СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

V ЮБИЛЕЙНОЙ МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

«РАЗВИТИЕ И СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ АКВАКУЛЬТУРЫ» (КОНФЕРЕНЦИЯ «АКВАКУЛЬТУРА 2025»)

с. Дивноморское,
08 – 14 сентября 2025 г.

COLLECTION OF SCIENTIFIC PAPERS

V ANNIVERSARY INTERNATIONAL
SCIENTIFIC AND PRACTICAL CONFERENCE

"DEVELOPMENT AND MODERN PROBLEMS OF AQUACULTURE" ("AQUACULTURE 2025" CONFERENCE)

using remote technologies

Divnomorskoye,
September 08 – 14, 2025

Ростов-на-Дону | Rostov-on-Don
2025

УДК 001.891:378 (063)
Р17

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Б.Ч. Месхи – ректор Донского государственного технического университета, д-р техн. наук, профессор
Г.Г. Матишов – заместитель Президента Российской академии наук, научный руководитель ЮНЦ РАН, академик Российской академии наук
С.В. Бердников – директор Южного научного центра Российской академии наук, д-р геогр. наук
М.Т. Лионг – директор по медицинскому маркетингу компании Diprox, PhD (Китай)
А.Н. Неваленный – ректор Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный технический университет», д-р биол. наук, профессор
А.В. Неврединов – руководитель Евразийского аквакультурного альянса, руководитель комиссии по аквакультуре, академик Международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности (ООН)
Е.Н. Пономарева – главный научный сотрудник Южного научного центра Российской академии наук, д-р биол. наук, профессор
Д.В. Рудой – руководитель специализированной организации территориального кластера «Долина Дона» Ростовской области, декан факультета «Агропромышленный» ДГТУ, заведующий научно-исследовательской лабораторией «Центр агробиотехнологии» ДГТУ, д-р техн. наук, доцент
А.В. Ольшевская – заместитель декана факультета «Агропромышленный» ДГТУ, заместитель руководителя Центра развития территориального кластера «Долина Дона» ДГТУ, доцент кафедры «Технологии и оборудование переработки продукции агропромышленного комплекса» ДГТУ, канд. техн. наук
В.Н. Шевченко – заместитель декана факультета «Агропромышленный», старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Центр агробиотехнологии», доцент кафедры «Технологии и оборудование переработки продукции агропромышленного комплекса» ДГТУ, канд. биол. наук
Т.А. Мальцева – заведующий лабораторией «Биохимический и спектральный анализ пищевых продуктов», доцент кафедры «Техника и технологии пищевых производств» ДГТУ, канд. техн. наук
М.Ю. Одабашян – заместитель декана факультета «Агропромышленный» ДГТУ, руководитель Центра агробиоинженерии эфиромасличных и лекарственных растений, доцент кафедры «Технологии и оборудование переработки продукции агропромышленного комплекса» ДГТУ, канд. биол. наук (отв. ред.)

Р17 **Развитие и современные проблемы аквакультуры (Конференция «Аквакультура 2025»):** сборник научных трудов V Юбилейной международной научно-практической конференции (с. Дивноморское, 08 – 14 сентября 2025 г.) / ред. кол. Б.Ч. Месхи [и др.]; ДГТУ – Ростов-на-Дону: ДГТУ-Принт, 2025. – 152 с.

ISBN 978-5-6054727-7-3

Настоящий сборник издан по итогам V Юбилейной международной научно-практической конференции «Развитие и современные проблемы аквакультуры» (Конференция «Аквакультура 2025»).

В сборнике представлены научные работы, охватывающие широкий спектр вопросов рыбного хозяйства: от современных технологий выращивания гидробионтов до экономических и экологических аспектов развития аквакультуры в России. Особое внимание уделено анализу текущего состояния отрасли, ключевым проблемам и перспективным направлениям её развития. Актуальность и глубина представленных исследований в очередной раз подчеркивают стратегическое значение аквакультуры для обеспечения продовольственной безопасности страны и устойчивого развития агропромышленного комплекса.

Издание предназначено для ученых, преподавателей, аспирантов, студентов аграрных и технических вузов, а также для специалистов-практиков, работающих в области аквакультуры и рыбного хозяйства.

ISBN 978-5-6054727-7-3 © ДГТУ-Принт, 2025

УДК 577.2
ГРНТИ 34.29.17
DOI:10.23947/aquaculture.2025.50-53

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА АВСТРАЛИЙСКОГО КРАСНОКЛЕШНЕВОГО РАКА CHERAX QUADRICARINATUS (von MARTENS, 1868)

[1]Ковальчук Д.Ю., [1]Саркисян Д.С., [1]Чолутаева Э.Э., [1]Шевченко В.Н.

[1]Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация. Австралийский красноклешневый рак *Cherax quadricarinatus* является важным объектом аквакультуры и опасным инвазивным видом, что обуславливает необходимость в разработке эффективных методов его изучения и контроля. В данном обзоре проанализированы молекулярно-генетические методоы, применяемых для исследования данного вида. Рассмотрены ключевые подходы: от традиционных методов, таких как ДНК-баркодинг (гены COI, 16S рРНК) для видовой идентификации, ПЦР-ПДРФ и микросателлитные маркеры для анализа популяционной структуры, до современных технологий секвенирования нового поколения (NGS). Особое внимание уделено возможностям, открытых с появлением полногеномной сборки *C. quadricarinatus*, включая SNP-генотипирование для изучения особенностей популяционной геномики, транскриптомный анализ (RNA-Seq) для изучения экспрессии генов при стрессе и репродукции, а также перспективные технологии, такие как анализ экологической ДНК (eDNA) для мониторинга инвазий. Показано, что современные геномные методы создают основу для решения двуединой задачи: селекции хозяйственно-ценных признаков в аквакультуре и разработки стратегий контроля инвазивных популяций.

Ключевые слова. Молекулярно-генетический анализ, ДНК-баркодинг, секвенирование нового поколения (NGS), полногеномное секвенирование (WGS), SNP, транскриптомика, экологическая ДНК (eDNA), австралийский красноклешневый рак, аквакультура.

MODERN METHODS OF MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF AUSTRALIAN RED-CLAWED CRAYFISH *CHERAX QUADRICARINATUS* (von MARTENS, 1868)

[1]Kovalchuk D.Yu., [1] Sarkisyan D.S., [1]Cholutaeva E.E., [1]Shevchenko V.N.

[1]Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia

Abstract. The Australian red-clawed crayfish *Cherax quadricarinatus* is an important object of aquaculture and a dangerous invasive species, which necessitates the development of effective methods for its study and control. This review analyzes the molecular genetic methods used to study this species. Key approaches are considered: from traditional methods such as DNA barcoding (COI genes, 16S rRNA) for species identification, PCR-RDRF and microsatellite markers for population structure analysis, to modern next-generation sequencing technologies (NGS). Special attention is paid to the possibilities opened up with the advent of genome-wide assembly of *C. quadricarinatus*, including SNP genotyping to study the features of population genomics, transcriptomic analysis (RNA-Seq) to study gene expression under stress and reproduction, as well as promising technologies such as environmental DNA analysis (eDNA) for monitoring invasions. It is shown that modern genomic methods create the basis for solving a two-pronged task: breeding economically valuable traits in aquaculture and developing strategies for controlling invasive populations.

Keywords. Molecular genetic analysis, DNA barcoding, next generation sequencing (NGS), genome-wide sequencing (WGS), SNP, transcriptomics, ecological DNA (eDNA), invasive species, aquaculture.

Австралийский красноклешневый рак *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) является одним из наиболее значимых представителей пресноводной фауны Южного полушария. Эндемик северо-востока Австралии и юга Новой Гвинеи, вид получил широкую известность благодаря своим крупным размерам, высокой плодовитости и относительной неприхотливости [5, 6]. Эти качества определили его первоначальную ценность как перспективного объекта аквакультуры, культивирование которого было налажено во многих странах с тропическим и субтропическим климатом [5].

Однако наряду с хозяйственной ценностью распространение *C. quadricarinatus* за пределы естественного ареала привело к формированию устойчивых инвазивных популяций в регионах Юго-Восточной Азии, Южной Америки и Европы [3, 6]. Высокая пластичность вида, агрессивное пищевое поведение обуславливают его значительное негативное воздействие на локальные экосистемы, включая вытеснение аборигенных видов ракообразных, изменение местообитаний и передачу патогенов [6].

Традиционные методы, основанные на морфологической идентификации, зачастую оказываются недостаточно эффективными для решения ряда ключевых задач. Во-первых, молодые особи и гибридные формы могут не иметь четких диагностических признаков, что затрудняет раннее обнаружение их в природных водоемах [1, 3]. Во-вторых, для разработки эффективных стратегий контроля необходима точная реконструкция путей инвазии и идентификация источников интродукции, что невозможно без генетических маркеров [4, 6]. В-третьих, успешное развитие аквакультуры зависит от управления генетическими ресурсами, селекции хозяйственно-ценных признаков (такие как скорость роста, устойчивость к болезням и репродуктивная эффективность) и предотвращения инбридинга в культивируемых популяциях [4, 5].

Вышеуказанное обусловило необходимость активного внедрения и развития методов молекулярно-генетического анализа. Эволюция данных методов для *C. quadricarinatus* прошла путь от первоначального использования анализа митохондриальных генов (COI, 16S рРНК) и ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов) для видовой идентификации и филогенетических реконструкций [1, 2], через применение микросателлитных маркеров для изучения популяционной структуры и генетического разнообразия [1, 4], к настоящему времени — эпохе секвенирования нового поколения (NGS), которая открыла возможности для полногеномного анализа [7], транскриптомики [9, 10] и функциональной геномики.

Надежная идентификация вида представляет собой первостепенную задачу как для контроля инвазивных популяций, так и для эффективного управления ресурсами в аквакультуре. Наиболее широко распространенным и стандартизированным подходом для видовой идентификации является ДНК-баркодинг, основанный на анализе вариабельных участков митохондриального генома. Для ракообразных, включая *C. quadricarinatus*, «золотым стандартом» служит ген цитохром-с-оксидазы I (COI). Исследования продемонстрировали высокую дискриминационную способность этого гена для филогенетического анализа и четкого отделения *C. quadricarinatus* от других видов [2]. Помимо COI, для подтверждения таксономической принадлежности и решения спорных филогенетических вопросов активно используются гены рибосомной РНК 16S рРНК и 18S рРНК, характеризующиеся более низким уровнем вариабельности и пригодные для реконструкции более глубоких эволюционных взаимосвязей [1, 2].

В контексте мониторинга инвазий революционную значимость приобрела технология анализа экологической ДНК (environmental DNA, eDNA). Метод основан на обнаружении следов ДНК, выделенной из проб воды, что позволяет выявить присутствие вида без его физического отлова. Для количественной оценки количества копий целевой ДНК в пробе используется количественная ПЦР в реальном времени (qPCR). В настоящее время разрабатываются видоспецифичные праймеры и зонды для qPCR, нацеленные на митохондриальные гены *C. quadricarinatus*, что позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью детектировать вид в новых водоемах на самых ранних стадиях инвазии.

На начальных этапах молекулярных исследований *C. quadricarinatus* применялись методы, не требующие предварительного знания геномной последовательности, такие как RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) и ПЦР-ПДРФ. Эти подходы позволяли проводить первоначальную оценку генетического разнообразия и грубую дифференциацию популяций. Однако их недостатки, включая низкую воспроизводимость (RAPD) и опору на ограниченное число сайтов рестрикции (ПДРФ), ограничили их применение с появлением более передовых технологий [4].

Значительным шагом вперед стало внедрение микросателлитных маркеров (SSR — Simple Sequence Repeats). Эти участки коротких тандемных повторов, распределенные по всему геному, характеризуются высоким уровнем полиморфизма. Метод ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat), являющийся модификацией, также нашел применение в исследованиях внутривидового генетического разнообразия *C. quadricarinatus*.

Эра секвенирования нового поколения (NGS) открыла принципиально новые возможности для изучения *C. quadricarinatus*, позволив перейти от анализа ограниченного числа генетических маркеров к полногеномным исследованиям. Этот переход кардинально повысил разрешающую способность методов и глубину понимания популяционной структуры, генетического разнообразия и молекулярных механизмов, лежащих в основе хозяйственно-ценных признаков.

Ранние исследования генетической структуры популяций *C. quadricarinatus* целиком опирались на использование микросателлитных маркеров (SSR). Было показано, что культивируемые линии часто

характеризуются сниженным генетическим разнообразием вследствие эффекта основателя и инбридинга, что подчеркивало необходимость управления селекционными процессами [4, 5]. Сравнительный анализ автохтонных и инвазивных популяций, продемонстрировал, что инвазивные группы, как правило, имеют упрощенную генетическую структуру и являются производными от ограниченного числа источников, что указывает на эффект бутылочного горлышка при интродукции [6].

Однако подлинный прорыв в популяционных исследованиях произошел с внедрением подхода генотипирования по однонуклеотидным полиморфизмам (SNP). В отличие от микросателлитов, SNP-маркеры, получаемые с помощью методов NGS, представляют собой вариации в единичных нуклеотидах, распределенные с высокой плотностью по всему геному.

Фундаментальным достижением стало получение полногеномной последовательности (WGS) *C. quadricarinatus*. Работа Jiang et al. (2021), представившая первую хромосомную сборку генома этого вида, стала важным шагов в подобных исследованиях [7]. Наличие референсного генома высокой степени завершенности позволяет: идентифицировать гены, ответственные за ключевые признаки (авторы исследования выявили гены, ассоциированные с быстрым ростом, такие как гены семейства аквапоринов и участвующие в регуляции клеточного цикла [7]; изучать организацию и эволюцию генома (хромосомный уровень сборки открывает пути к исследованию крупных геномных перестроек, структуры половых хромосом).

Метод RNA-Seq (транскриптомное секвенирование) используется для анализа паттернов экспрессии генов в различных тканях, на разных стадиях развития или в ответ на воздействия окружающей среды. Например, исследование Cui et al. (2020) было сфокусировано на ответе *C. quadricarinatus* на тепловой стресс, выявив гены и сигнальные пути (например, шапероны), вовлеченные в термотолерантность [9]. В свою очередь, Shen et al. (2019) с помощью de novo сборки транскриптома идентифицировали гены, потенциально участвующие в определении пола и репродукции, что имеет критическое значение для разработки технологий монополого культивирования [10].

Проведенный анализ наглядно демонстрирует стремительное развитие методов молекулярно-генетического анализа австралийского красноклешневого рака *C. quadricarinatus*. Пройден путь от решения базовых задач видовой идентификации с помощью единичных маркерных генов (COI, 16S рРНК) и низкоразрешающих методов (RAPD, ПЦР-ПДРФ) к комплексным популяционно-геномным исследованиям на основе высокополиморфных микросателлитов и, наконец, к высокопроизводительному секвенирования (NGS). Качественный скачок в исследованиях стал возможен благодаря появлению хромосомной сборки генома [7], что превратило *Ch. quadricarinatus* в полноценную модель для функциональной геномики ракообразных.

Это методологическое развитие позволило перейти от констатации фактов к глубинному пониманию биологии вида. Сегодня методы молекулярной генетики являются неотъемлемым инструментом для решения двойной природы *C. quadricarinatus*. – как ценного объекта аквакультуры и как опасного инвазивного вида. С одной стороны, геномика и транскриптомика [7, 9, 10] открывают пути для селекции на хозяйственно-ценные признаки (скорость роста, устойчивость к болезням и стрессу), а также для разработки технологий контроля репродукции. С другой стороны, SNP-генотипирование и анализ eDNA предоставляют беспрецедентно точные инструменты для мониторинга и сдерживания инвазий, позволяя отслеживать пути расселения и выявлять виды-вселенцы на самых ранних стадиях.

Таким образом, современные методы молекулярной генетики не только углубили фундаментальные знания о *C. quadricarinatus*, но и создали прочный научный фундамент для разработки эффективных прикладных стратегий, направленных на максимальное использование его потенциала в аквакультуре и минимизацию ущерба от инвазий.

Исследование выполнено при поддержке гранта в рамках конкурса «Наука-2030».

Список использованных источников

1. Tan MH, Gan HM, Lee YP, Grandjean F, Croft LJ and Austin CM (2020) A Giant Genome for a Giant Crayfish (*Cherax quadricarinatus*) With Insights Into *cox1* Pseudogenes in Decapod Genomes. *Front. Genet.* 11:201.

2. Assis, Francine & Almeida, Thaís & Russell, Stephen & Schneider, Harald & Salino, Alexandre. (2016). Molecular Phylogeny and Recircumscription of the Fern Genus Pecluma (Polypodiaceae–Polypodiopsida). Phytotaxa. 247. 235. 10.11646/phytotaxa.247.4.1.

3. Kouba, A., Petrusek, A., & Kozák, P. (2014). Continental-wide distribution of crayfish species in Europe: update and maps. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, (413), 05.

4. Baker, N., Bruyn, M.D., & Mather, P.B. (2008). Patterns of molecular diversity in wild stocks of the redclaw crayfish (Cherax quadricarinatus) from northern Australia and Papua New Guinea: impacts of Plio-Pleistocene landscape evolution. Freshwater Biology, 53, 1592-1605.

5. Ruscoe, I. M., Williams, G. R., & Shelley, C. C. (2004). A review of the aquaculture potential of the Australian redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Parastacidae). *Freshwater Crayfish*, 14, 1-18.

6. Chen H, Zhang R, Liu F, Shao C, Liu F, Li W, Ren J, Niu B, Liu H, Lou B. The chromosome-level genome of Cherax quadricarinatus. Sci Data. 2023 Apr 17;10(1):215. doi: 10.1038/s41597-023-02124-z. Erratum in: Sci Data. 2023 May 23;10(1):313.

7. Yue, G. H., Wang, L., & Orban, L. (2008). Genome-wide identification and characterization of microsatellites in the genome of the redclaw crayfish (Cherax quadricarinatus). Journal of Applied Genetics , 49(3), 237-243.

8. Musgrove, L., Bhojwani, A., Hyde, C., Glendinning, S., Nocillado, J., Russell, F. D., & Ventura, T. (2024). Transcriptomic Analysis across Crayfish (*Cherax quadricarinatus*) Claw Regeneration Reveals Potential Stem Cell Sources for Cultivated Crustacean Meat. Preprints.

9. Liu, Z., Zheng, J., Li, H. et al. Genome assembly of redclaw crayfish (Cherax quadricarinatus) provides insights into its immune adaptation and hypoxia tolerance. BMC Genomics 25, 746 (2024). https://doi.org/10.1186/s12864-024-10673-9

10. Gutekunst, J., Andriantsoa, R., Falckenhayn, C., et al. (2018). Clonal genome evolution and rapid invasive spread of the marbled crayfish. *Nature Ecology & Evolution*, 2(3), 567-573.