

© Коллектив авторов, 2017

УДК 593.13

Е.А. Герасимова¹, К.И. Егорова², А.О. Плотников¹

НОВЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ КЛОНАЛЬНЫХ КУЛЬТУР ЦЕНТРОХЕЛИДНЫХ СОЛНЕЧНИКОВ (HAPTISTA, HACROBIA, CENTROHELEA)

¹ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

² Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

Цель. Разработка удобного и эффективного метода выделения клональных культур и лабораторного культивирования пресноводных и солоноватоводных солнечников.

Материалы и методы. Исследованы пробы воды из рек Письменка и Тузлукколь (Оренбургская область), проводилось выделение накопительных культур солнечников.

Результаты. Разработана методика выделения клональных культур солнечников из накопительной культуры путем отсаживания единственной клетки. Из накопительной культуры тонко оттянутой пипеткой Пастера отдельные клетки солнечников переносили в капли стерильной среды под инвертированным микроскопом, вносили кормовые микроорганизмы *Pseudomonas fluorescens* и *Bodo saltans* или *Bodo saliens* и инкубировали. После размножения клональные культуры просматривали под микроскопом и переносили из капли в чашку Петри со свежей средой. Из полученных клональных культур готовили препараты для сканирующей электронной микроскопии и экстракты для выделения ДНК. Установлены особенности культивирования пресноводных и солоноватоводных солнечников. Обсуждаются достоинства и недостатки разработанного метода.

Заключение. В результате исследования была разработана методика выделения клональных культур пресноводных и солоноватоводных солнечников, заключающаяся в ряде последовательных этапов: отбор пробы воды из водоемов, получение накопительных культур, выделение клональных культур методом отсаживания единственной клетки, поддержание клональных культур методом периодического пересева.

Ключевые слова: солнечники, протисты, Centrohelea, клональная культура.

E.A. Gerasimova¹, K.I. Egorova², A.O. Plotnikov¹

THE NEW METHOD OF CLONAL CULTURES ISOLATION OF CENTROHELID HELIOZOA (HAPTISTA, HACROBIA, CENTROHELEA)

¹ Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, UrB, RAS, Orenburg, Russia

² Orenburg State University, Orenburg, Russia

Objective. Development of a convenient and efficient method of clonal cultures isolation and laboratory cultivation of freshwater and brackish heliozoans.

Materials and methods. Samples of water from the Pishmenka River and the Tuzlukkol River (Orenburg region) were studied; the enrichment cultures of heliozoans were obtained.

Results. The method of clonal cultures isolation of heliozoans from an enrichment culture through passage of a single cell has been developed. From the enrichment culture the isolated cells of heliozoans were transferred with the tapered Pasteur's pipette into drops with sterile medium under inverted microscope; then feed organisms *Pseudomonas fluorescens* and *Bodo saltans* or *Bodo saliens* were added, and the cultures were incubated. After multiplication the clonal cultures were seen in a microscope and transferred from the drop into a Petri dish with a new medium. From obtained clonal cultures, specimens for scanning electron microscopy and extracts for DNA isolation were made. Features of cultivation of fresh and brackish heliozoans have been established. Advantages and disadvantages of developed method are discussed.

Conclusion. As a result of the study the method of clonal cultures isolation of fresh and brackish heliozoans has been developed. The method consists of consequent stages, such as sampling of water from water bodies, obtaining of enrichment cultures, isolation of clonal cultures through passing of a single cell, maintaining of isolated clonal cultures by regular passage.

Keywords: heliozoans, protists, Centrohelea, clonal culture.