

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ЮШКО
Елены Юрьевны

**Микробиота рыбоводных прудов: выделение, характеристика,
идентификация**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
Н.В. Сверчкова

Минск, 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 64 страницы, 11 рисунков, 8 таблиц, 83 использованных источника, 1 приложение.

Ключевые слова: МИКРОБИОТА РЫБОВОДНЫХ ПРУДОВ, ПРОБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, *BACILLUS* SPP., *AEROMONAS* SPP., ПЦР.

Объект исследования: Объектами исследования являлись изоляты бактерий, выделенные из поверхностных вод и донных отложений зарыбленных водоемов, а также из образца рыбы.

Цель работы: выделение, изучение морфологии и культуральных свойств представителей микробиоты рыб и рыбоводных прудов, а также применение методов молекулярной биологии (ПЦР) для их идентификации, характеристики и детекции.

Методы исследования: микробиологические, биохимические, методы молекулярной генетики (выделение тотальной ДНК, ПЦР, электрофорез в агарозном геле).

Полученные результаты: по результатам скрининга отобраны 4 штамма спорообразующих бактерий 1ЛС, 2ЛС, 1ВС, 1МС с выраженной антимикробной активностью к спектру условно-патогенных тест-культур, возбудителей заболеваний рыб. На основании культурально-морфологических, физиолого-биохимических свойств, MALDI-TOF масс-спектрометрии и ПЦР с видоспецифическими праймерами отобранные культуры были идентифицированы как *Bacillus velezensis*. Методом ПЦР в геномах исследуемых штаммов показано наличие локусов синтеза антимикробных метаболитов (сурфактин, бацилломицин, фенгицин, бациллибактин, бациллен, диффицидин, макролактин).

Из образцов воды рыбоводных прудов с различной степенью эвтрофикации были изолированы и идентифицированы с помощью физиолого-биохимических методов и масс-спектрометрического анализа штаммы бактерий *A. veronii* АКВ1 (*A. ichtiosmia*), *A. salmonicida* АКВ2, *A. veronii* НВ1 (*A. ichtiosmia*). Вирулентные свойства изолятов были оценены в опытах с использованием дифференциально-диагностических сред. Произведена оценка специфичности праймеров А-Veg при проведении ПЦР с использованием ДНК исследуемых штаммов и ДНК лабораторных условно-патогенных культур. Показано, что отобранные праймеры А-Veg могут использоваться в качестве ориентировочного инструмента установления наличия бактерий рода *Aeromonas* в образцах воды различных зарыбленных водоемов.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца змяшчае 64 старонак, 11 малюнкаў, 8 табліц, 83 выкарыстаных крыніц, 1 дадатак.

Ключавыя словы: МІКРАБІЁТА РЫБАВОДНЫХ САЖАЛАК, ПРАБІЯТЫЧНЫЯ ЎЛАСЦІВАСЦІ, *BACILLUS* SPP., *AEROMONAS* SPP., ПЛР.

Аб'ектамі даследавання з'яўляліся штамы бактэрый, выдзеленыя з паверхневых вод і донных адкладаў зарыбленых вадаёмаў, а таксама з біяматэрыялу рыбы.

Мэта працы: вылучэнне, вывучэнне марфалогіі і культуральных уласцівасцяў прадстаўнікоў мікрабіёты рыб і рыбаводных сажалак, а таксама прымяненне метадаў малекулярнай біялогіі (ПЛР) для іх ідэнтыфікацыі, характарыстыкі і дэтэкцыі.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, біяхімічныя, метады малекулярнай генетыкі (вылучэнне татальнай ДНК, ПЛР, электрофарэз у агарозным гелі).

Атрыманыя вынікі: па выніках скрынінга адабраны 4 штамы спораўтваральных бактэрый 1ЛС, 2ЛС, 1ВС, 1МС з выяўленай антымікробнай актыўнасцю да спектру ўмоўна-патагенных тэст-культур, узбуджальнікаў захворванняў рыб. На падставе культуральна-марфалагічных, фізіёлага-біяхімічных уласцівасцяў, MALDI-TOF мас-спектраметры і ПЛР з відаспецыфічнымі праймерамі адабраныя культуры былі ідэнтыфікаваны як *Bacillus velezensis*. Метадам ПЦР ў геному доследных штамаў паказана наяўнасць локусаў сінтэзу антымікробных метабалітаў (сурфакцін, бацыламіцын, фенгіцін, бацылібакцін, бацылен, дыфіцыцын, макролакцін).

З узораў вады рыбаводных сажалак з рознай ступенню эўтрафікацыі былі ізаляваныя і ідэнтыфікаваныя з дапамогай фізіёлага-біяхімічных метадаў і мас-спектраметрычнага аналізу штамы бактэрый *A. veronii* АКВ1 (*A. ichthiosmia*), *A. salmonicida* АКВ2, *A. veronii* НВ1 (*A. ichthiosmia*). Вірулентныя ўласцівасці ізалятаў былі ацэнены ў досведах з выкарыстаннем дыферэнцыяльна-дыягнастычных асяроддзяў. Выраблена ацэнка спецыфічнасці праймераў A-Ver пры правядзенні ПЛР з выкарыстаннем ДНК доследных штамаў і ДНК лабараторных умоўна-патагенных культур. Паказана, што адабраныя праймеры A-Ver могуць выкарыстоўвацца ў якасці арыентавочнай прылады ўсталявання наяўнасці бактэрый роду *Aeromonas* ва ўзорах вады розных зарыбленых вадаёмаў.

ABSTRACT

The thesis contains 64 pages, 11 figures, 8 tables, 83 sources, 1 appendix.

Key words: AQUACULTURE, MICROBIOME, PROBIOTIC PROPERTIES, *BACILLUS* SPP., *AEROMONAS* SPP., PCR.

Materials: The objects of study were bacterial isolates isolated from waters and sediments of various fisheries and fish-indwelled bodies of water, as well as from a fish sample.

The main objectives of the work were isolation, study of morphological and cultural properties of fish and fish ponds microbiota, as well as the use of molecular biology methods (PCR) for their identification, characterization and detection.

Methods: microbiological methods, biochemical methods, methods of molecular genetics (DNA extraction, PCR, agarose gel electrophoresis).

Results: based on the screening results, 4 strains of spore-forming bacteria 1JC, 2JC, 1BC, 1MC with pronounced antimicrobial activity against the spectrum of opportunistic fish pathogens, were selected. Based on cultural, morphological, physiological, biochemical properties, MALDI-TOF MS and PCR with species-specific primers, the selected cultures were identified as *Bacillus velezensis*. The genomes of the studied strains were shown to possess genes of antimicrobial metabolite synthesis (surfactin, bacillomycin, fengycin, bacillibactin, bacillene, difficidin, macrolactin) via conventional PCR.

Bacterial strains *A. veronii* AKB1 (*A. ichtiosmia*), *A. salmonicida* AKB2, *A. veronii* HB1 (*A. ichtiosmia*) were isolated from water samples of fish ponds with varying degrees of eutrophication and identified using physiological and biochemical methods as well as mass spectrometric analysis. The virulent properties of the isolates were assessed in experiments using differential diagnostic media. The specificity of A-Ver primers was assessed via performing PCR using DNA of the studied strains and DNA of laboratory strains of fish opportunistic pathogens. The selected A-Ver primers can be used as an approximate tool for determining the presence of bacteria of the genus *Aeromonas* in water samples from various fish-indwelled bodies of water.