

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук (БПИ ДВО РАН)

Совет молодых ученых БПИ ДВО РАН

Дальневосточный федеральный университет (ДВФУ)

Школа естественных наук

I ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

***«Современные исследования
в биологии»***

25 - 27 сентября 2012 г.

г. Владивосток

биоклиматические условия природной зоны, биогенный фактор. Во всех зонах наблюдается сильная мозаичность (парцелярность) и мелкоконтурность почвенного покрова, которые увеличиваются на более зрелых стадиях эволюции почв, а также на горизонтальных и слабонаклонных поверхностях. Особенностью молодых техногенных почв является формирование новообразованных горизонтов небольшой мощности (в Приморье они более сжатые). Как правило, эти горизонты относятся к органогенным или органо-аккумулятивным. Гораздо реже встречаются зачаточные срединные горизонты. Формирование почв в техногенных ландшафтах, расположенных в различных биоклиматических условиях, сопровождается разными темпами накопления органического вещества. В Сибири темпы выше, чем в Приморье, в лесостепной зоне выше, чем в таежной. В составе почвенного покрова лесостепной зоны доля эмбриоземов поздних стадий развития выше, чем в таежной. А в Сибири выше, чем в Приморье.

Уровень развития почвообразовательного процесса зависит от конкретных экологических условий и является индивидуальным для каждого техногенного ландшафта.

ПЕРВОЕ НАХОЖДЕНИЕ БАКТЕРИЙ-СПИРОХЕТ В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОМ ТРАКТЕ ПРЭСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ АМУРСКОГО БАССЕЙНА

Л.А. ПРОЗОРОВА¹, Т.Я. СИТНИКОВА²

¹Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток
lprozorova@mail.ru

²Лимнологический институт СО РАН, Иркутск
sit@lin.irk.ru

Приведен обзор сведений о нахождении в пищеварительном тракте пресноводных моллюсков бактерий-спирохет и результатах их исследований. Впервые рассмотрены пресноводные брюхоногие и крупные двустворчатые моллюски из оз. Ханка на предмет содержания спирохет в их пищеварительной системе. Изучены пять видов из семейств Pleuroceridae (*Parajuga*), Bellamyidae (эндемичный род *Amuropaludina*) и Unionidae (род *Cristaria*). Спирахеты впервые найдены у двух видов *Parajuga nodosa* и *Cristaria herculea* в кристаллическом стебельке их желудков. У яйцеживородящих гастропод рода *Amuropaludina*, характеризующихся отсутствием кристаллического стебелька, спирохеты не найдены.

FIRST FINDINGS OF BACTERIA-SPIROCHETES IN DIGESTIVE TRACT OF FRESH WATER MOLLUSKS OF AMUR RIVER DRAINAGE

L.A. PROZOROVA¹, T.Y. SITNIKOVA²

¹Institute of Biology and Soil Science FEB RAS, Vladivostok, Russia

²Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russia
lprozorova@mail.ru

A review of records of spirochetes in the gut of continental mollusks as well as results of relevant studies is presented. Freshwater gastropods and large bivalves occurring in Lake Khanka are firstly examined to search for spirochetes in their digestive system. Five species in families Pleuroceridae (genus *Parajuga*), Bellamyidae (endemic genus *Amuropaludina*) and Unionidae (genus *Cristaria*) are studied. Spirochetes are recorded for the first time in two species *Parajuga nodosa* and *Cristaria herculea*. Bacteria harbor crystalline styles of the species stomachs. Ovoviviparous gastropods of the genus *Amuropaludina*, characterized by lack of crystalline style are free of spirochetes.

Проблема сосуществования и взаимосвязи спирохет с многоклеточными организмами весьма актуальна в связи с широким распространением этого явления и самих бактерий, среди которых наряду со свободноживущими формами, симбионтами и

комменсалами, имеется немало паразитов-возбудителей опасных болезней человека и животных (виды родов *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*). Представители типа (по новой классификации Берги) Spirochaetes внешне хорошо отличаются от других бактерий формой клетки в виде длинной спирали и строением двигательного аппарата в виде периплазматического аксостилия (подмембранная осевая нить, составленная пучком жгутиков-фибрилл), позволяющего спирохетам сохранять подвижность при гораздо более высокой вязкости среды по сравнению с другими жгутиковыми бактериями.

У моллюсков спирохеты впервые были обнаружены французским исследователем А. Сертом в 1882 г., который, рассматривая содержимое желудка устриц, решил, что видит паразитических трипаносом [10]. Позднее для этих микроорганизмов был установлен монотипический род *Cristispira* Gross, встречающийся, как оказалось, и у других морских двустворок [7 и др.].

К настоящему времени вид *C. pectinis* Gross широко известен из пищеварительного тракта морских двустворчатых моллюсков (более 60 видов), в желудке которых имеется кристаллический стебелек [5 и др.], где ассоциированы спирохеты [9, 12 и мн. др.]. Кроме морских кристиспир обнаружены и у пресноводных двустворок [5, 10], морских блюдечек [8], наземных [6] и пресноводных жаберных брюхоногих моллюсков [1, 2, 11, 13], также имеющих кристаллические стебельки. При этом на примере байкальских видов установлено, что спирохеты из пресноводных брюхоногих моллюсков хотя и принадлежат роду *Cristispira*, заметно отличаются от типичных *C. pectinis* меньшими размерами клетки и морфологией аксостилия [1, 2, 11]. Отметим, что мелкие *Cristispira*-подобные спирохеты отмечались у нескольких видов морских и пресноводных моллюсков и ранее [10]. Таким образом, вопрос видовой разнообразия рода *Cristispira* нуждается в прояснении и в современных условиях может быть решен с использованием молекулярно-генетических методов.

Также до конца неясным остается характер взаимоотношений в системе спирохеты–моллюски. Ранее предполагалось существование симбиоза между моллюсками и спирохетами, как у термитов и тараканов, которым спирохеты помогают переваривать целлюлозу. Однако результаты последних исследований (в том числе собственных) скорее указывают на комменсализм со стороны кристиспир по отношению как к морским, так и к пресноводным моллюскам. По крайней мере, установлено, что переваривание целлюлозы у моллюсков происходит независимо от наличия спирохет [5], которые не могут быть облигатными симбионтами у морских и пресноводных моллюсков, поскольку не все особи одного вида в сходных условиях населены кристиспирами [1, 5, 11 и др.]. По-видимому, желудки моллюсков с кристаллическими стебельками используются спирохетами в одностороннем порядке как субстрат и источник пищи.

Таким образом, несмотря на более чем 120-летнюю историю изучения спирохет, обитающих в пищеварительном тракте моллюсков, до сих пор не ясны не только экологические взаимоотношения этих организмов и видовой состав кристиспир, но также и то, насколько широко распространены эти бактерии среди моллюсков в таксономическом и географическом отношениях.

С 2011 г. нами рассматриваются эти проблемы на примере пресноводных моллюсков. До наших исследований спирохеты были отмечены в кристаллическом стебельке лишь 9-ти видов пресноводных моллюсков. Большинство находок относилось к крупным двустворкам 7 видов из 4 родов семейств Unionidae (роды *Anodonta* Lamarck, *Unio* Philipsson in Retzius) из Европы и Lampsilidae (роды *Lampsilis* Rafinesque, *Strophitus* Rafinesque) из Северной Америки [9]. В этом смысле также упоминались мелкая двустворка *Sphaerium corneum* (Linnaeus) семейства Sphaeriidae [5] и один вид гребнежаберных брюхоногих *Semisulcospira libertina* Gould семейства Pleuroceridae [13] из Японии (юг Хонсю). Сведения из некоторых старых работ, указывающие на нахождение мелких *Cristispira*-подобных бактерий у пресноводных живородок семейства Pilidae и

катушек Planorbidae [см 5], лишенных кристаллического стебелька, скорее всего, связаны с ошибкой определения.

В начале наших исследований кристиспиры обнаружены в кристаллических стебельках сразу у 14 видов пресноводных брюхоногих моллюсков, принадлежащих 8-ти родам 6-ти семейств Baicaliidae (*Baicalia* Martens, *Parabaicalia* Lindholm, *Maackia* Clessin), Benedictiidae (*Benedictia* W. Dybowski, *Kobeltocochlea* Lindholm), Bithyniidae (*Boreoelona contortrix* (Lindholm)), Kolhymamnicolidae (*Kolhymamnicola ochotica* Zatravkin et Bogatov), Pyrgulidae (*Turricaspia turricula* Clessin et W. Dybowski in W. Dybowski) и Lithoglyphidae (*Fluminicola coloradensis* Morrison) [1, 11]. При этом 11 видов из первых трех семейств собраны в оз. Байкал, а остальные 3 соответственно на севере Дальнего Востока, в Каспии и Северной Америке.

На этот раз нами рассмотрены южно-дальневосточные брюхоногие и крупные двустворчатые моллюски, собранные в мае 2012 г. в оз. Ханка Амурского бассейна, в большом Южном заливе на глубине 3 м с помощью сети. Изучены пять видов из семейств Pleuroceridae (род *Parajuga* Prozorova et Starobogatov), Bellamyidae (эндемичный род *Amuropaludina* Moskvicheva) и Unionidae (род *Cristaria* Schumacher).

Кристаллический стебелек или пищевой комок (в случае *Amuropaludina*), выделенные из желудка живых моллюсков, анестезированных ментолом, помещали в каплю воды на стекло и исследовали на предмет наличия в них спирохет с помощью светового микроскопа Olympus при увеличении в 400 и 1000 раз. В кристаллических стебельках у двух видов – улитки *Parajuga nodosa* (Westerlund) (у одной из трех особей) и беззубки *Cristaria herculea* Schumacher (у двух из четырех особей) обнаружены крупные (около 20 мкм длиной) бактериальные клетки в форме спирали, находящиеся практически без движения. Бактерии были погружены в вязкий внутренний матрикс стебелька и встречались на всех уровнях от его середины до дистального края. В ходе растворения содержимого стебелька в воде бактерии начинали активно двигаться специфическим для спирохет образом (вращение вокруг продольной оси, вторичные изгибы спирали). Известно, что у морских двустворок кристиспиры распределены внутри стебелька также по всей его длине кроме апикальной трети [12], а в желудке свободно плавают вблизи функционального конца стебелька, в месте высвобождения и смешивания амилолитических ферментов и оксидазы с пищей [4].

Несмотря на то, что криста (аксостиль кристиспир с выступающими частями) не различима под световым микроскопом, обнаруженные спирохеты отнесены к роду *Cristispira*, поскольку морфологически они наиболее близки бактериям из байкальских моллюсков, изученных на срезе с помощью электронного трансмиссионного микроскопа [2]. В отличие от *C. pectinis* эти спирохеты значительно короче (13–25 мкм против 30–180 мкм) и тоньше (0.8–1.1 мкм против 0.5–3.0), а также имеют меньшее число спиралей (4 против 6) [см 3, 5, 12 и др.].

В пищевом комке эндемичных для амурского бассейна крупных жаберных гастропод-живородок рода *Amuropaludina*, характеризующихся отсутствием кристаллического стебелька, спирохеты не найдены.

Таким образом, к настоящему времени спирохеты зарегистрированы у 25-ти видов пресноводных моллюсков, принадлежащих 17-ти родам из 10-ти семейств. Из них 9 видов 6-ти родов из 3-х семейств принадлежат двустворчатым, и 16 видов 10-ти родов из 7-ми семейств – брюхоногим моллюскам. Во всех случаях бактерии имелись не у всех исследованных особей одного вида и были ассоциированы с кристаллическим стебельком, как и у морских моллюсков [3, 5 и др.].

В географическом плане спирохеты-кристиспиры ранее отмечались у моллюсков из пресных водоемов Британских островов, Южной (Хорватия, побережье Адриатики) и Северной (Германия) Европы, о-ва Хонсю и на востоке Северной Америки в бассейне Миссисипи. В ходе наших исследований подобные случаи отмечены в Сибири в оз. Байкал, на севере Дальнего Востока в бассейне Охотского моря, в Каспийском

солончатом озере-море, в западной половине Северной Америки в бассейне Колорадо [1, 11], а теперь еще и на юге Дальнего Востока в бассейне Амура, т.е., практически во всех регионах Голарктики. Интересно отметить, что спирохеты обнаружены у байкальских моллюсков, собранных в самых различных биотопах – в заливах и в открытом Байкале, на мелководье (3-16 м) и в глубоководной зоне (до 1397 м), а также на участках с выходами газовых гидратов и гидротерм [1, 11]. Обнаруженные факты указывают на то, что обитание спирохет в желудках пресноводных моллюсков является не исключительным, а широко распространенным явлением, по крайней мере, для голарктических таксонов, имеющих кристаллический стебелек.

Авторы выражают благодарность М.Б. Шедько (БПИ ДВО РАН) за предоставление материала из оз. Ханка.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов ОБН РАН №. 12-1-П30-01 (руководитель В.В. Богатов) и РФФИ № 12-04-90408-Укр_а (руководитель Л.А. Прозорова).

Литература

1. Ситникова Т.Я., Тулупова Ю.Р., Ханаев И.В., Прозорова Л.А. 2012. Находки бактерий-спирохет в кристаллическом стебельке пресноводных брюхоногих моллюсков // Известия РАН. Сер. Биол. № 6 (в печати).

2. Тулупова Ю.Р., Парфенова В.В., Ситникова Т.Я. и др. 2012. Первые сведения о бактериях семейства Spirochaetacea пищеварительного тракта эндемичных брюхоногих моллюсков озера Байкал. // Микробиология. 2012. Т. 81. №. 3. С. 1–8.

3. Bergey H.D., Holt J.G. 1994. Group I The Spirochetes // Bergey's Manual of determinative bacteriology / Eds Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A. et al, 9th ed. Baltimore, USA: Williams & Wilkins. P. 27–38.

4. Berkeley C. 1962. Toxicity of plankton to *Cristispira* inhabiting the crystalline style of mollusks // Science. V. 135. № 3504. P. 664–665.

5. Margulis L., Hinkle G. 2006. Large symbiotic spirochetes: *Clevelandina*, *Cristispira*, *Diplocalyx*, *Hollandina* and *Pillotina* // Procaryotes. V. 7. P. 971–982.

6. Morton J.E. 1952. A preliminary study of the land operculate *Murdochia pallidum* (Cyclophoridae, Mesogastropoda) // Trans R Soc N Zeal. V. 80. P. 69–79.

7. Nogouchi, H. 1921. *Cristispira* in North American Shellfish // *Journal of Experimental Medicine*. 34: 299–315.

8. Orton J. 1922. Occurrence of a crystalline style in the American slipper limpet (*Crepidula fornicata*) and its allies // *Nature*, 110.

9. Paster B.J., Breznak J.A. 1994. Genus III. *Cristispira* // Bergey's Manual of determinative bacteriology / Eds Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A. et al, 9th ed. Baltimore, USA: Williams & Wilkins. P. 498-501.

10. Paster B.J., Pelletier D.A., Dewhirst F.E. et al. 1996. Phylogenetic position of the spirochetal genus *Cristispira* // *Applied Environment. Microbiol.* V. 62. № 3. P. 942–946.

11. Sitnikova T.Ya., Michel E., Tulupova Yu.R., Parfenova G.V., Prozorova L.A. 2012. Spirochetes in gastropods from Lake Baikal and North American freshwaters: New multi-family, multi-habitat host records // *Symbiosis*. Vol. 56, № 3. P. 103-110.

12. Tall B.D., Nauman R.K. 1981. Scanning electron microscopy of *Cristispira* species in Chesapeake Bay Oysters // *Applied Environment. Microbiol.* V. 42. № 2. P. 336–343.

13. Terasaki Y. 1958. Studies on *Cristispira* in the crystalline style of a fresh water snail, *Semisulcospira libertine* Gould. I. The morphological characters and living conditions in the style // *Bull. Suzugamine Women's College*. V. 5. P. 7–19.