

адан https://elibrary.ru/qsppro УДК 594.124:[57.043:534.321.9]

DOI: 10.33075/2220-5861-2023-4-41-51

СТРУКТУРА МЕХАНОРЕЦЕПЦИИ И СПОСОБНОСТЬ К АДГЕЗИИ У МОЛОДИ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819) ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАЗВУКА

А.В. Кузнецов^{1,2}, А.Н. Петров¹, А.В. Пиркова¹, Е.В. Сергеева²

¹ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского» РФ, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2 *E-mail: kuznet61@gmail.com ; alexpet-14@mail.ru*

²Севастопольский государственный университет, РФ, г. Севастополь, ул. Университетская, 33

У мидии обнаружено 5 TRP-каналов с длиной полипептидной цепи 1157–1349 аа и 1 Ріего-канал с длиной 2377 аа. Построены пространственные модели протеинов, рассмотрена их роль как механорецепторов. Длительное воздействие ультразвука частотой до 30 кГц и интенсивностью до 85 дБ ослабляет адгезию молоди мидий и приводит к их откреплению от субстратной поверхности. Акустическая кавитация, вызванная ультразвуком мощностью 50 Вт и частотой 42 кГц, стимулирует адаптивное поведение моллюсков, приводящее к формированию друз и прочное прикрепление к поверхности. Рассмотрена возможная роль TRP- и Ріего-каналов в регуляции адгезии у мидий. Ключевые слова: *Mytilus galloprovincialis*, ультразвук, адгезия, механорецепторы, TRP-каналы,

Ключевые слова: Mytilus galloprovincialis, ультразвук, адгезия, механорецепторы, TRP-каналы, Piezo-каналы.

Поступила в редакцию: 01.10.2023. После доработки: 30.11.2023.

Введение. Средиземноморская мидия Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) – это двустворчатый моллюскфильтратор с внешним оплодотворением, один из массовых видов малакофауны, формирующий обширные поселения на различных типах субстрата в прибрежных районах Черного моря. Данный вид составляет основу прибрежного пояса биофильтра и широко используется в марикультуре. В период нереста личинки мидии в течение 4 недель ведут планктонный образ жизни, проходя несколько стадий развития от велигера до великонхи, прежде чем моллюски достигнут размера 3-5 мм и прикрепятся к субстратным поверхностям с помощью биссусных нитей. После осаждения мидии не остаются постоянно на одном месте, но способны медленно перемещаться по субстрату с помощью мускулистой ноги, что позволяет моллюскам перегруппировываться в колонии (щетки и друзы) для более эффективного противодействия неблагоприятным условиям в период штормов. Кроме того, мидии способны регулировать силу прикрепления к субстрату, втягивая часть биссусных нитей внутрь створок, что важно для нормального выживания особей на твердых субстратах в прибойной зоне [1].

Мидии наряду с другими моллюсками (митилястер, дрейссена и др.) входят в состав сообществ обрастания (перифитона). Помимо заселения естественных субстратов, формирование и развитие перифитона (микро- и макрофиты, моллюски, усоногие раки, трубчатые полихеты, асцидии и пр.) часто происходит на элементах систем технического водоснабжения электростанций, на корпусах судов, а также иных типах гидротехнических объектов и оборудования, контактирующего с водной средой. Таким образом, морское обрастание представляет собой одновременно и экологическое, и антропогенно-технологическое явление, которое лежит в основе экологотехнологической концепции биоповреждений [2].

Использование ультразвукового воздействия занимает одно из важных мест среди физических методов борьбы с биообрастаниями. Исследования по этой проблеме ведутся уже около 60 лет [3]. Воздействие ультразвуковых (УЗ) колебаний способно оказывать заметное влияние на силу и характер адгезии личинок и молоди моллюсков и усоногих ракообразных к субстрату, что используется для борьбы с нежелательным биообрастанием [3-5]. Известно, что степень гибели организмов перифитона (личинки и молодь моллюсков, балянусов, полихет и др.) зависит от частоты, давления, мощности, а также от продолжительности воздействия ультразвуковых волн [6, 7]. Обработка поверхностей излучением частотой 13-27 кГц и мощностью от 0,1 до 2-3 кВт вызывает образование кавитационных пузырьков в тканях гидробионтов, что снижает их способность к оседанию на субстрат и последующему росту [2]. При этом процент гибели лимидий усоногих чинок И раковбалянусов резко возрастает, когда величина давления ультразвука достигает 0,1-3 бар [3, 6].

С учетом вышесказанного, изучение адгезии моллюсков-обрастателей в экспериментальных условиях под влиянием ультразвука, важно как в научнотеоретическом плане – для выявления структурно-биохимических механизмов регуляции подобных поведенческих откликов мидий на внешние воздействия, так и в практическом – для возможной оптимизации условий, определяющих процессы оседания и роста личинок мидий на искусственных субстратах в марикультуре.

Цель работы. Провести сравнительные исследования по оценке влияния акустической кавитации и ультразвукового воздействия разной частоты на адгезивное поведение молоди мидии в разных экспериментальных условиях и выявить биофизические механизмы управления процессами адгезии.

Задачи: 1) Оценить долю открепившихся мидий в разных по объему и форме экспериментальных сосудах при различных режимах ультразвукового воздействия;

2) Построить регрессионные модели изменения степени адгезии молоди мидий к субстратной поверхности в зависимости от режима ультразвукового воздействия и длительности опытов;

3) Выявить механорецепторные протеины, играющие роль в адгезивных способностях мидий при воздействии УЗ, построить и описать пространственные (3D) модели TRP- и Рiezo-каналов, отвечающих за восприятие гидродинамических импульсов у мидий при воздействии ультразвука.

Материалы и методы. Молодь мидии M. galloprovincialis отбирали в мартеапреле 2023 г. с субстратных поверхностей (толстые полипропиленовые канаты) на аквакультурной ферме возле лабораторного корпуса ИнБЮМ РАН (Карантинная бухта, г. Севастополь). Собранный материал промывали морской водой, удаляли мертвых и раскрытых моллюсков. Для каждой серии экспериментов по изучению адгезии мидий в разных по форме и объему емкостях при обработке УЗ, использовали по 100 особей размером 3-5 мм. Моллюсков, разделенных на две группы (экспериментальную и контрольную) по 50 особей в каждой, помещали в стеклянные кристаллизаторы объемом 50 мл или стаканы объёмом 150 мл с естественной морской водой, эксперименты проводили в 3 повторностях. Между контрольными и экспериментальными сосудами была установлена звукоизолирующая перегородка. Обычно через 30-60 минут после начала опыта мидии массово прикреплялись к стенкам и дну сосудов, что свидетельствовало об их интактности. В период опытов моллюсков подкармливали одноклеточными водорослями Isochrysis galbana. Подкормку моллюсков, аэрирование и смену воды в сосудах в течение эксперимента осуществляли 3 раза в неделю. В начале опытов температура воды в сосудах была 10-11°С, поднимаясь за период эксперимента до температуры помещения (18°С).

В экспериментах по изучению кавитации на молодь мидий использовали ультразвуковую ванночку YAXUN (42 кГц, 50 Вт). В опытах по акустическому воздействию в качестве генератора ультразвука применяли зуммер SFM-27 размером 30×16 мм на основе пьезоэлемента. Амплитудно-частотную характеристику (АЧХ) зуммера контролировали с помощью программы «Анализатор спектра звука» (версия 10.7). Управление колебаниями пьезоэлемента осуществляли с помощью макетной платы Arduino Nano на базе микроконтроллера ATmega328P со следующими параметрами: тактовая частота 16 МГц, выходное напряжение 5 В и ток 200 мА. С помощью управляющей программы обеспечивалось периодическое изменение УЗ от 1 до 30 кГц и обратно с шагом 1 Гц и длительностью сигнала на каждой частоте 1 мкс.

Результаты влияния УЗ на способность мидий к адгезии оценивали 2-3 раза в нелелю. Для этого милий из экспериментальных сосудов однократно промывали морской водой и подсчитывали на мелком сите количество открепившихся моллюсков, затем рассчитывали их долю (%) от общего числа особей, исходно взятых в эксперимент и прикрепившихся к стенкам сосудов. Длительность отдельных опытов составляла до 12 суток. Всего проведено 6 независимых серий опытов, что обеспечивает воспроизводимость и достоверность полученных результатов. Статистическая обработка количественных данных, а также построение регрессионных моделей по результатам экспериментов выполнена на основе стандартных алгоритмов параметрического вариационного и регрессионного анализов, включенных в пакет MS Excel. Достоверность различий показателей состояния мидий в контроле и опыте при разных условиях эксперимента и длительности экспозиции оценивалась для уровня значимости *p*=0,05. Количественные показатели по сравниваемым выборкам моллюсков рассчитаны в виде средних арифметических со стандартной ошибкой средней.

Экспериментально – эмпирические данные по влиянию ультразвука на молодь мидий были дополнены теоретическим анализом строения протеинов и возможных механизмов, определяющих поведенческие реакции и адгезивные свойства моллюсков в опытах. Поиск механочувствительных рецепторов М. galloprovincialis осуществляли в 2 этапа внутри реляционной базы данных (National Center for Biotechnology Information, NCBI) [8], сначала по ортологичным матрицам NompC дрозофилы [9] и Piezo1 (6B3R) мыши [10], а затем используя один из гомологов для выявления семейства гомологичных протеинов внутри массива *M. galloprovincialis* (taxid:29158). Доменный анализ проводили в SMART [11]. Построены зависимости числа анкириновых повторов от числа аминокислотных остатков соответствующей полипептидной цепи. Множественное выравнивание полипептидов выполнено с помощью процедуры COBALT [12]. Пространственные модели белков конструировали на сервере Phyre2 [13].

Результаты и их обсуждение. Действие акустической кавитации на поведение мидий. В ходе экспериментов с использованием ультразвуковой уста-новки мидий помещали в стаканы объемом 150 мл и после прикрепления моллюсков к стеклу, опытные стаканы подвергали жесткому озвучиванию с частотой 42 кГц и прилагаемой мощностью 50 Вт. После 10 минут воздействия ультразвука и проявления в водной среде кавитационных явлений, часть исследуемых животных в экспериментальных сосудах откреплялась от стенок стакана, тогда как в контроле все мидии оставались прикрепленными к стенкам. При дальнейшем озвучивании в течение 60 мин и вызванной им акустической кавитации моллюски собирались в группы, и к концу опыта на дне экспериментального стакана образовывалась одна большая друза моллюсков, крепко прикреплённых к стеклу (рис. 1).



Puc. 1. Образование друз молоди мидий в сосудах: a) в контроле,
б) под действием кавитации после жесткой обработки ультразвуком
Fig. 1. Formation of juvenile mussels druses in vessels: a) in control,
b) under the influence of cavitation after hard ultrasound treatment

Длительное влияние низких уровней звука на адгезивное поведение мидий. В продолжительных экспериментах использован звуковой излучатель (баззер) SFM-27 с рабочими частотами от 1 до 30 кГц, генерирующий уровень звукового давления 85 дБ на резонансной частоте 2,5 кГц. После начала эксперимента молодь мидий оставляли для адаптации к новой среде без звука до прикрепления к стенкам сосуда, потом включали звук. Всего проведено 6 независимых серий экспериментов в разных ёмкостях: в кристаллизаторах объемом 50 мл и стаканах 150 мл. По результатам экспериментов с использованием разных сосудов, построены обобщенные линейные регрессионные модели, описывающие изменение доли (%) открепившихся мидий при разной длительности опыта (рис. 2).



Рис. 2. Открепление мидий от субстрата под воздействием звука в разных экспериментальных сосудах: **a** – кристаллизатор 50 мл, **б** – стакан 150 мл; обозначения:

кружки – контроль, треугольники – после обработки звуком **Fig. 2**. Detachment of mussels from the substrate under sound impact in different experimental vessels: \mathbf{a} – crystallizer, 50 ml; \mathbf{b} – glass, 150 ml; designations: circles – control, triangles – after sound treatment

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применяемое в длительных опытах действие звука имеет аддитивный характер и проявляется в изменении доли (%) открепившихся мидий. Действительно, при использовании ультразвукового воздействия повышенной мощности 50 Вт (как в случае с экспериментом по кавитации), но генерируемой при малой продолжительности (до нескольких минут), негативный эффект на адгезивную активность тестируемой группы мидий может быть выражен значительно слабее, чем при заведомо слабом (1-2 Вт), но продолжительном озвучивании. Наши результаты согласуются с данными других авторов, установивших, что степень гибели организмов-обрастателей (личинки и молодь моллюсков, усоногих ракообразных-балянусов, полихет и др.) зависит от частоты, давления и продолжительности воздействия ультразвуковых волн [2]. Так, процент гибели личинок балянусов (циприсов) на экспериментальных пластинах возрастает почти до 100% даже при кратковременном (до 1-2 мин) воздействии УЗ с частотой около 17 кГц и величиной акустического давления ультразвука до 1700 бар [3, 6].

В свою очередь, итальянские исследователи [14] отметили, что при использовании высокочастотной акустической стимуляции в диапазоне 100–200 кГц и с уровнем звукового давления от 145 до 160 дБ, в пищеварительном тракте мидий наблюдается изменение ряда биохимических параметров, таких как общее количество гемоцитов и уровень глюкозы, цитотоксическая активность и активность ряда ферментов (щелочной фосфатазы, эстеразы и пероксидазы).

Тем не менее, при непрерывном воздействии слабых (заведомо нелетальных) звуковых сигналов не получается надежно судить о степени подавляющего воздействия УЗ только по отсутствию выраответных откликов женных тесторганизмов. Так, при озвучивании ниже определенного порогового уровня, признаки ингибирующего воздействия у разных групп перифитона (усоногие ракибалянусы и микрофитобентос) могут отсутствовать, но при этом может возникать даже обратный эффект – стимулирование процессов развития и роста организмовобрастателей [15].

Идентификация механочувствительных каналов. В результате поиска по аминокислотной последовательности механорецептора NompC D. melanogaster [9] у M. galloprovincialis обнаружено 5 ортологов. Как следует из биоинформационного анализа, вероятность их ошибочного предсказания E_{value} достоверно мала, а длина аминокислотных последовательностей в обнаруженном семействе катионных TRP-каналов изменяется от 1157 до 1394 аа (табл. 1).

N⁰	Идентификатор	Макс. счёт	Общ. счёт	Покрытие запроса, %	Ожидание, значение Е	Идентичность, %	Длина, аа	Число анкириновых повторов
1	VDH91361.1	2439	2439	100	0,0	100	1171	15
2	VDI64650.1	419	644	82	5e ⁻¹²⁷	29,35	1157	16
3	VDI64648.1	420	645	82	9e ⁻¹²⁷	29,35	1214	18
4	VDI64649.1	417	524	79	2e ⁻¹²⁵	29,13	1222	16
5	VDI13976.1	328	538	90	2e ⁻⁹³	26,30	1394	16

Таблица 1. Катионные каналы переходного рецепторного потенциала M. galloprovincialis

У мидии зависимость числа анкириновых повторов от длины полипептидной цепи TRPканала носит линейный характер с коэффициентом корреляции R²=0,84 (рис. 3).



Рис. 3. Зависимость числа анкириновых повторов от длины полипептидной цепи TRP-каналов *M. galloprovincialis* **Fig. 3.** Dependence of the number of ankyrin repeats on the polypeptide chain length of *M. galloprovincialis* TRP-channels

Результат выравнивания гомологичных аминокислотных последовательностей катионных TRP-каналов демонстрирует присутствие вариаций на Nконцевом участке изучаемых белков, а также наличие консервативного кора ближе к С-концу, который соответствует области ионоселективного Ca²⁺ канала. Положение анкириновых повторов в Nконцевом сегменте изученных белков отличается у разных представителей TRP- семейства. Теоретически, это может быть обусловлено молекулярными механизмами рекомбинации, приводящими к случайным инсерциям и делециям. Отдельные представители семейства продемонстрировали некоторые отличия Сконцевого участка. Можно предположить, что различия в N- и С-областях катионных TRP-каналов обеспечивают их структурное и функциональное разнообразие у мидии (рис. 4).

Sequence ID	Start	1	200	400	600	800	1000	1200	1400 1560	End	Organism
VDH91361.1 VDI64650.1 VDI64648.1	1 1 1	***				- 	98 H99 -4 99 99 99 -1 99 99 99 1 99		8 88 84 84 9 98 - 84 9 98 - 84 9 98 - 84	1,171 1,157 1,214	Mytilus galloprovincialis Mytilus galloprovincialis Mytilus galloprovincialis
VDI64649.1 VDI13976.1	1	* *							1	1,222 1,394	Mytilus galloprovincialis Mytilus galloprovincialis



Fig. 4. Multiple alignment of amino acid sequences of the TRP-channel family in mussel M. galloprovincialis

Подобно вышеописанному исследованию TRP-каналов, поиск Piezo-каналов проводили по исходной матрице аминокислотной последовательности длиной 2171 аминокислотных остатков (аа) и координат атомов Piezo1 мыши (6B3R) в закрытой конформации с разрешением 3,7 Å [10]. Оказалось, что в геноме M. galloprovincialis с очень низкой верослучайного ятностью совпадения E_{value}=1e⁻¹¹² закодирован белок VDI27946.1 (2377 аа). Перекрывание с матрицей запроса составило 99% с идентичностью равной 33,12%.

Построение 3D-моделей белков. Для построения модели TRP-каналов использовали ранее найденные нами аминокислотные последовательности M. galloprovincialis и информацию по координатам отлельных атомоы из базы ланных PDB -Protein DataBank [16]. Пространственные модели TRP-каналов построены с 100% доверительностью и основаны на шаблоне механорецептора D. melanogaster. субъединицы TRP-канала Модель VDI13976.1 покрывает 1076 аминокислотных остатков, что составляет 77% длины его полипептидной цепи. В общей сложности 1244 остатка (89%) могут быть смоделированы с достоверностью свыше 90% при использовании нескольких шаблонов (рис. 5а). Обнаруженная последовательность Рiezo-канала VDI27946.1 также использована для создания 3-D модели одной субъединицы соответствующего белка (рис. 5б). Пространственная модель построена с 100% доверительностью и основана на шаблоне 6КG7, который представляет механочувствительный канал млекопитающих Piezo2 [17].



Рис. 5. Пространственные модели субъединиц механочувствительных белков *M. galloprovincialis*:
а) часть отдельной субъединицы TRP-канала VDI13976.1; б) субъединица Piezo-канала VDI27946.1, где спектральная окраска меняется от N- к C-концу полипептидной цепи Fig. 5. Spatial models of subunits of *M. galloprovincialis* mechanosensitive proteins:
a) part of separate subunit of the TRP channel VDI13976.1; b) subunit of the Piezo-channel VDI27946.1, where spectral coloration changes from the N- to the C-terminus of the polypeptide chain

Заключение. Проведенные эксперименты по действию ультразвука на адгезивную способность у молоди средиземноморской мидии *M. galloprovincialis* показали, что в широком диапазоне частот от 1 до 30 кГц и при интенсивности до 85 дБ звук вызывал выраженное ослабление адгезии и покидание моллюсками стенок сосудов разной формы и объема. При этом доля открепившихся моллюсков возрастает в зависимости от продолжительности экспериментов, что свидетельствует о аддитивном характере звукового воздействия, влияющем на процент открепившихся мидий.

По результатам опытов по влиянию акустической кавитации при воздействии УЗ с частотой 42 кГц и мощностью 50 Вт, у молоди мидий проявляется эмергентный поведенческий эффект, выразившийся в образовании друз и прочном прикреплении моллюсков к субстрату. Данный режим мощного гидроакустического воздействия, возможно, воспринимается мидиями как признак приближающегося шторма, тогда как слабые источники звука на низких частотах могут восприниматься животными скорее не как физические, а как биологические сигналы.

Результаты наших экспериментов в целом согласуются с полученными ранее результатами других исследователей и позволили дополнить и расширить накопленные данные по оценке влияния УЗ на степень резистентности и выживание разных групп перифитона. Опыты также показали, что существуют дополнительные факторы, влияющие на открепление мидий от субстрата, а также различия между особями, зависящие от индивидуальных вариаций в чувствительности моллюсков к действию звука. При этом малая прилагаемая мощность (около 1 Вт), может определять скорее управляющий характер действия звука на тест-объект в отличие от стрессового воздействия на мидий акустической кавитации при использовании УЗ-установки мощностью 50 Вт.

Поскольку чувствительность разных групп организмов перифитона к ультразвуковому воздействию различна, то подбор универсальных пороговых параметров для достижения наибольшего эффекта действия УЗ едва ли достижим. Необходимо проведение дополнительных исследований по изучению разнорежимного воздействия звука на выживание и развитие отдельных групп перифитонных организмов, колонизирующих субстраты в системах технического водоснабжения и иных типах гидротехнических объектов. Для повышения эффективности воздействия звука следует также учитывать и сезонные аспекты в сукцессионном процессе формирования ключевых видов перифитона на озвучиваемых субстратах.

У средиземноморской мидии M. galloprovincialis методами выравнивания гомологичных последовательностей обнаружены механочувствительные рецепторы – звуковые сенсоры, представляющие семейство из 5 TRP-каналов и 1 Ріего-канал, с помощью гомологического моделирования построены их 3D структуры. Полученные данные согласуются с результатами подобных исследований, выполненных на других объектах, таких как трихоплакс (Placozoa) [18] и гребневик (Ctenophora) [19]. Показано, что у мидии длина полипептидных цепей и количество анкириновых повторов в семействе TRP-каналов могут значительно варьировать. Результаты выполненного гомологического моделирования пространственных структур субъединиц отдельных TRP-канала VDI13976.1 и Ріего-канала VDI27946.1 не оставляют сомнений в правильности их аннотации.

Полученные результаты могут быть использованы как для оптимизации режимов ультразвуковой обработки поверхностей в системах гидротехнического оборудования с целью предотвращения их нежелательной колонизации организмами перифитона, так и для более детального изучения структуры механорецепторов и роли TRP- и Piezo-каналов в регуляции адгезии у молоди мидий. Работа выполнена по темам государственных заданий ФИЦ ИнБЮМ: «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах для разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ 121030300149-0) и «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и иных районов Мирового океана» (№ 121030100028-0).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. Выращивание мидий и устриц в Чёрном море. 2-е издание, дополненное. Воронеж: ООО «Издат-Принт». 2017. 508 с.

2. Звягинцев А.Ю., Полтаруха О.П., Масленников С.И. Обрастание морских систем технического водоснабжения и анализ методов защиты от обрастания в водоводах (аналитический обзор) // Вода: химия и экология. 2015. № 1. С. 37–60.

3. Долгопольская М.А. Аксельбанд А.М. Действие ультразвуковых колебаний на организмы морских обрастаний и процесс обрастания // Тр. Севаст. Биостанции. 1964. Т. 17. С. 309–324.

4. Протасов А.А., Семенченко В.П., Силаева А.А., Тимченко В.М., Бузевич И.Ю., Гулейкова Л.В., Дьяченко Т.Н., Морозова А.А., Юришинец В.И., Ярмошенко Л.П., Примак А.Б., Морозовская И.А., Масько А.Н., Голод А.В. Техно-экосистема АЭС. Гидробиология, абиотические факторы, экологические оценки / ред. А.А. Протасов. Киев: Институт гидробиологии НАН Украины. 2011. 234 с.

5. Мороз Н.А., Неврова Е.Л., Замыслова Т.Н., Касьянов А.Б., Петров А.Н., Ревков Н.К. Методы борьбы с биообрастаниями на атомной электростанции // Проблемы создания защитных покрытий нового поколения от коррозии, биообрастания и обледенения для морских, береговых и сухопутных объектов / ред. М.И. Орлова, В.А. Родионов. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГЭУ. 2021. Гл. 6. С. 94–103.

https://elibrary.ru/item.asp?id=47360095

6. *Sudsuki H.* Basic studies on the antifouling by ultrasonic waves for ship's bottom fouling organisms // Journal of Tokyo University of Fishery. 1970. Vol. 5–6. No. 1–2. P. 31–48.

7. Полтаруха О.П. Разработка методов борьбы с обрастанием морского водовода для АЭС «Куданкулам» // Экологические проблемы биодеградации промышленных, строительных материалов и отходов про-изводства: Труды III Всероссийской науч.-техн. конф., Пенза: Приволжский дом знаний. 2000. С. 27–29.

8. Sayers E.W., Beck J, Bolton E.E., Bourexis D., Brister J.R., Canese K., Comeau D.C., Funk K., Kim S., Klimke W., Marchler-Bauer A., Landrum M., Lathrop S., Lu Z., ... Sherry S.T. Database resources of the National Center for Biotechnology Information // Nucleic Acids Research. 2021. Vol. 8. No. 49 (D1). D10–D17. doi: 10.1093/nar/gkaa892

9. Jin P., Bulkley D., Guo Y., Zhang W., Guo Z., Huynh W., Wu S., Meltzer S., Cheng T., Jan L.Y, Jan Y.N, Cheng Y. Electron cryo-microscopy structure of the mechanotransduction channel NOMPC // Nature. 2017. Vol. 6. No. 547 (7661). P. 118–122. doi: 10.1038/nature25681

10. *Guo Y.R., MacKinnon R.* Structurebased membrane dome mechanism for Piezo mechanosensitivity // Elife. 2017. Vol. 12. No. 6. e33660.

doi: 10.7554/eLife.33660

11. *Rigden D.J., Fernández X.M.* The 2021 Nucleic Acids Research database issue and the online molecular biology database collection // Nucleic Acids Research. 2021. Vol. 8. No. 49 (D1): D1–D9.

doi: 10.1093/nar/gkaa1216

12. Papadopoulos J.S., Agarwala R. COBALT: constraint-based alignment tool for multiple protein sequences // Bioinformatics. 2007. Vol. 1. No. 23 (9). P. 1073–1079. doi: 10.1093/ bioinformatics/btm076

13. *Kelley L.A., Mezulis S., Yates C.M., Wass M.N., Sternberg M.J.* The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis // Nat. Protoc. 2015. Vol. 10. No. 6. P. 845–858. doi: 10.1038/ nprot.2015.053

14. Vazzana M., Celi M., Maricchiolo G., Genovese L., Corrias V., Quinci E.M., de Vincenzi G., Maccarrone V., Cammilleri G., Mazzola S., Buscaino G., Filiciotto F. Are mussels able to distinguish underwater sounds? Assessment of the reactions of Mytilus galloprovincialis after exposure to lab-generated acoustic signals // Comp. Biochem. Physiol. and Mol. Integr. Physiol. 2016. Vol. 201. P. 61-70. doi: 10.1016/j.cbpa.2016.06.029

15. Неврова Е.Л., Петров А.Н., Мороз Н.А., Касьянов А.Б. Экспериментальное изучение воздействия ультразвука на микроперифитон искусственных субстратов с целью защиты от биопомех систем технического водоснабжения АЭС // Экологическая безопасность прибрежных и шельфовых зон моря. 2023. № 3. С. 98–113. EDN: JCUYKV.

16. Velankar S., Burley S.K., Kurisu G., Hoch J.C., Markley J.L. The Protein Data Bank Archive // Methods Mol. Biol. 2021. Vol. 2305. P. 3–21. doi: 10.1007/978-1-0716-1406-8_1

17. Wang L., Zhou H., Zhang M., Liu W., Deng T., Zhao Q., Li Y., Lei J., Li X., Xiao B. Structure and mechanogating of the mammalian tactile channel PIEZO2 // Nature. 2019. Vol. 573. No 7773. P. 225–229. doi: 10.1038/s41586-019-1505-8

18. *Кузнецов А.В., Гришин И.Ю., Втюрина Д.Н.* Пространственные модели пьезобелков и сетей белок-белковых взаимодействий у трихоплакса (Пластинчатые) // Молекулярная биология. 2023. Т. 57. № 5. С. 895–897. doi: 10.31857/S0026898423050075

19. *Кузнецов А.В., Втюрина Д.Н.* Пространственная реконструкция TRPСмеханорецепторов гребневика *Мпетiopsis leidyi* Agassiz, 1865 // Молекулярная биология. 2023. Т. 57. № 4. С. 726–735. doi: 10.31857/ S0026898423040122

STRUCTURE OF MECHANORECEPTION AND ADHESION CAPABILITY IN JUVENILE MUSSELS *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819) UNDER ULTRASOUND IMPACT

A.V. Kuznetsov^{1,2}, A.N. Petrov¹, A.V. Pirkova¹, E.V. Sergeeva²

¹The A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS,

RF, Sevastopol, Nakhimov Av., 2

²Sevastopol State University, RF, Sevastopol, Universitetskaya St., 33

The mussel *Mytilus galloprovincialis* contains a family of the TRP-channels with individual subunit chain lengths ranging from 1157 to 1349 aa, as well as one Piezo-channel with length of 2377 aa. Spatial models of the proteins are constructed that confirm their identification as mechanoreceptors. The mussels detach from the surface after extended exposure to sound with a frequency of 30 kHz and intensity of up to 85 dB. Acoustic cavitation induced by ultrasound with a power of 50 W and frequency of 42 kHz stimulates animal group activity, resulting in mussel druses formation and strong cohesion to the surface. The potential role of TRP- and Piezo-channels in adhesion control is discussed.

Keywords: Mytilus galloprovincialis, ultrasound, adhesion, mechanoreceptors, TRP-channels, Piezo-channels

REFERENCES

1. *Kholodov V.I., Pirkova A.V., and Ladygina L.V.* Vyrashchivanie midiy i ustritz v Chernom more (Cultivation of mussels and oysters in the Black Sea). 2nd Edition. Voronezh: Izd-vo "Izdat-print", 2017, 508 p.

2.. Zvyagintsev A.Yu., Poltarukha O.P., and Maslennikov S.I. Fouling on technical water supply marine systems and protection method analysis of fouling on water conduits (analytical review). Voda: khimiya i ekologiya, 2015, No. 1, pp. 37–60.

3. Dolgopolskaya M.A. and Akselband A.M. Deystvie ul'trazvukovykh kolebaniy na organyzmy morskykh obrastaniy i process obrastaniya (The effect of ultrasonic vibrations on marine fouling organisms and the fouling process). *Trudy Sevastopolskoy Biostancii*, 1964, Vol. 17, pp. 309–324.

4. Protasov A.A., Semenchenko V.P., Silayeva A.A., Tymchenko V.M., Buzevich I.Yu., Guleykova L.V., Dyachenko T.N., Morozova A.A., Yurishinets V.I., Yarmoshenko L.P., Primak A.B., Morozovskaya I.A., Masko A.N., and Golod A.V. Tekhnoekosystema AES. Hydrobiologiya, abioticheskiye factory, ekologicheskiye otsenki (Techno-ecosystem of the nuclear power plant. Hydrobiology, abiotic factors, ecological estimations). Ed. A.A. Protasov. Kyiv: Institute of hydrobiology NAS of Ukraine, 2011, 234 p.

5. Moroz N.A., Nevrova E.L., Zamyslova T.N., Kas'yanov A.B., Petrov A.N., and Revkov N.K. Metody bor'by s bioobrastaniyamy na atomnoy elektrostancii. In: Problemy sozdaniya zashchitnykh pokrytiy novogo pokoleniya ot korrozii, bioobrastaniya I obledeneniya dlya morskykh, beregovykh I sukho-putnykh ob'ektov (Biofouling control methods at NPP. In: Problems of developing new generation of protective coatings against corrosion, biofouling and icing for marine, coastal and onshore facilities). Ed. M.I. Orlova. SPb: Izd-vo SPBGEU, 2021, Chapter 6, pp. 94–103.

6. Sudsuki H. Basic studies on the antifouling by ultrasonic waves for ship's bottom fouling organisms. Journal of Tokyo University of Fishery. 1970, Vol. 5–6, No. 1–2, pp. 31–48.

7. *Poltarukha O.P.* Razrabotka metodov bor'by s obrastaniem morskogo vodovoda dlya AES "Kudankulam" (Development of anti-fouling methods of the marine conduit for Kudankulam NPP). In: Ekologicheskie problemy biodegradacii promyshlennykh, stroitelnykh materialov i otkhodov proizvodstva (Ecological problems of biodegradation of industrial and building materials and production waste). Proceed. of 3rd all-Russian Sci-tech. Conf., Penza, 2000, pp. 27–29.

8. Sayers E.W., Beck J, Bolton E.E., Bourexis D., Brister J.R., Canese K., Comeau D.C., Funk K., Kim S., Klimke W., Marchler-Bauer A., Landrum M., Lathrop S., Lu Z., ... and Sherry S.T. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. Nucleic Acids Research. 2021, Vol. 8, No. 49 (D1), D10–D17. doi: 10.1093/nar/gkaa892

9. Jin P., Bulkley D., Guo Y., Zhang W., Guo Z., Huynh W., Wu S., Meltzer S., Cheng T., Jan L.Y, Jan Y.N, and Cheng Y. Electron cryo-microscopy structure of the mechanotransduction channel NOMPC. *Nature*, 2017, Vol. 6, No. 547 (7661), pp. 118–122. doi: 10.1038/nature25681

10. *Guo Y.R. and MacKinnon R.* Structure-based membrane dome mechanism for Piezo mechanosensitivity. *Elife*, 2017, Vol. 12, No. 6, e33660. doi: 10.7554/eLife.33660

11. Rigden D.J. and Fernández X.M. The 2021 Nucleic Acids Research database issue and the online

molecular biology database collection. *Nucleic Acids Research*. 2021, Vol. 8, No. 49 (D1), D1-D9. doi: 10.1093/nar/gkaa1216

12. *Papadopoulos J.S. and Agarwala R.* COBALT: constraint-based alignment tool for multiple protein sequences. *Bioinformatics*, 2007, Vol. 1, No. 23 (9), pp. 1073–1079. doi: 10.1093/bioinformatics/btm076

13. Kelley L.A., Mezulis S., Yates C.M., Wass M.N., and Sternberg M.J. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. Nat. Protocol, 2015, Vol. 10, No. 6, pp. 845–858. doi: 10.1038/nprot.2015.053

14. Vazzana M., Celi M., Maricchiolo G., Genovese L., Corrias V., Quinci E.M., de Vincenzi G., Maccarrone V., Cammilleri G., Mazzola S., Buscaino G., and Filiciotto F. Are mussels able to distinguish underwater sounds? Assessment of the reactions of Mytilus galloprovincialis after exposure to lab-generated acoustic signals. Comp. Biochem. Physiol. and Mol. Integr. Physiol., 2016, Vol. 201, pp. 61–70. doi: 10.1016/j.cbpa.2016.06.029

15. Nevrova E.L., Petrov A.N., Moroz N.A., and Kas'yanov A.B. Eksperimentalnoye izuchenie vozdeystviya ultrazvuka na mikroperifiton isskustvennykh substratov s tsel'yu zashchity ot biopomekh system tekhnicheskogo vodosnabzheniya AES (Experimental study of ultrasound effect on microperiphyton of artificial substrates for fouling protection of NPP technical water supply systems). Ecological Safety of Coastal and Shelf Zones of Sea, 2023, No. 3, pp. 98–113.

16. Velankar S., Burley S.K., Kurisu G., Hoch J.C., and Markley J.L. The Protein Data Bank Archive. Methods Mol. Biol., 2021, Vol. 2305, pp. 3–21. doi: 10.1007/978-1-0716-1406-8_1

17. Wang L., Zhou H., Zhang M., Liu W., Deng T., Zhao Q., Li Y., Lei J., Li X., and Xiao B. Structure and mechanogating of the mammalian tactile channel PIEZO2. *Nature*, 2019. Vol. 573, No. 7773, pp. 225–229. doi: 10.1038/s41586-019-1505-8

18. *Kuznetsov A.V., Grishin I.Yu., and Vtyurina D.N.* Prostranstvennye modely piezobelkov i setey belok-belkovykh vzaimodeystviy u trikhoplaksa (Plastinchatye) Spatial models of piezo-proteins and web of the protein-protein interactions of the trihoplax (Placozoa). *Molekulyarnaya biologiya*, 2023, Vol. 57, No. 5, pp. 895–897. doi: 10.31857/S0026898423050075

19. *Kuznetsov A.V. and Vtyurina D.N.* Reconstruction of TRPC Mechanoreceptors of the Ctenophore *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865. *Molecular Biology*, 2023, Vol. 57, No. 4, pp. 755–763. https://doi.org/10.1134/S0026893323040106 B