доцент

«01» 06 2021 г.  (Р.М. Сабиров)

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа (магистерская диссертация) посвящена изучению морфологии ядовитого аппарата и краткой токсинологической характеристике крылатки-зебры *Pterois volitans* L. 1758. В ходе работы были исследованы некоторых особенностей ядовитого аппарата крылатки-зебры *P. volitans* и его продукции и оценка токсического действия секрета кожных покровов.

В качестве материала для данной работы были использованы 7 особей крылатки-зебры, культивируемые в лабораторной аквариальной установке кафедры Зоологии и общей биологии.

В ходе исследования было обнаружено, что во внешней морфологии ядовитого аппарата помимо стандартного строения иногда встречается аномальная ветвистая форма дорсальных шипов. Изучение морфологии скелета ядовитых шипов позволило обнаружить ряд крупных пор и каналов, обеспечивающих интеграцию в луч кровеносных сосудов и нервов обеспечивающих функционирование ядовитого аппарата.

Гистологические исследования и прижизненные эксперименты продемонстрировали наличие активного механизма введения яда в жертву. Показано ингибирующее влияние яда крылатки на некоторые виды патогенных бактерий и отсутствие видимого эффекта яда шипов на экспериментальных насекомых.

Работа изложена на 76 страницах печатного текста, содержит 32 рисунка и 3 таблицы. Список литературы включает 101 наименование, 98 из которых на иностранных языках.

Ключевые слова: токсинология, функциональная морфология, *Pterois volitans*, крылатка-зебра, ядовитый аппарат, ядовитая железа, механизм введения яда.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. Обзор литературы	7
1.1. Краткая морфо-экологическая характеристика Крылатки-зебры <i>Pterois volitans</i>	7
1.1.1. Pteroinae и их место в отряде Scorpaeniformes	10
1.1.2. Морфология Крылатки-зебры <i>Pterois volitans</i>	17
1.1.3. Распространение Крылатки-зебры в Мировом океане и ее экология	22
1.2. Токсинологическая характеристика Крылатки-зебры <i>Pterois volitans</i>	26
1.2.1. Классификация ядовитых организмов и типов секреции у животных.....	27
1.2.2. Ядовитый аппарат, механизм действия яда и состав токсинов Крылатки-зебры.....	31
1.2.3 Разнообразие ядовитых рыб, их токсинов и механизмов работы ядовитого аппарата.....	34
2. Материал и методы	37
2.1. Общие биологические характеристики	37
2.2. Методики морфологических исследований ядовитого аппарата	41
2.3. Тестирование антибиотической активности	46
2.4. Тестирование механизма введения яда	46
2.5. Тестирование действия яда на беспозвоночных животных	47
3. Результаты исследований.....	49
3.1. Описание внешней морфологии ядовитого аппарата крылатки-зебры	49
3.2. Оценка степени изученности ядовитого аппарата крылатки-зебры, ее яда, подходов к терапии отравления и возможности терапевтического применения токсинов	54
3.2.1. Механизм введения яда	54
3.2.2. Антибактериальная активность	56
3.3. Гистологические исследования ядовитых желез	57
3.4. Тестирование воздействия яда на беспозвоночных	61
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	63
ВЫВОДЫ	65
ЛИТЕРАТУРА	66

ВВЕДЕНИЕ

Среди огромного разнообразия биологически активных веществ природного происхождения, представляющих интерес для биологии и медицины, одно из центральных мест занимают животные яды, или зоотоксины, – уникальная по химической природе и физиологическому действию группа соединений. С помощью зоотоксинов достигнуты большие успехи в области молекулярной биологии и нейрофизиологии, созданы новые лекарственные и диагностические средства. Нельзя забывать и о высокой токсичности этих соединений и необходимости разработки мер профилактики и лечения отравлений зоотоксинами. Ядовитые животные и их яды находятся сегодня в сфере внимания ученых разных специальностей: зоологов, экологов, физиологов, биохимиков, фармакологов, медиков, иммунологов. А к числу основных исследуемых групп можно отнести в первую очередь различных беспозвоночных животных, рыб и змей.

Современный уровень знаний о токсинах и строении ядовитого аппарата рыб не отличается такой полнотой, как, к примеру, сведения о наземных животных – змеях, лягушках, скорпионах и пауках. По предварительным оценкам Смита с соавторами (Smith et. al., 2018), существует около 1200 ядовитых рыб, что составляет в настоящее время более 50% ядовитых позвоночных. При этом к началу 21 столетия по данным Church и Hodgson (Church & Hodgson, 2002) было идентифицировано не более дюжины их токсинов.

Одним из пристально изучаемых видов ядовитых рыб является широко распространенная в тропических водах крылатка-зебра *Pterois volitans*. На сегодняшний день крылатка-зебра является массовым видом, живущим как в нативных местах обитания, так и в инвазионных, где она имеет возможность занимать огромные территории, агрессивно вытесняя другие виды в силу отсутствия прессы со стороны естественных врагов. Наиболее вероятным путем интродукции крылатки стало случайное или преднамеренное высвобождение аквариумных особей (Semmens et al., 2004). Инвазия крылатки-зебры в ихтиоценозы Западной Атлантики, Карибского моря и Мексиканского залива мо-

жет оказать глубокое воздействие на экологию и социально-экономическую сферу этих важных природных ресурсов (Morris & Whitfield, 2009).

Благодаря своему обширному ареалу и проблеме инвазии данная рыба известна по всему миру. Также крылатка-зебра известна своими ядовитыми свойствами. Яд этих рыб достаточно сильный. В редких случаях от укола крылатки-зебры регистрировался летальный исход (Halstead et al., 1955). В последние годы уже получены некоторые данные об основных компонентах яда крылатки, его действии и потенциальных фармакологических эффектах. Сырой экстракт яда крылатки *P. volitans* содержит обильные белки с молекулярной массой от 40 до 100 кДа и обладает желатинолитической активностью в широком диапазоне pH, максимальной при pH от 7 до 9, а также гемолитической активностью, которая проявляется на эритроцитах кролика, но не на эритроцитах человека. Примечательно, что как гемолитическая, так и желатинолитическая активности пропадают после нагревания (60°C, ~15 мин), что свидетельствует о белковой природе активного вещества (Manso et. al., 2015). Также в 2019 году стало известно о возможности использования яда крылатки в качестве лекарства от ВИЧ-инфекции человека. Фосфолипаза-А2 из яда крылатки-зебры проявила фармакологический эффект в отношении культуры ретровируса обезьяны SRV2-A549 с уровнем ингибирования 97,78% при 4 ppm (Sommeng et al., 2019). Однако, полный состав пептидов яда до настоящего времени остается неизвестным. Сохраняется ряд вопросов о механизмах действия ядовитого аппарата и токсинов. Не остается без внимания и проблема разработки лечебной сыворотки. Определенный интерес представляет также изучение слизистого секрета кожных желез крылатки-зебры, обладающей, по всей вероятности, антимикробной активностью. Из него был выделен пептид птероцидин- α (амидиранная форма: птероцидин- α -CONH₂ и неамидиранная форма птероцидин- α -COOH). Птероцидин- α -CONH₂ оказывал бактерицидное действие на человеческие патогены, такие как золотистый стафилококк или кишечная палочка, а также на патоген рыб *Aeromonas salmonicida*, в то время как птероцидин- α -COOH только подав-

лял их рост. Кроме того, эти два пептида индуцировали гемолиз эритроцитов различных позвоночных, а именно человека, морского окуня и других рыб. Гемолиз происходил при низких концентрациях птероицидина- α -CONH₂, что указывает на большую токсичность амидированной формы (Houyvet et al., 2018).

Таким образом, несмотря на устойчивый интерес к данному виду, на сегодняшний день лечебные сыворотки не разработаны, а механизм функционирования ядовитого аппарата и действия яда требует дальнейших исследований.

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования было определено: описание некоторых особенностей ядовитого аппарата крылатки-зебры *P. volitans* и его продукции с рекомендациями перспектив фармакологического применения токсинов и оценка токсического действия секрета кожных покровов.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- Оценить степень изученности ядовитого аппарата крылатки-зебры, ее яда, подходов к терапии отравления и возможности терапевтического применения токсинов;
- Описать индивидуальные особенности внешней и внутренней морфологии ядовитого аппарата крылатки;
- Проанализировать гистологическое строение ядовитых желез;
- Оценить действие яда лучей и секрета покровов тела крылатки на различные организмы с возможной оценкой их фармакологического и антибиотического потенциала;
- Экспериментально протестировать механизм введения яда крылатки-зебры в жертву.

ВЫВОДЫ

- Наличие единого ядра в средней части шипа указывает на эмбриональную закладку данной структуры в виде стержня с ядовитыми железами на поверхности, которые лишь со временем погружаются в формирующиеся латеральные борозды.
- Обнаружение выводных протоков ядовитых желез спинных шипов, а также крупных кровеносных сосудов, примыкающих к телу ядовитой железы, позволяет предположить вероятность активного рефлекторного выброса яда в момент укола, подобно тому, как это реализовано у ряда других представителей семейства. В пользу этого предположения свидетельствует и наблюдаемый в прижизненном эксперименте механизм выхода яда из шипа.
- Действие секрета покровов продемонстрировало положительный антибиотический эффект в отношении Gr+ и Gr- тестовых штаммов. В то время, как действие яда шипов проявилось чрезвычайно слабо и неоднозначно.
- Видимого эффекта яд шипов крылатки –зебры на экспериментальных насекомых *Nauphoeta cinerea* установлено не было.