В отчете отчетная информация по каждому пункту плана разбивается на разделы:

1.3. Сведения о фактическом выполнении годового плана работы (фактически проделанная работа, до 10 стр.)

1.4. Сведения о достигнутых конкретных научных результатах в отчетном году

(до 5 стр.)

1.5. Описание выполненных в отчетном году работ и полученных научных результатов для публикации на сайте РНФ (до 3 страниц текста, также указываются ссылки на информационные ресурсы в сети Интернет (url-адреса), посвященные проекту)

По каждому пункту пишется отчет максимум на страницу (ниже конкретные пожелания) «основного текста» (п. 1.3), 50% от этого объема для п. 1.4 и 25% для п. 1.5. Приветствуется иллюстративный материал (рисунки, таблицы) для Приложения к отчету. Все прошлые годы отчет подписывался в районе 10 декабря, значит, крайний срок для ваших текстов 3 декабря потому что их еще гармонизировать друг с другом и с планами.

Также:

1.10. Информация о представлении достигнутых научных результатов на научных мероприятиях (конференциях, симпозиумах и пр.) в формате: Diagnostics of bivalve transmissible neoplasia in Mytilus trossulus by Illumina amplicon sequencing. Skazina, M., Maiorova, M., Odintsova, N. & Strelkov, P., 2021, Bioinformatics: From Algorithms to Applications : Conference proceedings. СПб, стр. 56-57 (12-15 июля 2021, https://biata2021.spbu.ru/, устное выступление, докладчик Сказина М.А., онлайн)

Все кто делал доклады – предоставить побыстрее!

Планы на 2023, за каждый пункт которых нужно отчитаться.

1.1. Получены новые данные о распространении MtrBTN1 и MtrBTN2 в морях России. Обработаны сборы минимум из одного не обследованного ранее региона в европейском секторе и одного в тихоокеанском. Создана база данных по распространению DN и BTN у мидий в зарубежных морях.

Список изученных выборок из мало-обследованных и необследованных ранее регионов и результаты их изучения (Сочи от Майоровой, Балтика, северная Камчатка, Командоры, Парамушир, что забыл?); в двух словах как результаты соотносятся с опубликованными данными и имеющимися собственными заделами. Коротенько, до 1/2 страниц основного текста, плюс по возможности апгрейженная карта из прошлогоднего отчета (возможно общий блок карт с п. 1.4.2)– Сказина

Про базу на ¼ страницы врут Стрелков и Хайтов: им нужно сесть вдвоем, начерно провести и обобщить рез-ы библиографического анализа по оптимальной комбинации ключевых слов; привлечь Кожина, которому последнему пытались это поручить и который что-то нарыл.

1.2. Провести сравнительное исследование диссеминированной неоплазии (DN) мидий разной этиологии (MtrBTN1, MtrBTN2, спонтанная неоплазия) методами цитологии и гистологии. Проанализировать коллекции фиксированных тканей мидий с DN и BTN и контрольных здоровых мидий с Командорских островов и из Кольского залива (минимум 15 образцов). Провести анализ всех имеющихся данных, включая заделы Проекта 2019 по мидиям Охотского моря и Камчатки.

«Статья» Майоровой – Майорова на ½ страницы и если нужно иллюстрацию в приложение. Если планы расширять материал за счет свежих магаданских образцов актуальны – выяснить у Сказиной результаты цитометрии и генотипирования, сформировать интересную выборку, договориться о гистологии и упомянуть об этом усилии в тексте отчета.

1.3. Провести полевые исследования по изучению факторов среды, влияющих на заболеваемость мидий MtrBTN1 и MtrBTN2 в Охотском море. Подробно обследовать несколько поселений из точек рекогносцировочного исследования 2021 г. и минимум 5 новых поселений из контрастных местообитаний.

Это центральная часть отчета. Подробно, т.е. на страницу основного текста и на две страницы приложения – Хайтов; Сказина в части результатов генотипирования

1.4.1. Обобщить и, по возможности, опубликовать имеющиеся сведения о MtrBTN в Кольском заливе Баренцева моря, включая: генотипы MtrBTN по стандартному набору диагностических локусов (COI, CR, EF1a) и по перспективному маркеру – онкосупрессору p53; генотипы избранных мидий-хозяев (помимо COI, CR, EF1a и p53 также маркеры KASP); карты распространения DN и MtrBTN. На этих данных проверить гипотезы о недавней инвазии линий MtrBTN с Дальнего Востока, о возможности заражения MtrBTN1 гибридов M. edulis и M. trossulus и о диагностической значимости p53.

Тезисно, что в статье, но без акцента на результаты по мтДНК рекомбинации, которыми в первую очередь закрывается п. 2.3.

1.4.2. Продолжить поиск MtrBTN у Кольских мидий, в том числе в разные сезоны года.

Кратко (1/4 основного текста) вся статистика по старым и новым выборкам/ракам, в Приложение график с сезонностью (в сборах разных сезонов года - доля раковых, доля MT по язычкам, обилие мидий в пробах, их весовой индекс), по возможности апгрейженная карта (возможно общий блок с п. 1.1). Сказина, Стрелков. Для последних сборов нет язычков – Гридина?

1.5. Провести анализ уже секвенированных транскриптомов гемолимфы и мышечных тканей мидий, инфицированных MtrBTN и контрольных здоровых мидий. По этим данным провести анализ дифференциальной экспрессии генов между тканями одних и тех же особей, а также разных особей. Для MtrBTN и мидий-хозяев определить генотипы SNP и проанализировать их с использованием стандартных методов популяционной геномики и филогенетики. Отталкиваясь от результатов, спланировать дальнейшее исследование и провести секвенирование не менее 10 новых образцов.

Врать, что новые транскриптомы сделаны, но не обработаны, результаты обработки имеющихся коллекций – Юрченко, до страницы основного текста и сколько надо в Приложение.

1.6. Провести эксперименты по культивированию опухолевых клеток моллюсков, инфицированных разными линиями MtrBTN (не менее трех культур) и гемоцитов контрольных здоровых мидий. Клетки из культур, которые доживут до конца эксперимента, заморозить в жидком азоте, чтобы в 2024 г. проверить их жизнеспособность после разморозки.

Одинцова, Майорова, до ½ страницы основного текста с упоминанием рез-в прошлых экспериментов. Генотипы раков спросить у Сказиной, если предоставляли образцы, если нет, не забыть это сделать а пока сказать, что этиология не известна.

1.7. Методами проточной цитометрии гемолимфы и (или) гистологии тканей и генотипирования гемолимфы и мышечных тканей по COI (“COI тест на гетероплазмию”) проверить гипотезы о DN и BTN у Cerastoderma edule, Mya japonica, Spisula sachalinensis, Glycymeris yessoensis и по возможности нескольких других массовых и коммерческих видов двустворок.

Тезисно, что сколько откуда смотрели и что ничего не нашли – Майорова, Сказина, до ¼ основного текста. Отдельный абзац об участии в исследовании раков иностранных Cerastoderma с включением собственных выборок, в которых опять же рак не нашли, до ¼ основного текста - Сказина.

2.1. Используя полученные ранее данные, необработанные коллекции 2021 г. и новые сборы, описать распределение генотипов M. edulis, M. trossulus и их гибридов в вершине Кольского залива. На этих данных проверить гипотезы проекта о существовании в самой вершине залива рефугиума M. trossulus и об избытке гибридов в местах с экстремально низкой соленостью.

Тезисно, по совокупности старых и новых данных с указанием что все что могли собрали еще не дообработали, желательно показать на карте, ¼ основного текста – Гридина

2.2. Дополнить и обобщить данные по пространственно-временной динамике мидий M. edulis и M. trossulus в симпатрии в Белом и Баренцевом морях. Подготовить рукопись статьи по демографической и таксономической структурам смешанных поселений видов в губе Тюва Кольского залива и по долгосрочной динамике мидий района Тювы. На основании полученных ранее данных и новых данных по 9 мониторинговым беломорским поселениям построить две модели: модель, описывающую многолетнюю динамику таксономического состава поселений и модель, описывающую многолетние изменения обилия мидий и их демографической структуры в плотных поселениях как функции от их таксономического состава.

Тюва тезисно, что в статье; Хайтов свою динамику на пол страницы основного текста и одну страницу иллюстраций в приложении, если нужно

2.3. Для мидий (M. edulis, M. trossulus) c известными генотипами 16S мтДНК и мультилокусными генотипами KASP изучить полиморфизм контрольного региона мтДНК в соматических и герминативных тканях. На этом материале проверить гипотезы о наследовании FM-мтДНК. Изучить полиморфизм мтДНК в выборках, изученных KASP в рамках задачи 2.4.

Пол страницы текста и одну страницу иллюстраций, одну для 2.3 и 2.4 - Гридина и Сказина (коли новые результаты скудные то акцент на то, что вошло в статью)

2.4. Генотипировать по 10-15 таксономически информативным маркерам (включая маркеры KASP) выборки мидий (M. edulis, M. trossulus) из мест с разной соленостью в Белом и Баренцевом морях (всего не менее 150 генотипов). Используя новые и старые данные, описать разнообразие гибридов внутри и между выборками, изучить согласие между ядерными и мтДНК генотипами и выяснить, на какой стадии гибридизации блокируется интрогрессия мтДНК.

Пол страницы текста и одну страницу иллюстраций, вероятно одну для 2.3 и 2.4 – Гридина

2.5. Продолжить генотипирование (мтДНК, микросателлиты) коллекционных сборов беломорской сельди 2021 года с числом позвонков менее 56 (т.е. с фенотипом C. pallasii). На новых и старых данных проверить гипотезу об интрогрессии МтДНК и ядерных генов от C. harengus к беломорской C. pallasii. По возможности, провести новые ловы беломорской сельди на нерестилищах.

Пол страницы текста и одну страницу иллюстраций - Стрелков, Сказина. От Маши – описание методики рестрикции и иллюстрация ее рез-в.

Задачи на 24 год отталкиваясь от того, что сделано и что обещали сделать к концу 25 года.

Приглашаю желающих встретиться 16 декабря обсудить конкретику.

*(3.1. План работы на 2024 год (в том числе указываются запланированные командировки по проекту), до 5 стр. 3.2. Ожидаемые в конце 2024 года конкретные научные результаты (форма изложения должна дать возможность провести экспертизу результатов и оценить степень выполнения заявленного в проекте плана работы), до 5 стр.)*

*Ниже генеральные планы проекта, в рамках которых (плюс-минус) формулируются задачи на год, где возможно с привякой к промежуточным рез-м 23 года.*

Ожидаемые результаты проекта.

1.1. Изучено распространение двух линий трансмиссивного рака мидий (MtrBTN1, MtrBTN2) в морях России, на этих и литературных данных по другим морям выявлены макрогеографические паттерны в их распространении и специфичность к видам-хозяевам. Анализ географических данных в том числе проведен по методологии, разработанной для моделирования экологических ниш «обычных» организмов (Species distribution modelling, SDM).

Обсудить возможность расширения области исследования, будем ли повторять мантру типа «*Получены новые данные о распространении MtrBTN1 и MtrBTN2 в морях России. Обработаны сборы минимум из одного не обследованного ранее региона в европейском секторе и одного в тихоокеанском*».

Можно говорить с Данилиным о Чукотке, Курилах, Камчатке т.пр. Думать, чем могут помочь выборки из теоретически доступных Татарского пролива и Русской Гавани (однокурсник Туранова – в Русской Гавани; самому Туранову нужно будет ловить креветку в Татарском проливе в октябре-ноябре). С Кунашира, где опять будет работать Настя Полетаева. С южного Сахалина, где будут работать москвичи включая Иру Екимову. Еще пришел за специализацией второкурсник Миша из Севастополя, он знает за ту бухту где Андреева и ко отмечали DN у мидий.

Остается крест обобщать литературные данные, вопрос как спланировать эту трудоемкую, как любая теоретическая, работу?

1.2. Проведено сравнительное исследование диссеминированной неоплазии (DN) мидий разной этиологии (MtrBTN1, MtrBTN2, спонтанная неоплазия) методами цитологии и гистологии. В частности, клетки MtrBTN разных линий охарактеризованы по размерам, плоидности и размерам ядер внутри и между популяциями мидий, а также у одних и тех же особей.

Это должно было быть сделано, по заявляемым планам разных лет, два раза. Майорова пускай доделывает, что может, включая промеры гемоцитов и мы вместе решаем, как это обобщать; я предлагал искать помощь у Виллальбы. Целесообразность включения новых магаданских фиксаций стоит обсудить, тем более что появились знания об этиологии болезни у некоторых из них.

1.3. Выявлены факторы среды, определяющие заболеваемость мидий MtrBTN в анцестральном для MtrBTN1 и MtrBTN2 ареале в Охотском море, где обе линии встречаются с «уловимой» частотой. Построена множественная регрессионная модель, в которой зависимой переменной выступает частота больных мидий в популяциях, а в качестве предикторов разнообразные характеристики популяций мидий и их местообитаний.

Материал собран и начерно обработан; Обещать полностью закончить теоретический анализ по имеющимся данным – Хайтов?

1.4. Подробно изучены инвазивные штаммы MtrBTN в Кольском заливе Баренцева моря. Получены ответы на вопросы о возможности заражения MtrBTN1 M. edulis и гибридов между M. edulis и M. trossulus, об особенностях мтДНК изменчивости у MtrBTN в инвазивном ареале и о сезонности заболеваемости мидий в Арктике.

Отталкиваясь от уже собранного материала, обсудить целесообразность продолжения исследования. Карта распространения рака в заливе, возможно, должна включать данные не только о видопринадлежности но и об обилии мидий, что (тоже) трудоемко.

1.5. Изучена генетическая изменчивость линий и штаммов MtrBTN и родительского для рака вида, M. trossulus, в российских морях. Географические популяции MtrBTN в частности охарактеризованы по последовательностям мтДНК локусов COI и контрольного региона (CR) и ядерного локуса EFalpha и по полиморфизмам, выявляемым в транскриптомах тканей больных мидий. Также проведем анализ дифференциальной экспрессии генов между разными тканями одних и тех же зараженных MtrBTN особей, а также разных особей.

Это нужно заявлять как обработку уже полученных данных. Здесь на самом деле две разные работы, в разной степени готовности.

(1) Очередная своевременно не ненаписанная статья (Сказиной) о рез-х NGS COI, CR и EFalpha для оценки внутри- и межиндивидуальной изменчивости MtrBTN и (2) Завершение секвенирования транскриптомов и обобщение результатов их анализа с прицелом на публикование до конца срока проекта (Юрченко). Никаких предложений по интенсификации процесса, кроме как от Юрченко подключить Туранова, не имею. Туранов согласен.

1.6. MtrBTN изучена in vitro, проведены эксперименты по созданию долгоживущей культуры опухолевых клеток с использованием разных линий и штаммов.

Вопрос к Одинцовой и Майоровой, достаточно ли полученных результатов для публикации? Могут ли они ее сделать? Пускай на русском для Биологии моря или какой Цитологии, но чтобы не пропало.

1.7. Проверены гипотезы о наличии BTN у других массовых и коммерческих видов Bivalvia морей России, кроме Mytilus, как видов, у которых BTN уже отмечен за рубежом (Mya, Macoma, Cerastoderma, Polititapes), так и не исследованных видов.

Нужно серьезно обсудить эту работу.

**Во-первых**, обсудить друг с другом и с дальневосточными коллегами, можно ли замахнуться на «фауну» крупных моллюсков какого-либо тихоокеанского района

- Авачинская бухта с помощью Данилина

- район биостанции Восток с помощью водолаза-натуралиста Кости Дудко и, очевидно, того же Данилина

- глубоководная фауна, которую изучают в лаборатории Туранова (руководитель Лисициной Каменев получает всех двустворок из рейсов, за планирование рейсов отвечает заведующая Турановской лаборатории Даутова

- с местными коллегами о Керетском архипелаге и (или) Дальних Зеленцах.

Я допускаю, что это была бы хорошая целевая работа для Маши Майоровой с пристегнутыми помощниками.

**Во-вторых**, у нас есть богатые сборы церастодермы, и их можно расширить; обработка этих сборов с новым тестом для CerBTN (DOI: 10.2139/ssrn.4595284) оправдало бы работу Кожина с этим видом.

**В-третьих**, раком болеют Macoma balthica в Вислинском заливе и, мне кажется, я понял как их там добыть. Мы можем их зачем-нибудь как-нибудь изучить. Навскидку: поискать рак в Финском заливе и в других географических популяциях в дополнение к уже изученным Магадану, Мурману и сам не помню откуда (было ли Приморье); секвенировать транскриптомы раковых маком для сравнения с архивными транскриптомами просто маком из разных популяций.

2.1. Дополнены и обобщены данные по динамике мозаичной гибридной зоны между M. edulis и M. trossulus в Кольском заливе Баренцева моря. Проверена гипотеза о существовании в опресненной вершине залива рефугиума M. trossulus с характеристиками, схожими с балтийской мидией.

Обещать обработать то, что собрано, но осталось не обработанным. В качестве формального итога хочу видеть полностью оформленную первичку.

2.2. Дополнены и обобщены данные по пространственно-временной динамике мидий M. edulis и M. trossulus в симпатрии в Белом и Баренцевом морях. Проведены наблюдения на точках регулярных наблюдений, а также в точках исторических исследований, от которых остались коллекции, пригодные для таксономического анализа.

Хайтов все равно будет продолжать мониторинг; оформленные массивы данных ему надо публиковать. Есть еще недопереваренные «довески к Тюве» (распределение видов по субстратам, вековая динамика мидий на Мурмане) которые, с точки зрения целей проекта, второстепенны, но могут быть важны для закрытия публикационного плана и для Гридиной, с карьерной точки.

2.3. Изучены нарушения двоякого однородительского наследования мтДНК у мидий (M. edulis, M. trossulus) в Белом и Баренцевом морях. Изучено разнообразие и распространение FM-мтДНК, проверены гипотезы о наследовании FM-мтДНК.

Лагерный нужно доделать, даже если придется кого-нибудь клонировать (придется?). Сверх этого иерархия задач – изучить мтДНК в KASP-типированной беломорской выборке (Зеленый мыс). А вот дальше я бы подумал о двух вещах. (1) Бесконечные данные, накопленные со времен Маши-Насти, которые типа пока не пригодились, что с ними делать? (2) Заочный спор двух коллективов исследователей MtrBTN о районе происхождения МтДНК MtrBTN2 можно было бы продолжить, изучив мтДНК наследование у мидий из гибридной зоны между M. trossulus и M. galloprovincialis. Дальневосточных коллег можно озаботить поиском мешанных выборок. В Тихом океане, пока, это вообще никто не изучал по CR.

2.4. Дополнены и обобщены данные по разнообразию гибридных генотипов у мидий из Белого и Баренцева морей. Используя методы генотипирования и статистического анализа, позволяющие классифицировать гибридов на категории, описано разнообразие гибридов внутри и между выборками из разных местообитаний. Изучено согласие между видовыми ядерным и мтДНК генотипами, на этих данных выяснено, на какой стадии гибридизации блокируется интрогрессия мтДНК.

Этот пункт объединить с 2.3 и подумать о том, что для поиска интрогрессированных мтДНК, которые иголка в стоге сена, достаточно 16S.

2.5. Методами морфологического и генетического анализов новых и старых сборов нерестящейся беломорской сельди C. pallasii проверены гипотезы о заходах атлантической сельди C. harengus в Белое море и об изменении фенотипа беломорской C. pallasii под действием гибридизации и интрогрессии с C. harengus.

Для морфологии нужен Лайус, которого нет, но коллекции он с собой не забрал. Я с ним поговорю. Генетика через пень колоду, пока, делается Ариной.

2.6. Обобщены архивы Проекта 2019 по интрогрессированным популяциям Macoma и Clupea северной Европы и на этих данных проиллюстрировано явление "гибридного роя" как равновесной независимо эволюционирующей гибридогенной популяции.

«Норвежская» Clupea мною написана, но работа может сорваться из-за сложных соавторов. О Macoma страшно думать, но нужно.

**Resume. От нас в первую очередь ждут публикаций, из заделов ближе всего к оформлению**

Распространение ME/MT в Белом море по язычкам (2.2.) и норвежские селедки (2.6.).

Вопиют начерно готовые заделы по цитологии MtrBTN (1.2.; Майорова), внутри- и меж индивидуальной изменчивости MtrBTN по данным NGS трех локусов (1.5.; Сказина), динамике ME/MT в Белом море (2.2.; Хайтов), и долгосрочной динамике мидий на Мурмане (2.2., Гридина).

Из заделов, которые самые конъюнктурные и продолбать которые будет особо преступным – экологические паттерны распространения MtrBTN и их хозяев в Тауйской губе (1.3.), география MtrBTN (1.1., особенно если данные не войдут в другие работы), транскриптомика MtrBTN (1.5.) и гибридная зона между ME и MT в Кольском заливе (2.1.).