



УДК: 579.83/88:582.261.2:595.18:591.1

Т. В. Рауэн, вед. инж.

Институт биологии южных морей им А.О.Ковалевского Национальной академии наук Украины, Севастополь, Украина

### ПРИМЕНЕНИЕ ХЛОРАМФЕНИКОЛА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *ISOCHRYSIS GALBANA* И КОЛОВРАТОК *BRACHIONUS PLICATILIS*

С помощью проточной цитометрии исследовали влияние синтетического антибиотика хлорамфеникола в концентрациях 5, 10, 50 и 500 мг л<sup>-1</sup> на динамику численности бактерий и клеток микроводорослей в культуре *Isochrysis galbana* при экспонировании в течение 6 дней. Во всех исследованных концентрациях хлорамфеникол оказывал токсическое действие на клетки микроводорослей, что проявлялось в достоверном увеличении доли клеток с низким содержанием хлорофилла (НСХ), представленных мёртвыми и погибающими клетками. Токсический эффект проявлялся после 24 ч эксперимента, его степень была пропорциональна концентрации антибиотика. Снижение численности бактерий в культуре *I. galbana* наблюдали со вторых суток. Минимальной концентрации антибиотика (5 мг л<sup>-1</sup>) было достаточно для элиминации чувствительных к нему бактерий. Увеличение дозы не вело к усилению антибиотического эффекта. Обработанная хлорамфениколом (5 мг л<sup>-1</sup>, 24 ч) культура *I. galbana* не оказывала токсического эффекта на коловраток *Brachionus plicatilis*. Численность бактерий в среде *B. plicatilis* при добавлении обработанной культуры микроводорослей была ниже, чем в контроле, в течение всего эксперимента. Прирост коловраток при питании обработанной хлорамфениколом культурой *I. galbana* был несколько выше, чем в контроле

**Ключевые слова:** микроводоросли, коловратки, хлорамфеникол, проточная цитометрия *Brachionus plicatilis*, *Isochrysis galbana*

Одна из основных проблем выращивания морских рыб – низкая выживаемость их личинок на ранних стадиях развития, что связано с бактериальными инфекциями [2], основным источником которых являются живые кормовые организмы (ЖКО), с которыми ассоциировано большое число бактерий. Наиболее проблематичными ЖКО в этом отношении являются коловратки, т. к. их используют на ранних стадиях развития личинок с несформировавшейся иммунной системой, когда организм крайне уязвим для бактериальных инфекций.

Начальным вектором передачи бактерий личинкам являются микроводоросли – базовое звено пищевой цепи при выращивании рыб [10]. В неаксеничных культурах микроводорослей присутствуют ассоциированные с их клетками бактерии [1], которые при внесении микроводорослей в насыщенную метаболитами среду коловраток начинают интенсивно размножаться. Их численность может достигать 10<sup>7</sup> кл. мл<sup>-1</sup> в среде и 10<sup>3</sup> – 10<sup>4</sup> кл.

на особь в пищеварительном тракте каждой коловратки [5]. Высокая бактериальная численность в культуре коловраток негативно влияет на воспроизводство самих животных и увеличивает риск заражения личинок.

Существует ряд мер, направленных на снижение численности бактерий, ассоциированных с ЖКО. Её стремятся снизить путём предварительной физической или химической обработки используемых в качестве корма организмов, начиная с микроводорослей. Коловраток после насыщения микроводорослями обрабатывают ультрафиолетом [15], т. к. большинство бактерий локализуется на поверхности животных [14]. Однако ультрафиолет не снижает численности бактерий в пищеварительном тракте коловраток. Очевидно, что достичь этого можно, уменьшив число бактерий в культуре микроводорослей, которыми насыщают коловраток. Микроводоросли, как правило, обрабатывают анти-

биотиками, т.к. ультрафиолет разрушает оболочки клеток и приводит к их гибели.

Однако, несмотря на широкое применение антибиотиков, данные о степени их токсичности, влиянии на рост клеток микроводорослей и численность бактерий в среде противоречивы. В связи с этим цель данной работы – исследовать влияние антибиотика хлорамфеникола (левомецетина) на динамику численности клеток и бактерий в культуре микроводоросли *Isochrysis galbana* Parke, 1949 (основной вид, используемый в марикультуре рыб), а также динамику численности коловраток и бактерий в их среде при кормлении коловраток культурой *I. galbana*, предварительно обработанной хлорамфениколом.

**Материал и методы.** Во всех экспериментах использовали неаксеничную культуру микроводоросли *I. galbana* в экспоненциальной фазе роста ( $\approx 4 \times 10^6$  кл. мл<sup>-1</sup>), полученную из маточных культур коллекции микроводорослей отдела физиологии водорослей ИнБЮМ НАНУ (г. Севастополь), а также партеногенетический клон коловраток *Brachionus plicatilis*, адаптированных к питанию *I. galbana*. Микроводоросли культивировали без продувки на среде Уолна [4] при температуре  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  и постоянном освещении 5 кЛк.

Для обработки микроводорослей использовали хлорамфеникол (левомецетин) – синтетический антибиотик широкого спектра действия, растворённый в стерильной морской воде.

В эксперименте 1 определяли влияние хлорамфеникола в концентрациях 0 (контроль), 5, 10, 50 и 500 мг л<sup>-1</sup> на физиологическое состояние и динамику численности клеток микроводорослей в культуре *Isochrysis galbana*, а также на динамику численности ассоциированных с ними бактерий при экспонировании в течение 6 дн. Диапазон концентраций антибиотика охватывал все известные дозировки, применяемые в практической аквакультуре и экспериментальных исследованиях [11, 17]. Эксперимент проводили в трёх повторностях в колбах объёмом 500 мл, содержащих 200 мл культуры *I. galbana*. Начальные численности клеток *I. galbana* во всех сосудах были одинаковы – около  $4 \times 10^6$  кл. мл<sup>-1</sup>. Пробы отбирали в начале эксперимента и через каждые 24 ч.

В эксперименте 2 в течение трёх дней сравнивали прирост коловраток при их питании необработанной (контроль) и обработанной (5 мг л<sup>-1</sup> в течение 24 ч) хлорамфениколом культурой *I. galbana*

и исследовали динамику численности бактерий в их среде. Эксперимент проводили в трёх повторностях в колбах объёмом 500 мл, содержащих 200 мл среды с коловратками и микроводорослями. Начальные численности коловраток во всех сосудах были одинаковы и составляли 50 экз. л<sup>-1</sup>. Для подсчета организмов пробы отбирали в начале эксперимента и через каждые 24 ч. Численность коловраток определяли прямым подсчётом в камере Богорова,

Численность бактерий, микроводорослей и оценку внутриклеточного содержания хлорофилла в них определяли с помощью проточного цитометра Cytomics™ FC 500 (Beckman Coulter, США), оборудованного 488 нм однофазным аргонным лазером, и программного обеспечения СХР. Общую численность микроводорослей определяли в неокрашенных пробах с помощью гейтинга популяции клеток на 2-параметрических цитограммах прямого светорассеивания (FS) и автофлуоресценции в красной области спектра (FL4, 675 нм) на безразмерных логарифмических шкалах. Численность бактерий определяли в пробах, окрашенных SYBR Green I (Molecular Probes, США), с помощью гейтинга популяции клеток на 2-параметрических цитограммах прямого светорассеивания (FS) и флуоресценции SYBR Green I в зелёной области спектра (канал FL1, 525 нм) на безразмерных логарифмических шкалах.

Окраску бактерий производили флуорохромом SYBR Green I в соответствии с [13]. Это – маркер повышенной яркости с максимумами возбуждения и эмиссии соответственно 497 и 521 нм, обладающий высоким сродством к двухцепочечной ДНК, способный также связываться с РНК и одноцепочечной ДНК. Рабочий раствор красителя готовили в разбавлении 1: 100 и хранили в замороженном состоянии при  $-20^\circ\text{C}$ . Конечное разбавление в пробе составляло 10 : 10000. Окраску производили в темноте в течение 30 мин непосредственно перед цитометрическими измерениями.

Концентрацию клеток бактерий и микроводорослей рассчитывали по скорости потока пробы (соответственно 15 и 60 мкл мин<sup>-1</sup>), времени счёта (100 – 360 с) и количеству клеток, зарегистрированных в этот промежуток времени (в пробах микроводорослей – минимум 3000 кл. для каждой из повторностей). Контроль качества измерений производили с помощью калибровочных флуоросфер Flow-Check™ (Beckman Coulter) с известной концентрацией в пробе.

На цитограммах выделяли 2 субпопуляции клеток – с высоким (жизнеспособные клетки) и низким (мёртвые и погибающие клетки) внутриклеточным содержанием хлорофилла (далее именуемые соответственно ВСХ и НСХ).

**Результаты и обсуждение.** Эксперимент 1. Во всех исследованных концентрациях хлорамфеникол оказывал токсическое действие на клетки микроводорослей, которое проявля-

лось в достоверном снижении численности ВСХ-клеток (рис. 1 А) и увеличении доли НСХ-клеток относительно контроля, не содержащего антибиотик (рис. 1 Б). Токсический эффект проявлялся с первых суток эксперимента, и его степень была пропорциональна концентрации антибиотика.

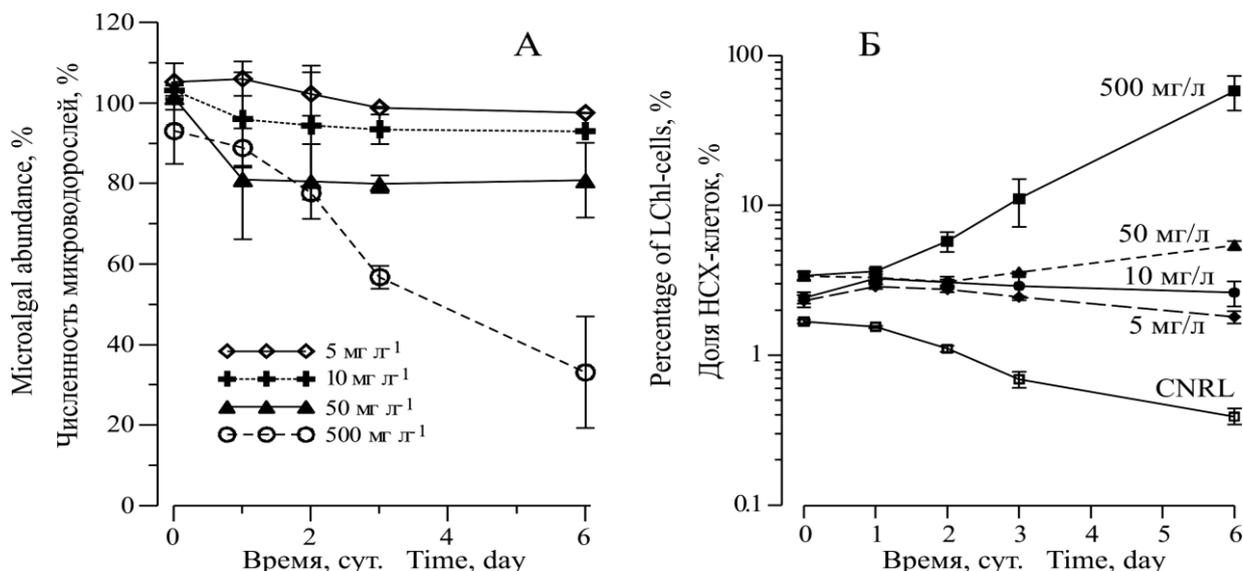


Рис. 1 Динамика общей численности клеток (% от контроля) (А) и доли НСХ-клеток в общей численности микроводорослей (Б) в культуре *Isochrysis galbana* при разных концентрациях хлорамфеникола  
 Fig. 1 Dynamics of the total cell abundance (% control) (A) and the percentage of НСХ-cells (B) in the culture of *Isochrysis galbana* at different chloramphenicol concentrations (mg l<sup>-1</sup>)

В начале эксперимента доля НСХ-клеток во всех сосудах составляла около 2 % от их общей численности. К концу эксперимента в контроле она снижалась до  $0.39 \pm 0.06$  %, при концентрациях хлорамфеникола 5 и 10 мг л<sup>-1</sup> изменялась незначительно (соответственно до  $1.8 \pm 0.2$  и  $2.6 \pm 0.5$  %), а при 50 и 500 мг л<sup>-1</sup> возрастала, соответственно до  $5.4 \pm 0.35$  и  $57.9 \pm 15.1$  %. Таким образом, высокие концентрации антибиотика были причиной массовой деградации и гибели клеток микроводорослей.

Добавление хлорамфеникола в культуру *I. galbana* приводило к снижению численности бактерий в ней, однако зависимости бактерицидного эффекта от концентрации антибиотика не было выявлено: во всех случаях на 6-е сутки численность бактерий снижалась при

близительно на 50 % относительно контроля (рис. 2 А). Можно предположить, что, во-первых, только около половины бактериальной популяции составляли штаммы, чувствительные к хлорамфениколу, и, во-вторых, минимальной концентрации антибиотика (5 мг л<sup>-1</sup>) было достаточно для их элиминации. Увеличение его дозы не влияло на выживаемость резистентных по отношению к данному антибиотику штаммов бактерий, но, как показано выше, оказывало негативный эффект на микроводоросли.

В ряде работ сообщается о наличии резистентных к хлорамфениколу штаммов бактерий, в том числе и таких патогенов морских рыб, как *Pseudomonas* и *Vibrio* (*V. harveyi*) [7, 8, 16].

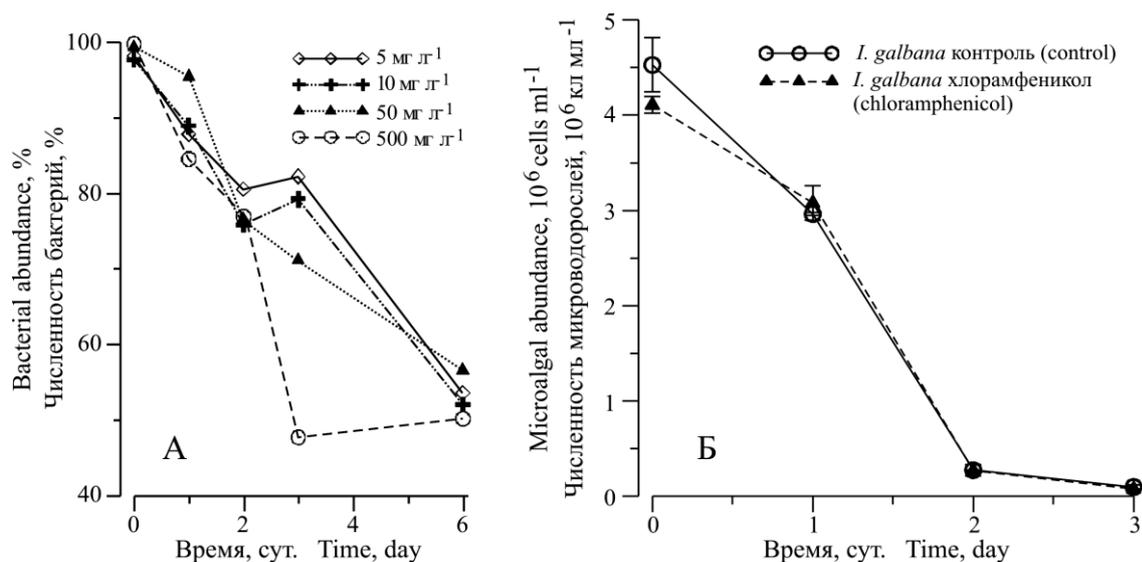


Рис. 2 Динамика численности бактерий (% от контроля) в культуре *Isochrysis galbana* при разных концентрациях хлорамфеникола (А) и динамика численности клеток *I. galbana* в среде выращивания *Brachionus plicatilis* (Б)

Fig. 2 Dynamics of bacterial abundance (% control) in the culture of *Isochrysis galbana* at different chloramphenicol concentrations (mg l<sup>-1</sup>) (А) and grazing of *I. galbana* by *Brachionus plicatilis* in the medium without (control) and with 5 mg l<sup>-1</sup> chloramphenicol (Б)

В ряде публикаций также указывают на токсическое действие хлорамфеникола на клетки микроводорослей [3, 9, 6, 11] и угнетение фотосинтетического аппарата клеток *I. galbana*, что согласуется с результатами в [20]. Однако информация о рекомендуемых дозах хлорамфеникола, степени их токсичности и антибактериальном эффекте противоречива. В [3] сообщается об отсутствии выраженного негативного влияния хлорамфеникола на клетки *I. galbana* при концентрациях до 12 мг л<sup>-1</sup>. В [17] рекомендуют использовать дозировки хлорамфеникола 10 мг л<sup>-1</sup>, указывая при этом на снижение численности бактерий (42 %) уже через 3 ч и отсутствие негативного влияния на клетки изохризиса при этой дозировке. По нашим данным, выраженное снижение численности бактерий происходит только на 6 сутки, а угнетение физиологического состояния клеток происходит уже при концентрации 5 мг л<sup>-1</sup>.

**Эксперимент 2.** Добавление культуры *I. galbana*, обработанной хлорамфениколом (концентрация 5 мг л<sup>-1</sup>), в среду культивирования *B. plicatilis* не влекло за собой отказа коловраток от пищи и не оказывало токсического эффекта

на животных. Клетки микроводорослей, обработанные хлорамфениколом, выедались коловратками с той же скоростью, что и в контроле (рис. 2 Б).

Численность бактерий в среде *B. plicatilis* при добавлении обработанной культуры микроводорослей была ниже, чем в контроле, в течение всего эксперимента (рис. 3 А), в то время как прирост численности коловраток, питающихся обработанными хлорамфениколом микроводорослями, был несколько выше такового в контроле (рис. 3 Б).

Таким образом, можно предположить, что снижение численности бактерий в среде с коловратками положительно влияет на их воспроизводство. Кроме того, при уменьшении бактериальной нагрузки в среде их выращивания можно ожидать снижения темпов колонизации бактериями покровов и кишечника коловраток, и как следствие, снижения риска бактериальных инфекций у питающихся ими личинок рыб.

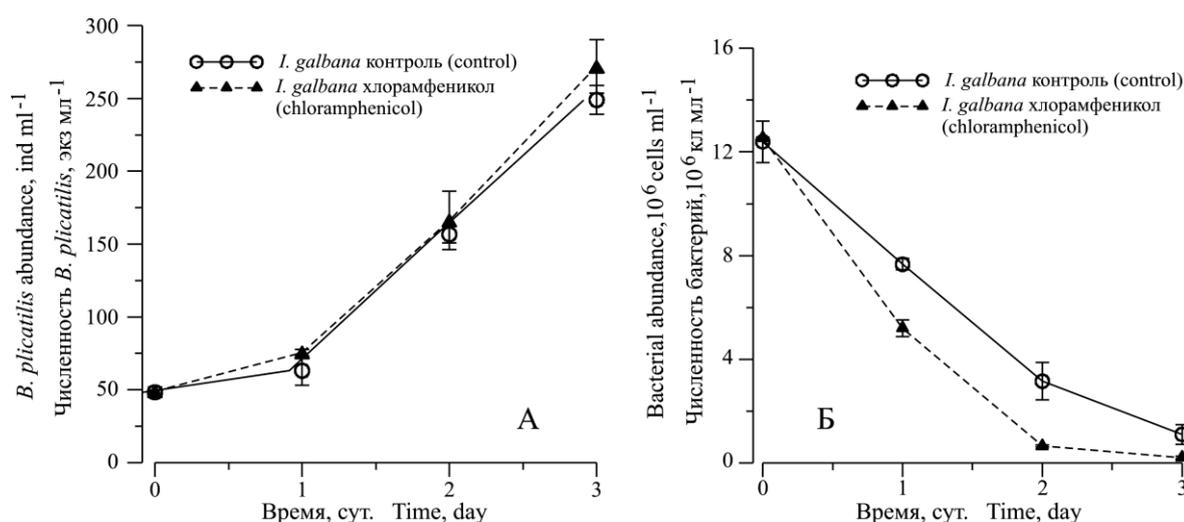


Рис. 3 Динамика численности *Brachionus plicatilis*, питающихся необработанными и обработанными хлорамфениколом микроводорослями *Isochrysis galbana* (А), и численности бактерий в среде выращивания коловраток (Б)

Fig. 3 Growth of *Brachionus plicatilis* feeding on control and chloramphenicol-treated microalgae *Isochrysis galbana* (A) and dynamics of bacterial abundance in the growth media of rotifers (B)

Опубликованных данных о влиянии хлорамфеникола на *B. plicatilis* очень мало. Сообщается о токсическом эффекте, оказываемом хлорамфениколом на коловраток и его негативном влиянии на их воспроизводство при концентрациях 30–100 мг л<sup>-1</sup> [18]. Учитывая полученные нами данные, можно предположить, что токсический эффект, как и в случае с микроводорослями, определяется концентрацией антибиотика, и концентрация < 5 мг л<sup>-1</sup> токсичной для коловраток не является.

В мировой аквакультуре антибиотики обычно добавляют непосредственно в среду с коловратками при их насыщении микроводорослями, при этом рекомендуемая концентрация хлорамфеникола составляет 10 мг л<sup>-1</sup>. Однако результаты данного исследования позволяют считать, что для снижения численности бактерий в среде питающихся коловраток более целесообразна предварительная обработка хлорамфениколом (5 мг л<sup>-1</sup>) именно среды микроводорослей в течение суток, т.к. на элиминацию бактерий требуется время. Выраженное снижение численности бактерий в среде с микроводорослями происходило только через 24 ч (рис. 2 А). Такой метод обработки культур

позволяет снизить численность бактерий, поглощаемых *B. plicatilis* вместе с клетками микроводорослей, уже в первые часы кормления, тогда как добавление антибиотика непосредственно в среду с питающимися животными (обычная практика) не позволяет этого сделать в такой короткий срок, и большое число бактерий успевает попасть в пищеварительный тракт коловраток. Кроме того, антибиотик, вносимый в среду коловраток вместе со средой обработанных им микроводорослей, предупреждает дальнейшее развитие бактерий в ней.

Однако, несмотря на положительное влияние предварительной обработки микроводорослей хлорамфениколом на воспроизводство коловраток в условиях снижения численности бактерий, необходимо учитывать негативные стороны применения хлорамфеникола. Во-первых, многие патогенные штаммы бактерий, как уже упоминалось выше, обладают резистентностью к данному антибиотику, т.е. проблему инфекционных заболеваний он решает только частично. Во-вторых, хлорамфеникол даже в минимальных концентрациях оказывает токсическое действие на клетки микроводорослей, что делает невозможным его применение

в

целях снижения бактериальной численности в их периодических культурах. Необходимо также отметить, что во многих странах отказываются от продукции, содержащей хлорамфеникол, т.к. он представляет собой опасность для здоровья человека [4, 18].

Все перечисленные негативные аспекты применения данного антибиотика, обуславливают необходимость поиска альтернативных решений проблемы бактериальной контаминации сред выращивания кормовых организмов.

**Выводы.** 1. Хлорамфеникол в концентрациях 5, 10, 50 и 500 мг л<sup>-1</sup> оказывает токсического действия на клетки культуры микроводоросли *Isochrysis galbana*, при этом снижение темпов роста культуры пропорционально концентрации антибиотика. 2. Бактерицидный эффект хлорамфеникола не зависит от его концентрации в культуре *I. galbana*. 3. Кормление коловраток *Brachionus plicatilis* микроводорослями *I. galbana*, предварительно обработанны-

ми хлорамфениколом, не оказывает негативного влияния на их воспроизводство и ведёт к снижению бактериальной численности в среде их выращивания. 4. Обработка культур *I. galbana* хлорамфениколом перед их скармливанием коловраткам снижает численность бактерий в среде и положительно влияет на воспроизводство *B. plicatilis*. 5. Положительный эффект хлорамфеникола (снижение численности бактерий в средах микроводорослей и *B. plicatilis*) невелик по сравнению с негативными последствиями его применения (разрушение клеток микроводорослей, низкая эффективность элиминации бактерий в среде микроводорослей – 50 % на 6-й день экспозиции, риск для здоровья человека и др.).

**Благодарности.** Автор выражает глубокую признательность В.С. Муханову и А.Н. Ханайченко за техническую помощь и полезные замечания в ходе обсуждения результатов.

1. Вольберг М. М. Взаимодействие популяций микроводорослей и бактерий в модельной экосистеме: автореф. дисс.... канд. биол. наук. – М.: МГУ, 1988. – 24 с.
2. Ханайченко А. Н. Микробиологические проблемы культивирования морских рыб на ранних стадиях развития (на примере камбалообразных) и пути их решения // Морск. экол. журн. – 2005. – 4, № 2. – С. 23 – 37.
3. Campa-Cordova A. I., Luna-Gonzalez A., Ascencio F., Cortés-Jacinto E., Cáceres-Martínez C. J. Effects of chloramphenicol, erythromycin, and furazolidone on growth of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros gracilis* // Aquaculture. – 2006. – 260 (29). – P. 145 – 150.
4. Coutteau P. Microalgae / Lavens P., Sorgeloos P. (eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. – №. 361. – Rome, FAO. – 1996. – P. 10-13.
5. Cove, D., Audineau P., Nicolas J. L. Rotifer-rearing technology / Barnabe G. Aquaculture. – West Sussex England: Ellis Harwood, 1990. – P. 232 – 245.
6. Huang Z., Liu X., Hu Z. Duan S. Effects of antibiotics on the growth of *Isochrysis zhangjiangensis* and axenic culture // Ecologic Science. – 2007. – 2. – P. 120 – 125.
7. Huys G., Bartie K., Cnockaert M., Hoang Oanh DT., Phuong NT., Somsiri T., Chinabut S. Biodiversity of chloramphenicol-resistant mesophilic heterotrophs from Southeast Asian aquaculture environments // Res. Microbiol. – 2007. – 158. – P. 228 – 235.
8. John S., Patterson J. Probiotic activity and antibiotic resistance of microbes isolated from shrimp pond // J. Mar. Biol. Ass. India. – 2007. – 49 (2). – P. 127 – 133.
9. Joo-Yeon Youn, Sung Bum Hur. Antibiotics and their optimum concentration for axenic culture of marine microalgae // Algae. – 2007. – 22 (3). – P. 229 – 234.
10. Ferreira M., Maseda A., Fabregasa J., Otero A. Enriching rotifers with “premium” microalgae *Isochrysis* aff. *galbana* clone T-ISO // Aquaculture. – 2007. – 279. – P. 126 – 130.
11. Lai H.T., Hou J.H., Su C.I., Chen C.L. Effects of chloramphenicol, florfenicol, and thiamphenicol on growth of algae *Chlorella pyrenoidosa*, *Isochrysis galbana*, and *Tetraselmis chui* // Ecotoxicol Environ Saf. – 2009. – 72 (2). – P. 329-34.
12. Lupin H. M. Human health aspects of drug and chemical use in aquaculture // The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. Options Méditerranéennes, – 2009. – 86, A. – P. 95 – 103.
13. Marie D., Partensky F., Jacquet S., Vaultot D. Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – 63. – P. 186 – 193.

14. Munro P. D., Birkbeck T. H., Barbour A. Bacterial flora of rotifers (*Brachionus plicatilis*): Evidence for a major location on the external surface and methods for reducing the rotifer bacterial load // Fish Farming Techn. – 1993. – P. 93 – 100.
15. Munro P., Henderson R., Barbour A., Birkbeck T. H. Partial decontamination of rotifers with ultraviolet radiation: the effect of changes in the bacterial load and flora of rotifers on mortalities in start-feeding larval turbot // Aquaculture. – 1999. – **170**. – P. 229 – 244.
16. Rodgers C. J., Furones M. D. Antimicrobial agents in aquaculture: Practice, needs and issues // The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. Options Mediterraneennes. – 2009. – **86**, A. – P. 41 – 59.
17. Subhash S. K., Lipton A. P., Paul Raj R. Antibiotic exposure to minimize microbial load in live feed *Isochrysis galbana* used for larval rearing of Indian pearl oyster *Pinctada fucata* // Current science. – 2004. – **87** (10). – P. 1339 – 1340.
18. Suga K., Tanaka Y., Sakakura Y., Hagiwara A. Axenic culture of *Brachionus plicatilis* using antibiotics // Hydrobiologia. – 2010. – **662**. – P. 113–119.
19. Supranee C., Somsiri T., Bartie K.L Huys G., Oanh D.T.H., Giacomini M., Bertone S. The use of antimicrobials in Asian aquaculture: aims of the EU-Asiarest Project // World Aquaculture (Bangkok, 2005): Abstr. – Bangkok, 2005 – P. 729.
20. Zheng M., Zheng L., Wang L., Han X. Effects of five kinds of antibiotics stressed on chlorophyll fluorescence parameters of *Isochrysis* sp. CCMM5001 // Mar. Environ.l Sci. – 2011. – **4**. – DOI CNKI:SUN:HYHJ.0.2011-04-027.

Поступила 09 февраля 2012 г.  
После доработки 17 января 2013 г.

**Вживання хлорамфеніколу при культивуванні мікроводорості *Isochrysis galbana* і коловерток *Brachionus plicatilis*. Т. В. Рауен.** За допомогою проточної цитометрії досліджували вплив синтетичного антибіотика хлорамфеніколу в концентраціях 5, 10, 50 і 500 мг л<sup>-1</sup> на динаміку чисельності бактерій і клітин мікроводоростей в культурі *Isochrysis galbana* при експонуванні 6 днів. У всіх концентраціях хлорамфенікол надавав токсичну дію на клітини мікроводоростей, що виявлялося в достовірному збільшенні доли клітин з низьким вмістом хлорофілу, представлених мертвими і загибельними клітинами. Токсичний ефект виявлявся після 24 годин експерименту, і його міра була пропорційна концентрації антибіотика. Зниження чисельності бактерій в культурі *I. galbana* спостерігали з другої доби. Мінімальної концентрації антибіотика (5 мг. л<sup>-1</sup>) було достатньо для елімінації чутливих до нього бактерій. Збільшення дози не вело до посилення антибіотичного ефекту. Оброблена хлорамфеніколом (5 мг. л<sup>-1</sup>, 24 год) культура *I. galbana* не надавала токсичного ефекту на коловерток *Brachionus plicatilis*. Чисельність бактерій в середовищі *B. plicatilis* при додаванні обробленої культури мікроводоростей була нижче, ніж в контролі, протягом всього експерименту. Приріст коловерток при живленні обробленою хлорамфеніколом культури *I. galbana*, був декілька вище, ніж в контролі. Ключові слова: мікроводорості, коловертки, хлорамфенікол, проточна цитометрія, *Brachionus plicatilis*, *Isochrysis galbana*

**Use of chloramphenicol in culturing microalgae *Isochrysis galbana* and rotifers *Brachionus plicatilis* as basic live food organisms in aquaculture. T. V. Rauen.** The impact of synthetic antibiotic chloramphenicol (5, 10, 50 and 500 mg l<sup>-1</sup>) on dynamics of *Isochrysis galbana* culture and associated bacterial flora was studied in 7-day experiments. At all the tested concentrations, the antibiotic was shown to produce a toxic effect on the microalgal cells, that was manifested by a significant (p<0.05) an increase in the percentage of dying cells with low chlorophyll content. A pronounced effect was indicated from the day 2 of the experiment and its extent was proportional to the antibiotic concentration. The high antibiotic concentrations caused cell degradation and death. Reduction in bacterial abundance was observed in the microalgal culture from the day 2 of the treatment. The minimal antibiotic concentration of 5 mg l<sup>-1</sup> was enough for elimination of bacterial strains receptive to chloramphenicol, and increase in the dosage did not result in stronger bactericidal effect that was likely due to chloramphenicol-resistant strains. Antibiotic-pretreated (5 mg l<sup>-1</sup> 24 h) culture of *I. galbana* did not have a toxic effect on *Brachionus plicatilis* when it was used for feeding the rotifers. The rate of ingestion of the pretreated microalgae by the rotifers did not differ from those in the control with untreated microalgae as food. However, the bacterial abundance in the rotifer growth medium with the antibiotic-pretreated isochrysis was lower than in the control over the incubation. Yield of the rotifers grown on the chloramphenicol-pretreated live food was insignificantly higher than in the control.

**Key words:** microalgae, rotifers, chloramphenicol, flow cytometry, *Brachionus plicatilis*, *Isochrysis galbana*