

Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН

PONTUS EUXINUS
ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ : XI



ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ – 2019

XI Всероссийская научно-практическая конференция для молодых учёных по проблемам водных экосистем,

посвященная памяти д.б.н., проф. С. Б. Гулина

Материалы конференции

Севастополь, 23–27 сентября 2019 г.

Севастополь
ФИЦ ИНБЮМ

2019

После фиксации в глицерин-желатине необходимо максимально аккуратно перенести паразита на предметное стекло, плотно прижимая сверху покровным, чтобы срединный крючок оказался хорошо расправленным. Однако при сильном давлении можно повредить прикрепительный диск, и, следовательно, замеры его будет произвести невозможно.

Нами было промерено 35 особей *Gyrodactylus sphinx* из Карантинной бухты Севастополя и Геленджика с одного и того же хозяина *Aidablennius sphynx* (собачка-сфинкс). Схема измерений включала 39 линейных промеров структур прикрепительного диска и копулятивного органа. Достоверных различий размеров гиродактилюса в выборках с разных точек сбора не обнаружено. Для уплощенного тела фиксированного червя размеры тела в среднем около 380 мкм с диапазоном от 280 до 530 мкм. Размеры срединных крючков были следующие: общая длина 28,3-33 мкм, длина основной части 21,5-25 мкм, длина острия 14,7-16,7 мкм, длина внутреннего отростка 6,4-9,6 мкм. Спинная пластинка имела длину 8,8-11,8 мкм и ширину 1,3-2,5 мкм. Брюшная соединительная пластинка длиной 5-6,2 мкм, шириной 11,1-12,6 мкм, имеет «бороду» длиной 8,4-10,3 мкм, и уховидные отростки длиной 1,8-2,8 мкм. Копулятивный орган размерами 9,8-12,6 мкм на 3,5-3,7 мкм вооружен одним большим и семью маленькими крючками.

Морфологическая изменчивость является важной характеристикой вида, не только для его таксономической идентификации, но и для изучения модификационной изменчивости, определения первичности/вторичности хозяина, что позволяет сделать выводы не только о самом паразите, но и об его адаптациях к условиям окружающей среды.

Работа выполнена в рамках темы № АААА-А19-119060690014-5 гос. задания ФГБУН ИнБИОМ РАН.

Список литературы

1. Paladini G., Hansen H., Williams C. F., Taylor N. G. H., Rubio-Mejía O. L., Denholm S. J., Hytterød S., Bron J. E., Shinn A. P. Reservoir hosts for *Gyrodactylus salaris* may play a more significant role in epidemics than previously thought // *Parasites & Vectors*. 2014. Vol. 7. P. 576–[589]. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0576-5>
2. Dmitrieva E., Dimitrov G. Variability in the taxonomic characters of Black Sea gyrodactylids (Monogenea) // *Systematic Parasitology*. 2002. Vol. 51, iss. 3. P.199–206. <https://doi.org/10.1023/A:1014594614921>

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ВОДОЕМОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Рыжилова И.Ю.^{1,2}

¹Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ, г. Ростов-на-Дону

²Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН,
г. Севастополь

Ключевые слова: биолюминесценция, биолюминесцентные бактерии, штамм

Несмотря на достигнутый значительный прогресс в изучении светящихся бактерий, остаются неясными многие вопросы их видового состава и особенностей распространения в экосистемах.

Ежегодно исследователи разных стран мира открывают новые виды светящихся бактерий, но они по-прежнему остаются неизученными объектами, в частности, биолюминесцентные бактерии водоемов Ростовской области. Так как преимущественно

они обитают в соленой воде, то особый интерес представляет изучение их видового состава не только в морях, но и в соленых озерах [1].

Целью работы является выделение биолюминесцентных бактерий из водоемов Ростовской области и их последующая идентификация.

В качестве материала для исследования послужили пробы воды, отобранные из Азовского моря и озера Пеленкино, а также, выделенные из полученных проб воды, штаммы светящихся бактерий.

Для выделения биолюминесцентных бактерий из воды использовали метод мембранных фильтров, который является простым, точным и экономичным методом контроля уровня микробной загрязненности. Принцип метода прост: пробу воды фильтруют через мембранный фильтр, а содержащиеся в образце микроорганизмы задерживаются на фильтре, после чего фильтр помещают в чашку Петри на подобранную питательную среду и инкубируют при определенной температуре. Выделение люминесцентных бактерий проводили, периодически анализируя наличие биолюминесценции, - визуально или с помощью люминометра. Когда выявляли люминесценцию, чистую культуру микроорганизмов выделяли стандартными методами, отбирали и высевали светящиеся колонии.

Для предварительной идентификации выделенных штаммов применяли стандартные методы, используемые в микробиологии. Были исследованы их культуральные, морфологические (окраска, величина, форма отдельно растущих колоний) и биохимические характеристики (расщепление углеводов и аминокислот). Оптимальный температурный режим определяли, инкубируя выделенные колонии на среде LB с добавлением 3 % NaCl. Оптимальную концентрацию NaCl определяли на среде LB с добавлением различных количеств NaCl (0,5-10 %) [2].

Для диагностики биохимических характеристик использовались наборы стандартных коммерческих биотестов для идентификации бактерий API 20 NE (BioMerieux). Также определение биохимических показателей проводилось при помощи анализатора автоматического бактериологического Vitek® 2 Compact 30 (BioMerieux) с использованием карт VITEK® 2 GN (BioMerieux). Оксидазная активность определялась при помощи бумажных полосок Oxi-тест (Pliva-Lachema).

Для сопоставления чувствительности применили характеристику effective concentration (EC50), где EC50 - содержание вещества, при котором биолюминесценция бактериальной суспензии за 30 минут уменьшается вдвое. Чувствительность всех полученных штаммов светящихся бактерий протестировали в конкретных диапазонах концентраций, изучаемых токсикантов. Установленные данные позволяют определить величину EC50, сравнить чувствительность светящихся бактерий, которые применяют в традиционных биотестах по этому критерию.

Из выделенных 15 штаммов микроорганизмов, для дальнейшего исследования было отобрано всего 5 штаммов. В ходе работы проводился подбор оптимальных условий для роста биолюминесцентных бактерий.

Проанализировав полученные данные, были определены наиболее оптимальные условия, при которых наблюдается рост и свечение бактерий - температура +25 °С и концентрация NaCl 3 г/мл.

Далее было проведено окрашивание по Граму и были описаны культуральные и морфологические, а также биохимические свойства штаммов биолюминесцентных бактерий

В соответствии с рекомендациями по идентификации бактерий семейства Vibrionaceae [3] и на основании полученных диагностических признаков была проведена предварительная идентификация выделенных штаммов.

Анализ полученных данных и сопоставление со свойствами по определителю бактерий Берджи даёт основание отнести штаммы к следующим родам: 1 штамм -

Vibrio sp., 2 штамм - *Shewanella sp.*, 3 штамм - *Vibrio sp.*, 4 штамм - *Vibrio sp.*, 5 штамм - *Shewanella sp.*

В процессе дальнейшей работы проведена оценка чувствительности биолюминесценции светящихся бактерий (5-ти штаммов) к действию различных токсических веществ ($ZnSO_4$, $CuSO_4$, $K_2Cr_2O_7$ и SDS), на основании чего был отобран один штамм (№ 4), обладающий максимальной чувствительностью к широкому спектру токсикантов.

Необходимо отметить, что по полученным результатам чувствительность к действию токсикантов исследованных нами штаммов *Shewanella sp.* и *Vibrio sp.* намного выше чувствительности штаммов, используемых в коммерческих тест-системах для определения токсичности (*E. coli* С600 (рРВА-5), *Ph. phosphoreum* (Cohn) Ford., *E. coli*, тест-система «Эколюм»).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (грант № 6.2379.2017/ПЧ), РФФИ (проект № 17-04-00787).

Список литературы

1. Кацев А. М., Макемсон Дж. Идентификация светящихся бактерий, выделенных из Черного и Азовского морей // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. 2006. Т. 19 (58), № 4. С. 111–116.
2. Сазыкина М. А., Сазыкин И. С., Хаммами М. И., Журавлева М. В., Карчава Ш. К. Исследование динамики генотоксичности донных отложений Нижнего Дона с использованием биолюминесцентных сенсоров // Валеология. 2015. № 3. С. 47–51. <https://doi.org/10.18522/2218-2268-2015-3-47-51>
3. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. / под ред. Хоулта Дж., Крига Н., Снита П. и др. ; пер. с англ. ; под ред. Г. А. Заварзина ; 9-е изд. Москва : Мир, 1997. Т. 1. 430 с.; Т. 2. 800 с.

ВИДОВОЙ СОСТАВ, СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЗООПЛАНКТОНА ЮГО-ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ БАЛТИЙСКОГО МОРЯ

Семенова А.С.

Атлантический филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» («АтлантНИРО»), г. Калининград

Ключевые слова: биоразнообразие, Балтийское море, зоопланктон, эвтрофирование

Балтийское море обладает важным рекреационным, рыбохозяйственным и транспортным потенциалами. Смена периодов осолонения и опреснения во второй половине XX и начале XXI века на фоне климатических изменений (повышения температуры) и эвтрофирования отразилась на состоянии всей экосистемы моря. Зоопланктон важная составная часть экосистемы Балтийского моря, с одной стороны планктонные ракообразные основные потребители взвешенного органического вещества и фитопланктона, с другой стороны служат важным кормовым ресурсом для рыб Балтийского моря. Целью работы было изучение состава, структуры и функционирования зоопланктона юго-восточной части Балтийского моря. Материалом послужили пробы, которые отбирали в 1995-2018 гг. в ходе научно-исследовательских рейсов в юго-восточной части Балтийского моря на 15-35 станциях. Всего за период исследования было собрано и обработано более 1400 проб. Продукция ракообразных рассчитывалась по балансовому равенству [1]. Также были рассчитаны индикаторные