

РЕЗЮМЕ

Кремъчните водорасли (диатомеи, Bacillariophyceae) са мощен инструмент за оценка на промените в средата и поради това рутинно се използват в мониторинга на водите по света (Kelly & Whitton 1995, Lenoir & Coste 1996, Potapova et al. 2004, Van Dam et al. 1994, Wu 1999). В Антарктика кремъчните водорасли са едни от най-многобройните и разнообразни микроводорасли (Jones 1996, Van de Vijver & Beyens 1999), а в глобален мащаб те доминират в морските микрофитобентосни съобщества (Schlie & Karsten 2017). Морските екосистеми, и особено тези в района на Антарктическият полуостров, са силно засегнати от климатичните промени: топенето на ледниците води до повишен вток на сладки води и седименти в морето, с което намалява солеността и нараства мътността на повърхностните крайбрежни води, а последното води и до намаляване на количеството светлина, което прониква във водата, докато втокът на седименти може да доведе до увеличаване на силикати, фосфати и нитрати във водната колона - всичко това са фактори, за които е известно, че оказват влияние върху бентосните морски съобщества (напр. Zacher et al. 2009, Sahade et al. 2015, и др.). Явяват се и нови субстрати за колонизация (Passoti et al. 2015). Липсата на знания и данни, които можем да ползваме като основа за мониторинг на промените в бентосните съобщества води до подценяване на ефектите на климатичните промени върху морския бентос (Sahade et al. 2015). Въпреки че кремъчните водорасли са обект на голям брой изследвания в Антарктика, започнали още от средата на 19-ти век (Ehrenberg 1844), познанията ни за цели екологични групи от района, като епилитните морски диатомейни съобщества, все още са оскъдни.

Проектът цели (1) да проучи колонизационните процеси и развитието на съобществата на епилитните морски кремъчни водорасли върху новопотопени субстрати при две контрастиращи условия на средата, както и (2) да добави нови и фундаментални данни за видовото разнообразие и структурата на съобществата на епилитни кремъчни водорасли върху нови субстрати, като се опита да даде отговор и на следните въпроси: какъв е темпът на колонизация и развитие на съобществата от епилитни кремъчни водорасли от морския бентос върху новооткрити субстрати в Антарктика; кои са първите видове, способни да колонизират нови субстрати; какъв е ефектът на климатичните промени (т.е. увеличен вток на сладки води и седименти) върху развитието на морските епилитни диатомейни съобщества (и техния състав); и накрая, можем ли да използваме морските епилитни кремъчни водорасли като първи индикатори за промени в средата, свързани с климатичните изменения в Антарктика. По време на проучването, предвид спецификата на работа в Антарктика, ще тестваме и метод за запазване на проби от изследваните епилитни съобщества за екстрахиране на геномна ДНК и PCR амплификация, които могат да бъдат ползвани в бъдещи метагенетични изследвания на биоразнообразието.

За да проучим колонизационните процеси на морските епилитни кремъчни водорасли върху новопотопени субстрати в два пункта с контрастиращи условия на средата, 2 поредици от керамични плочки (всяка от по 8 плочки в 3 реплики) ще бъдат потопени под вода и проби от повърхността им ще бъдат събирани седмично за период от 8 седмици. За да получим сравними резултати между седмиците на изследване и двата пункта, материалът ще бъде запазен в известен (еквивалентен) обем. Двата пункта за пробонабиране, разположени в Южния залив на остров Ливингстън, ще бъдат подбрани така, че да бъдат представителни за различни условия на средата, единият - за условия на климатични промени с увеличен вток на сладка вода и седименти през лятото, а другият -

за „нормални“ условия (без вток на сладки води и седименти). За добра характеристика на пунктовете при всяко пробонабиране ще бъдат измервани рН на водата, съдържание на кислород и соленост с преносим мултиметър. Допълнително ще бъдат измервани концентрациите на общ Р, фосфати, нитрати, нитрити и силикати във водата с портативен фотометър. Диск на Secchi ще бъде ползван за оценка на мътността на водата в двата пункта. При последното пробонабиране малка част от всяка проба ще бъде запазена в стерилни епруветки с RNeasy Lysis Solution (Qiagen). Следващите тестове за изолиране на ДНК и PCR амплификация ще бъдат извършени в лабораторни условия. За изолиране на геномна ДНК ще бъдат използвани два метода: фенол-хлороформна екстракция, съгласно протокол за изолиране на геномна ДНК от съхранени в RNeasy Lysis Solution тъкани (Qiagen) и търговски кит за изолиране DNeasy PowerBiofilm Kit (Qiagen), а за тестване на PCR амплификацията ще бъдат използвани универсални праймери за V4-5 регион на 18S rDNA по Stoeck et al. (2010). Видовете ще бъдат идентифицирани чрез светлинен (LM) и сканиращ електронен микроскоп (SEM) (Zidarova et al. 2016). За микроскопски анализи кремъчните водорасли ще бъдат подготвени по метода на Hasle & Fryxell (1970) и включени в среда Naphrax®. За да проследим развитието на съобществата и евентуални промени в структурата им в двата пункта в периода от 8 седмици, ще бъдат идентифицирани до вид и преброени до 300 валви на микроскопски препарат (e.g. Prygiel et al. 2002). Ще бъдат изчислени индекси на видово разнообразие и изравненост. Разликите между отделните седмици на колонизацията ще бъдат тествани с one-way ANOSIM с използването на Bray-Curtis distance (по Desrosiers et al. 2014). За оценка на процеса на колонизацията ще бъдат използвани както данните за структурата на съобществата, така и общата плътност на клетките на кремъчните водорасли. Последната ще бъде установена чрез преброяване на клетките на кремъчни водорасли в пробите с камера на Sedgewick Rafter на обрънат микроскоп. В края на проекта очакваме:

- (1) да можем да кажем дали вероятни различия в процесите на колонизацията и в структурата на съобществата между двата пункта могат да бъдат свързани с различия в условията на средата (вкл. климатични промени). Използването на изкуствени субстрати дава възможност за по-прецизно и добро сравнение между пунктовете на изследване (Lamberti & Resh 1985, Lane et al. 2003, Desrosiers et al. 2014), тъй като с тях ние елиминираме брой други фактори, като микроструктура на местообитанието, изложение, дълбочина и количество проникваща светлина, и др., които могат да повлияят на структурата на диатомейните съобщества в природни местообитания. Второ, дава ни възможност да установим кои видове са първите колонизатори на нови субстрати.
- (2) да дадем първи данни за темпа на колонизацията и за развитието на епилитните диатомейни съобщества от морския микрофитобентос в Антарктика. Проучванията на колонизацията на нови субстрати от микроводорасли в Антарктика и развитието на техните съобщества са рядкост (Campana et al. 2018); такива експерименти не са правени с кремъчни водорасли. Седмичните наблюдения ще ни позволят да проследим процеса на колонизацията и да предоставим данни за първите видове кремъчни водорасли, колонизатори на нови субстрати в Антарктика. Проучването ще помогне и да разберем дали антарктическите морски епилитни кремъчни водорасли колонизират нови субстрати със същата скорост, както и морските кремъчни водорасли от други ширини, тъй като тези организми може да са адаптирани към бърза колонизация и развитие на съобществата

(напр. Ligowski et al. 2012), като имаме предвид, че периодът с благоприятни условия в Антарктика е кратък.

(3) тъй като морските епилитни кремъчни водорасли се проучват в момента и като потенциални индикатори за оценка на състоянието на водите в крайбрежни райони с използване на изкуствени субстрати (Desrosiers et al. 2014), данните от това изследване могат да бъдат и в полза за развитието и рафинирането на методология за рутинно пробонабиране на морски епилитни кремъчни водорасли от други (студени) райони на света.

(4) използването на LM и SEM за идентификация на видовете ще ни позволи да опознаем по-добре морфологията на антарктическите морски кремъчни водорасли и това знание ще бъде полезно при всякакви бъдещи проучвания, които изискват надеждна таксономична работа.

(5) като имаме предвид малкия брой наскоро разпознати и описани видове морски бентосни кремъчни водорасли от морската зона на Антарктика (Fernandes & de Souza-Mosimann 2001, Fernandes et al. 2007, Al-Handal et al. 2008a, b, 2018), което е в контраст с последните резултати за сладководната диатомейна флора на морската зона на Антарктика (Zidarova et al. 2016), и големия брой неидентифицирани или несигурно идентифицирани видове в Al-Handal & Wulff (2008), възможно е при това изследване да бъдат намерени и нови видове.

Накрая,

(6) за първи път за антарктически морски бентосни кремъчни водорасли ще бъдат тествани методи за ефективно съхранение на проби, екстрахиране на ДНК и PCR амплификация. Това ще ни даде възможност за развитие на нов подход при бъдещи таксономични изследвания и проучвания на биоразнообразието, с комбиниране на морфологични и молекулярни методи.