

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ФИТОПЛАНКТОННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Сегизбаева Гульсим Жалгасовна

канд. биол. наук, доц., Евразийский Национальный Университет имени Л.Н. Гумилева, Казахстан, г. Астана

Жакупова Кымбат Ботабаевна

магистрант 2 курса, специальность «Биотехнология», Евразийский Национальный Университет имени Л.Н. Гумилева, Казахстан, г. Астана

Modern methods of studying phytoplankton populations

Gulsim Segizbayeva

candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Eurasian National University named after L.N. Gumilyov, Kazakhstan, Astana

Kymbat Zhakupova

master student in Biotechnology, Eurasian National University named after L.N. Gumilyov, Kazakhstan, Astana

Аннотация. Планктон имеет первостепенное значение для оценки состояния водных экосистем, обусловленное его быстрым ответом на воздействия окружающей среды и антропогенный стресс. В целях управления качеством воды нам необходимо широкое понимание о планктоне и их взаимодействии с окружающей средой. В данной статье рассмотрены методы исследования таксономического, генетического и функционального разнообразия фитопланктона.

Abstract. Plankton has a primary importance for assessing the state of aquatic ecosystems, due to its rapid response to environmental and anthropogenic factors. In order to manage water quality, we need a broad understanding of plankton and their interaction with the environment. In this article methods of investigation of taxonomic, genetic and functional diversity of phytoplankton are reviewed.

Ключевые слова: Фитопланктон; пресноводный фитопланктон; микробиота; микроскопия; секвенирование.

Keywords: Phytoplankton; freshwater phytoplankton; microbiota; microscopy; sequencing.

Введение

Пресная вода становится основным лимитированным ресурсом во всем мире. Изменения окружающей среды и антропогенное воздействие отрицательно сказываются на количестве и качестве воды. Фитопланктон формирует основу пищевой цепи водоемов и таким образом является ключевым элементом экосистем океанов, морей и пресноводных водоемов, быстро реагирующим на любые изменения экосистемы в ответ на внешние воздействия. Фитопланктон – это фотосинтезирующие микроскопические организмы, обитающие в верхнем освещенном солнцем слое почти всех океанов и пресных водоемов на Земле. Они являются агентами для «первичной продукции», создания органических соединений из двуокиси углерода, растворенных в воде, процесса, который поддерживает водную пищевую сеть.

Термин фитопланктон охватывает все фотоавтотрофные микроорганизмы в водных пищевых сетях. Фитопланктон служит основой водной пищевой сети, обеспечивая необходимую экологическую функцию для всей водной жизни. Однако, в отличие от наземных сообществ, где большинство автотрофов являются растениями, фитопланктон представляет собой разнообразную группу, включающую протистанских эукариот и как эубактериальных, так и архебактериальных прокариотов.

Исследование планктона имеет принципиальное значение для изучения водных экосистем по следующим причинам: (1) планктон демонстрирует быстрый ответ на внешние воздействия на экосистему; (2) планктон – основной корм для рыб; (3) планктон производит (фито) и структурирует (зоо-) потоки вещества, энергии и информации через водные экосистемы; (4) дисбаланс в распределении пелагических компонентов приводит к эвтрофикации и накоплению питательных веществ в донных отложениях; (5) планктон (бактерии, гетеротрофные нанофлагелляты, фито- и зоопланктон) реагируют на различные виды загрязнения и могут быть использованы в качестве индикаторов для характеристики краткосрочных последствий загрязнения на водные экосистемы [3] (Telesh, 2004).

В целях управления качеством воды нам необходимо широкое понимание о планктоне и их взаимодействии с окружающей средой. Фитопланктон реагирует в течение суток на изменения в свете или питательных веществах и нагрузке отложений, а в ответ на выпаса крупным зоопланктоном. Количество фитопланктона в воде может информировать о состоянии водных путей и о том, где может потребоваться водохозяйственная деятельность. Важны виды планктона, присутствующие в воде. Например, только небольшое количество видов фитопланктона являются токсичными и могут быть вредными для потребителей, таких как люди, но не обязательно для устриц или рыб [1].

На протяжении десятилетий исследование водных экосистем было сконцентрировано на изучении эукариотического фитопланктона. С помощью молекулярных методов было установлено, что видовое разнообразие как микробных так и эукариотических сообществ фитопланктона значительно больше, чем это считалось ранее, и что многие распространенные виды фитопланктона не удается культивировать, и их генетические характеристики сильно отличаются от культивируемых видов планктона.

Данная статья рассматривает основные методы изучения фитопланктона с целью определения таксономического, генетического и функционального разнообразия.

Микроскопия

Планктонные организмы простираются на семь порядков в длину: от 0,2 микрометров до 2 метров. Разрешение лучших световых микроскопов составляет около 0,5 мкм – разумеется, электронные микроскопы намного лучше (0,2 нм на просвечивающем электронном микроскопе) [4]. Поскольку имеется связь между размером клеток и экологическими и физиологическими функциями организма, размер планктона используется в качестве первого шага в классификации [8].

Различные размеры планктона следующие: 1) мегапланктон (более 20 см в длину), 2) макропланктон (2–20 см), 3) мезопланктон (0,2–2 см), микропланктон (20–200 мкм), нанопланктон (2–20 мкм), пикопланктон (0,2–2 мкм). Категории размеров не отражают таксономическое разнообразие, так как размеры варьируются в значительной степени в рамках большинства таксономических групп. Размер клетки имеет прямую связь со многими

физиологическими процессами, включая ассимиляцию растворенных питательных веществ из окружающей среды. До недавнего времени важность пикопланктона по отношению к крупному нано- и микропланктону, такому как диатомовые водоросли и динофлагелляты, в значительной степени не была признана. Эти крошечные клетки, размером примерно с бактерии, могут доминировать – вносят до половины содержания хлорофилла-а в прибрежных водах и до 90% в бедных питательными веществами водах.

Микроскопия является традиционным методом для определения морфологических особенностей планктона, таких как размер, форма и цвет клетки, строение клеток, тип клеточной стенки, наличие или отсутствие жгутиков и других специфичных органелл.

Методы молекулярной биологии

Молекулярные методы стали ценным инструментом в исследованиях фитопланктона за последние десятилетия. Соответствующий выбор из растущего разнообразия методов может быть довольно сложным, поскольку различные методы подходят для различных вопросов или проблем в области экологии и эволюции. Каждый метод имеет свои особые преимущества и слабости, и основывается на различных (теоретических) предположениях.

ПЦР одной клетки. Изучая отдельные клетки в популяции фитопланктона, исследователь сразу сталкивается с практической проблемой. Большинство молекулярных методов требуют значительного количества ДНК, которую нельзя выделить из одной клетки. Конкретную интересующую клетку следует культивировать в клональной популяции, чтобы получить достаточную ДНК для молекулярного анализа. Не все изолированные клональные клетки выживают в лаборатории, и может быть уклон к некоторым приспособлениям. Относительные новые технологии в проточной цитометрии, в частности сортировки клеток (т.е. отбора отдельных клеток фитопланктона из полевых образцов) на основе их пигментации и/или структуры рассеяния) может способствовать изоляции фитопланктона [5]. Новая методика, ПЦР из одной клетки, позволяет получать фрагменты ДНК без необходимости культивирования.

ПЦР в реальном времени. Другим относительно новым методом идентификации штаммов фитопланктона в популяциях полевых условий является ПЦР в реальном времени. В реакциях ПЦР в реальном времени количество полученных фрагментов маркируют флуоресцентными зондами или ДНК-связывающими красителями и количественно определяют в течение каждого цикла. Регистрируя количество флуоресцентного излучения в каждом цикле, можно контролировать реакцию ПЦР во время экспоненциальной фазы. Первое значительное увеличение в количестве продуктов ПЦР коррелирует с общим количеством исходной доступной матричной ДНК [6]. Обнаружение амплифицированной ДНК-мишени флуоресцентно мечеными олигонуклеотидными зондами в ходе ПЦР приводит к дополнительному уровню специфичности по сравнению с традиционными методами ПЦР.

Секвенирование генов. Самый подробный анализ генетической изменчивости может быть получен путем секвенирования области интереса от разных организмов [7]. Секвенирование специфических областей генома является широко используемым молекулярным инструментом, особенно в таксономических и филогенетических исследованиях фитопланктона. Была также рассмотрена информация о последовательности определенных генов, которые участвуют в продуцировании токсинов в цианобактериях [9; 2]. В эукариотических исследованиях фитопланктона секвенирование также использовалось для установления филогенетических взаимоотношений между таксонами или проверки существующих филогении на основе морфологических данных.

Секвенирование геномов. Появился совершенно новый аспект в молекулярном анализе видов фитопланктона с секвенированием полных геномов. Наиболее детальное понимание эволюционных, морфологических и физиологических характеристик организма может быть достигнуто только тогда, когда доступна информация о последовательности каждого гена в геноме и его выражение во времени. Однако полная последовательность секвенирования генома – это только первый шаг к получению этой информации. Полная информация о последовательности организма обеспечивает – после аннотации генома – информацию о количестве и расположении генов и организации генома. Относительный небольшой размер

генома некоторых видов фитопланктона делает их идеальными субъектами для эволюционных и экологических исследований, где необходима полная информация о последовательности.

Хотя наиболее детальную информацию о генетической изменчивости и генетическом разнообразии можно получить путем секвенирования генов и геномов, оно все еще является дорогостоящей методикой, особенно когда большое количество организмов должно быть просеквенировано внутри и между популяциями.

Список литературы:

1. Claudia Castellani; Plankton: A Guide to their Ecology and Monitoring for Water Quality. J Plankton Res 2010; 32 (2): 261-262. doi: 10.1093/plankt/fbp102.
2. Ikeuchi, Masahiko, and Satoshi Tabata. "Synechocystis sp. PCC 6803—a useful tool in the study of the genetics of cyanobacteria." Photosynthesis research 70.1 (2001): 73-83.
3. Irena V Telesh, Plankton of the Baltic estuarine ecosystems with emphasis on Neva Estuary: a review of present knowledge and research perspectives, Marine Pollution Bulletin, Volume 49, Issue 3, August 2004, Pages 206-219, ISSN 0025-326X, <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.009>.
4. Kane, Joseph W., and Morton M. Sternheim. Life science physics. John Wiley & Sons, 1978.
5. Medlin, Linda K., Martin Lange, and Eva-Maria Nöthig. "Genetic diversity in the marine phytoplankton: a review and a consideration of Antarctic phytoplankton". Antarctic Science 12.03 (2000): 325-333.
6. Meuer, Stefan, Carl Wittwer, and Kan-Ichi Nakagawara, eds. Rapid cycle real-time PCR: methods and applications. Springer Science & Business Media, 2012.
7. Parker, Patricia G., et al. "What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker." Ecology 79.2 (1998): 361-382.
8. Peters, Robert Henry, and Karen Wassenberg. "The effect of body size on animal abundance." Oecologia 60.1 (1983): 89-96.
9. Robertson, Bronwyn R., Naoaki Tezuka, and Makoto M. Watanabe. "Phylogenetic analyses of Synechococcus strains (cyanobacteria) using sequences of 16S rDNA and part of the phycocyanin operon reveal multiple evolutionary lines and reflect phycobilin content". International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 51.3 (2001): 861-871.