

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК582.26:57.044

ОЧИСТКА КУЛЬТУР ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ, КОНТАМИНИРОВАННЫХ КИНЕТОПЛАСТИДОЙ *BODO SALTANS* EHRENBERG, 1832

Н.А. Давидович^{1,2,*}, О.И. Давидович¹, Ю.А. Подунай¹, С.Л. Полякова¹, Р. Гастиньо²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Карадагская научная станция имени Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН», Россия, 298188, г. Феодосия, п. Курортное, ул. Науки, д. 24;

²Natural Sciences Research and Educational Center and Palaeoceanology Unit, Faculty of Geosciences, University of Szczecin, Mickiewicza 16a, Szczecin, 70-383, Poland
*e-mail: karadag-algae@yandex.ru

Культивирование диатомовых водорослей сопряжено со многими проблемами, одна из которых касается контаминации культур различными микроорганизмами. Среди контаминантов нередко встречается представитель кинетопластид, свободноживущий бактериотроф *Bodo saltans* Ehrenberg, 1832. В случае, когда *B. saltans* достигает большой численности, клетки диатомовых в культуре перестают делиться, часть из них погибает, становясь субстратом для развития бактерий, и вслед за этим представителей следующего трофического звена – кинетопластид. Для очистки культур диатомовых мы применили амфотерицин В – полиеновый макроциклический антибиотик, активный в отношении некоторых простейших и грибов. Проверено действие вещества на *B. saltans* в культурах восьми видов диатомовых, включая *Ardissonea crystallina* (C. Agardh) Grunow, *Climaconeis scalaris* (Brébisson) E.J. Cox, *Entomoneis paludosa* (W. Smith) Reimer, *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget, *Pleurosigma aestuarii* (Brébisson ex Kützing) W. Smith, *Pleurosigma* sp., *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle и *P. pungens* (Grunow ex P.T. Cleve) Hasle. Экспериментально определена зависимость темпов деления клеток диатомовых, подвергнувшихся воздействию амфотерицина В, от дозы и продолжительности воздействия. Даны рекомендации по использованию амфотерицина В для очистки культур диатомовых от *B. saltans*.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, культивирование, кинетопластиды, контаминант, *Bodo saltans*, амфотерицин В

Культивирование диатомовых водорослей – далеко не тривиальная задача. Приходится учитывать ряд обстоятельств. Прежде всего, надо отметить сравнительно короткую продолжительность их жизненного цикла, которая составляет, в зависимости от вида и условий роста, от нескольких месяцев до нескольких лет [1]. Жизненный цикл у многих видов состоит из двух фаз – до-репродуктивной и репродуктивной, у некоторых может наблюдаться еще и пострепродуктивная фаза. Переход из одной фазы в другую обусловлен достижением клетками определенных размеров, которые постоянно уменьшаются в результате повторяющихся митотических делений [1, 2]. При достижении критической границы – верхней границы диапазона размеров, допускающих половое воспроизведение – клетки становятся сексуально индуцибельными [3], т.е. способными, при наличии благоприятных условий, приступить к поло-

вому воспроизведению, в результате которого появляются быстро растущие зиготы (ауксоспоры), внутри них формируются инициальные клетки, имеющие наибольшие, характерные для вида размеры. Таким образом, уменьшение размеров клеток в жизненном цикле приводит к неизбежному исчезновению клонов (генетических линий). В процессе полового воспроизведения и ауксоспрообразования исходные размеры клеток в популяции восстанавливаются, но при этом каждый клон потомства будет иметь новую генетическую композицию.

В случае с диатомовыми проблема усугубляется еще тем, что, ввиду их высокой требовательности к условиям содержания, потеря клона может произойти до того, как в процессе полового воспроизведения будут получены клетки новой генерации. Диатомовые весьма чувствительны к составу среды и к продуктам собственного метабо-

лизма. Вследствие автоингибирования и истощения необходимых элементов их рост замедляется, культуры быстро достигают стационарной фазы. Пересевы в свежую среду приходится делать чаще по сравнению с другими одноклеточными водорослями. На практике для поддержания экспоненциальной фазы роста при обычных условиях культивирования пересевы приходится осуществлять каждые 7–10 сут. Поскольку в большинстве коллекций содержатся неаксеничные культуры, задержка с пересевами приводит к тому, что при переходе в стационарную фазу роста, когда клетки диатомовых перестают делиться, а часть из них погибает, в среде интенсивно развиваются бактерии и простейшие.

Разнообразие контаминантов очень велико. Нередко в культурах диатомовых встречается представитель кинетопластид, свободноживущий бактериотроф *Bodo saltans* Ehrenberg, 1832 (рис. 1). Присутствие *B. saltans* в культурах диатомовых водорослей может привести к их гибели. В случае, когда *B. saltans* достигает большой численности, клетки диатомовых перестают делиться, часть из них погибает, становясь субстратом для развития бактерий и, вслед за этим, представителей следующего трофического звена — кинетопластид. Очистка культур от сопутствующих микроорганизмов представляет собой актуальную задачу.

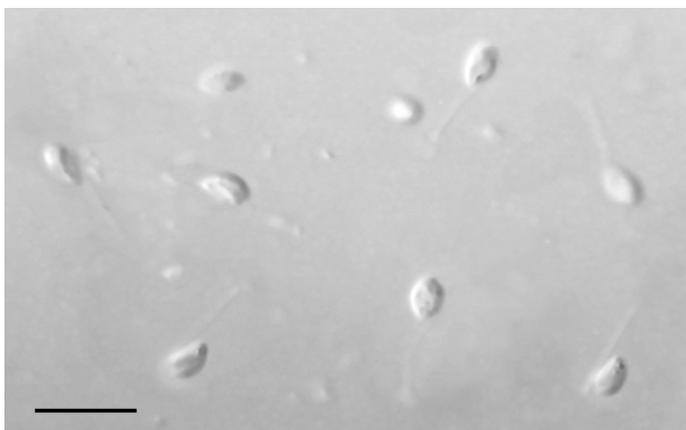


Рис. 1. Кинетопластида *Bodo saltans* Ehrenberg, встречающаяся в неаксеничных культурах диатомовых водорослей. Масштаб 10 мкм.

Мы выполнили серию экспериментов, в которых в качестве основного вещества, активного в отношении кинетопластид, было использовано такое вещество как амфотерицин В. Ставилась задача выяснить устойчивость к нему диатомей, оценив не только темп вегетативного деления клеток, но и сохранение способности к оставлению нового поколения потомства. В статье представлены результаты экспериментов и даны рекомендации по использованию препарата для очистки культур диатомовых от такого контаминанта, как

B. saltans.

Материалы и методы

Для экспериментов были использованы клоновые культуры восьми видов диатомовых водорослей: *Ardissonea crystallina* (C. Agardh) Grunow; *Climaconeis scalaris* (Brébisson) E.J. Cox; *Entomoneis paludosa* (W. Smith) Reimer; *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget; *Pleurosigma aestuarii* (Brébisson ex Kützing) W. Smith; *Pleurosigma* sp.; *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle; *P. pungens* (Grunow ex P.T. Cleve) Hasle. *A. crystallina* относится к полярным центрическим, а остальные — к шовным пеннатным. За исключением планктонных *Pseudo-nitzschia*, все указанные водоросли ведут субстратно-связанный образ жизни, встречаются на поверхности твердых предметов и макрофитов. Пробы, из которых была выделена *Pleurosigma* sp., доставлены из Онежской губы Белого моря. Клоны остальных видов были выделены из бентосных и планктонных проб, отобранных в акватории Карадагского заповедника, бухт г. Севастополя и озера Донузлав (Крымский полуостров). Культуры содержали в модифицированной нами [4] среде ESAW [5]. Ряд клонов оказался контаминирован кинетопластидой *Bodo saltans* Ehrenberg, 1832. Видовую принадлежность выделенного из наших проб *B. saltans* подтвердили данные генетического анализа [6]. Можно отметить также, что идентичными оказались генетические последовательности 18s рибосомальной РНК штамма, изолированного нами из бухты Казачья (Севастополь, Крым), и штамма, изолированного в районе г. Геленджика на Кавказском побережье [7].

Действующее вещество амфотерицин В (полиеновый макроциклический антибиотик с противогрибковой активностью, продуцируемый *Streptomyces nodosus*), представленный в виде сухого лиофилизированного порошка, растворяли в дистиллированной воде. Концентрация базового раствора амфотерицина В составляла 1 г/л. Из базового раствора в соответствии со схемой эксперимента брали необходимое количество для добавления в чашки Петри с клоновыми культурами водорослей, зараженными *B. saltans*. Эксперименты выполняли в двух вариантах: 1) при одной и той же экспозиции в чашки добавляли разное количество амфотерицина В; 2) одно и то же количество вещества добавляли во все чашки, различалась экспозиция. По окончании экспозиции клетки отмывали от амфотерицина В. Для этого бентосные (прикрепленные ко дну чашки Петри) и планктонные формы после осаждения центрифугированием дважды промывали свежей средой, удалив старую. Залив свежую среду в третий раз, культуры оставляли в чашках для последующего изучения эффекта воздействия, который опреде-

ляли по наличию/отсутствию живых (подвижных) клеток *B. saltans*, соотношению живых и мертвых (с разрушенными хлоропластами) клеток диатомовых, темпу деления сохранившихся клеток диатомовых. Для определения темпа деления в первый день (после отмывки) и в последующие 4–5 сут подсчитывали количество клеток в 15 полях зрения микроскопа при одном и том же увеличении. Темп деления (r) рассчитывали, используя уравнение экспоненциального роста численности

$$N_t = N_0 \cdot \exp(r \cdot t), \quad (1)$$

где N_t и N_0 — число клеток соответственно в момент времени t и начальный момент времени t_0 . После преобразования получаем линейное уравнение

$$\ln(N_t / N_0) = r \cdot t, \quad (2)$$

которое можно использовать для расчета по методу наименьших квадратов значений зависимого коэффициента r (размерность сут⁻¹) на основании эмпирически полученных точек. Для того чтобы перейти к размерности делений · сут⁻¹, полученные значения коэффициента r надо поделить на $\ln(2)$ [8]. Ошибку коэффициента r в уравнении линейного вида определяли согласно рекомендациям, изложенным в пособии по биометрии [9]. На графиках представлены средние значения и стандартные ошибки среднего.

Действие амфотерицина В на репродуктивную функцию диатомей проверяли в экспериментах по скрещиванию контрольных пар клонов *Entomoneis paludosa* (клоны 7.0525-А и 7.0525-В) и *Ardissonea crystallina* (8.0125-А и 8.0125-Д), у которых ранее отмечалось аукоспоробразование.

Результаты

Добавление амфотерицина В в среду, вплоть до концентрации 200 мг · л⁻¹, не приводило к мгновенной гибели клеток *B. saltans*, однако при прямом визуальном наблюдении воздействие на кинетопластид было заметно уже через несколько минут после добавления препарата. Изменялся характер движения, оно становилось импульсивным. Затем терялся контакт жгутика с субстратом, клетки поднимались в толщу воды. Через несколько минут клетки округлялись и замирали, паря в толще воды. Так как клетки *B. saltans* находились во взвешенном состоянии, промывка культур средой с амфотерицином В позволила относительно легко очистить от них большинство контаминированных клонов бентосных диатомовых, клетки которых прикреплены к субстрату. Сложнее было очистить культуры *Pseudo-nitzschia*, клетки которых парят в толще воды. Следует заметить, что действие амфотерицина В было летальным не для всех клеток *B. saltans*, после одной-двух промывок часть клеток, оставшихся в культуре, продолжала развиваться. Поэтому для достижения гаранти-

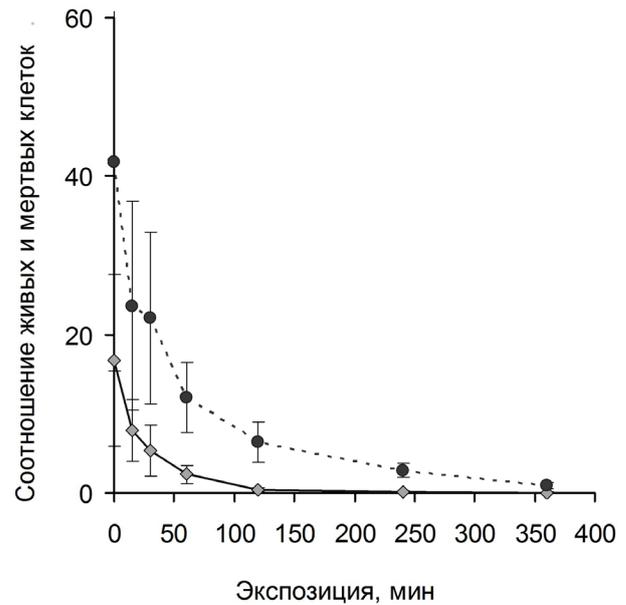


Рис. 2. Соотношение количества живых и мертвых клеток в культуре *Pleurosigma* sp. на вторые (сплошная линия) и четвертые сутки (пунктирная линия) в зависимости от продолжительности воздействия амфотерицином В в концентрации 100 мг · л⁻¹.

рованных результатов очистки выполнялось субклонирование диатомей — из имеющегося клона, после его неоднократной (5–7 раз) промывки амфотерицином В, выделяли и помещали в свежую среду одну или несколько клеток.

Несомненно, антибиотики и фунгициды действуют не только на *B. saltans*, но и на клетки самих диатомовых. Сразу после воздействия препаратом часть клеток диатомовых погибала, однако некоторая часть оставалась в живых и продолжала делиться. Соотношение живых и мертвых клеток диатомовых в культуре после воздействия препаратом зависело как от времени воздействия (рис. 2), так и от дозы препарата (рис. 3). Выжившие клетки диатомей продолжали делиться, поэтому через несколько суток после отмывки от амфотерицина В соотношение живых и мертвых клеток в культурах возрастало, особенно это было заметно у *Haslea karadagensis* и *Pleurosigma* sp. (см. рис. 3А, Б). Представление о физиологическом состоянии клеток после воздействия препаратом в разной концентрации и с разной экспозицией дает такая интегральная характеристика, как темп деления. После обработки амфотерицином В темп деления оставшихся в живых и помещенных в свежую среду клеток *Entomoneis paludosa*, *Haslea karadagensis* и *Pleurosigma* sp. практически остался таким же, как у тех клеток, которые не подвергались воздействию (рис. 4). В то же время, *Ardissonea crystallina* оказалась более чувствительной к амфотерицину В, клетки прекращали делиться и отмирали после одночасового воздействия препаратом в концентрации 50 мг · л⁻¹ и выше. Выжившие клетки

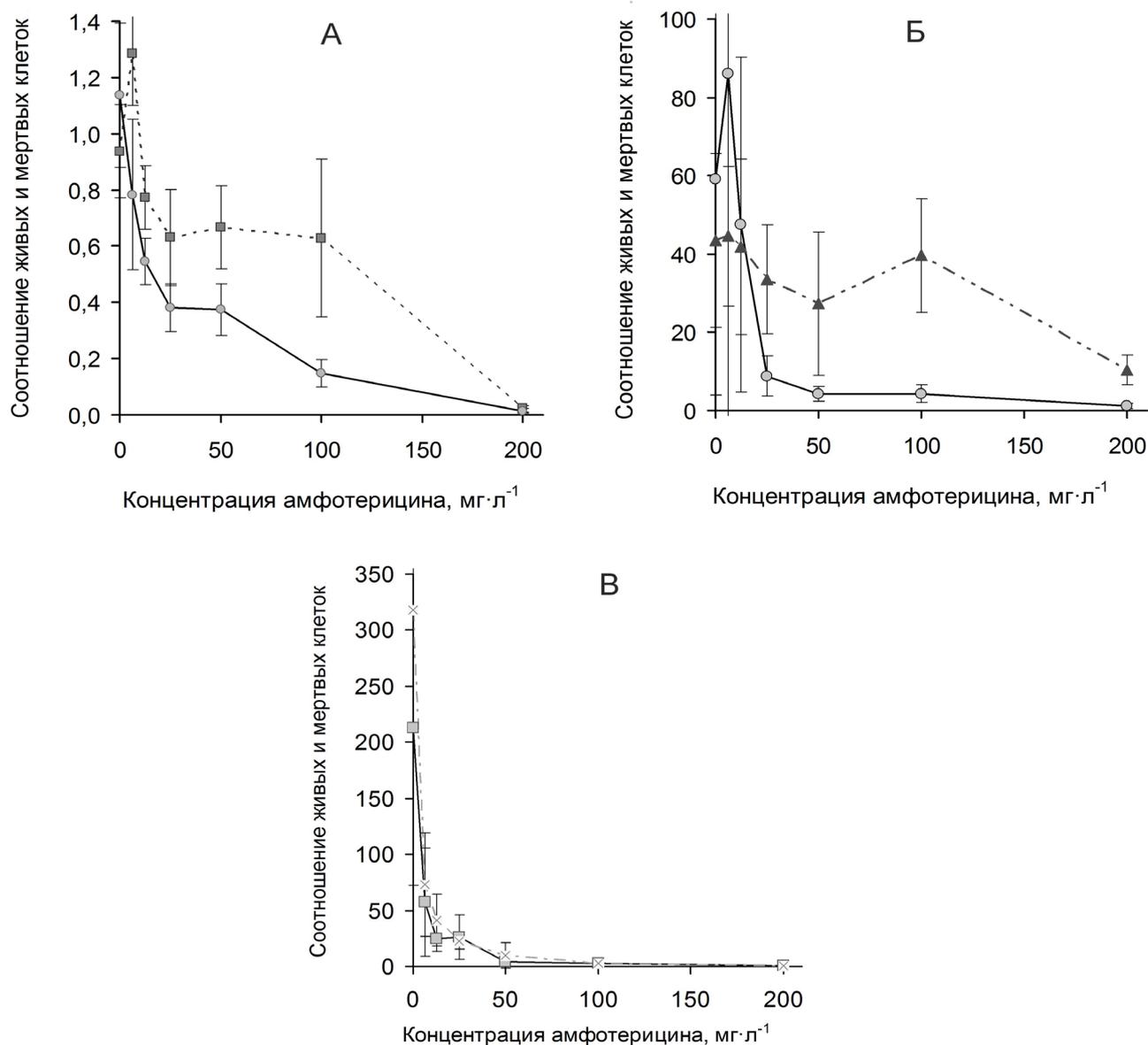


Рис. 3. Соотношение количества живых и мертвых клеток в культурах *Haslea karadagensis* (А), *Pleurosigma* sp. (Б) и *Entomoneis paludosa* (В) через одни сутки (сплошная линия) и четверо суток (пунктирная линия) после обработки амфотерицином В в течение одного часа в зависимости от его концентрации.

Entomoneis paludosa, *Haslea* и *Pleurosigma* оставались подвижными. Цвет, размер и форма хроматофоров у них не изменились, хотя в первые часы после воздействия препарата у части клеток хроматофоры сжимались и обесцвечивались. Наибольшую чувствительность к амфотерицину В продемонстрировали хлоропласты *Climaconeis scalaris*. Препарат в концентрации $50 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ вызывал изменение формы и разрушение хлоропластов у подавляющего большинства клеток *C. scalaris* в течение нескольких минут.

На примере *E. paludosa* и *A. crystallina* проверили способность водорослей к половому воспроизведению после воздействия амфотерицином В ($100 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ в течение 60 мин и $50 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ в течение 30 мин соответственно). В контрольных парах клонов гаметогенез, аукоспорообразование,

формирование инициальных клеток прошли в соответствии с обычной схемой; ни в сроках, ни в процессах отклонений замечено не было.

Обсуждение

Попытки очистить культуры одноклеточных водорослей от посторонних организмов, используя химические препараты и природные биологически активные вещества, предпринимались неоднократно, разработаны специальные процедуры и протоколы [10, 11]. Применяя антибиотики и фунгициды можно очистить культуры водорослей соответственно от бактерий либо микромицетов, а комбинируя препараты, — от тех и других в совокупности. В то же время, можно отметить, что сопутствующая микрофлора в культурах микроводорослей, как правило, не ограничена только

бактериями и грибами. Присутствие бактерий служит хорошим пищевым базисом для следующего трофического звена, в котором свободноживущие кинетопласты играют заметную роль [12].

Bodo saltans распространен повсеместно, обитает в морской и пресной воде, в почве, в болотах, в пещерных водоемах [7, 13, 14], и ряд авторов считает его космополитом [12], хотя последние молекулярные данные показывают значительную генетическую дифференциацию штаммов из разных местообитаний [15]. Клетки *B. saltans* длиной порядка 4–5 мкм, некоторые авторы указывают бóльшие значения, вплоть до 10–15 мкм [13]. Клетки имеют два жгутика, одним из них прикрепляются к субстрату, из-за чего избавиться от этого контаминанта простой промывкой практически невозможно. Прикрепленные к субстрату клетки *B. saltans* осуществляют характерные подергивания и скачки. Питаясь бактериями, *B. saltans* в свою очередь служит пищей для других протистов – например, из рода *Aurigomonas* [16]. Бодониды отличаются высоким темпом деления, в стадии экспоненциального роста культур удвоение численности происходит каждые 3–4 ч [13], что намного превосходит темп деления клеток диатомовых. Известна высокая устойчивость бодонид к токсическим веществам – например, они способны развиваться в массовых количествах в почвах после их обработки различными гербицидами [13].

Повышенный интерес к *B. saltans* не случаен. Его ближайшие родственники, паразитические трипаносоматиды, вызывают значительную смертность людей и домашних животных. В настоящее время активно исследуется геном *B. saltans*. Целью исследований является поиск «внешней группы» для сравнительного геномного анализа. Являясь одним из ближайших родственников трипаносоматид, *B. saltans* может служить моделью для изучения эволюции паразитизма [17]. Дополнительный мотив к изучению *B. saltans* недавно возник в связи с открытием инфицирующего его гигантского вируса из семейства Mimiviridae [18].

Заметим, что до промывки амфотерицином В выполнить субклонирование диатомей было практически невозможно. В микропипетку, с помощью которой осуществляли выделение клеток, непременно попадало большое количество контаминантов. Только благодаря действию препарата оказалось возможным вымыть из культуры

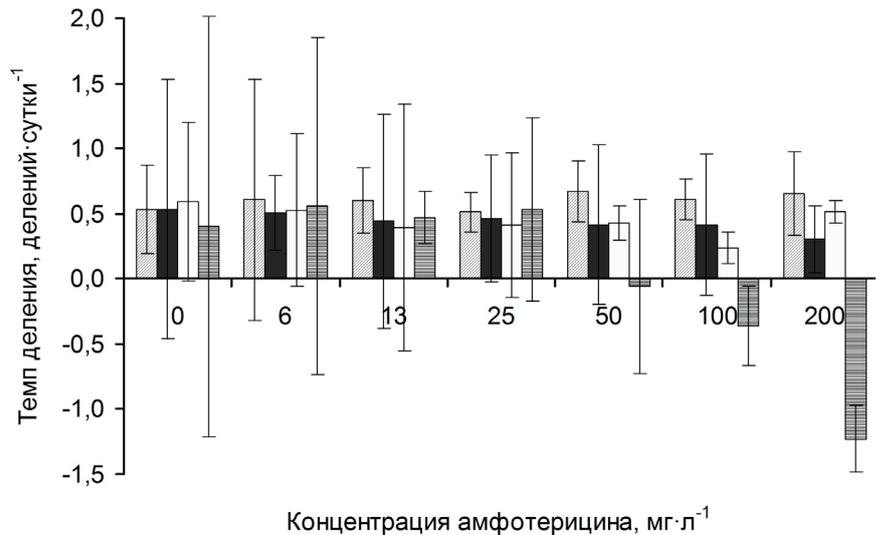


Рис. 4. Темп деления клеток *Haslea karadagensis* (первый столбец слева), *Pleurosigma sp.* (второй столбец), *Entomoneis paludosa* (третий столбец) и *Ardissonaea crystallina* (четвертый столбец) после одночасовой обработки амфотерицином В в разной концентрации (рассчитано по изменению численности за 4–5 сут).

обездвиженные и потерявшие связь с субстратом клетки *B. saltans*, значительно понизив их титр, а вслед за этим выделить субклоны диатомей. Даже если сохранялось всего несколько клеток диатомей, клон мог продолжить существование. В противном случае – без осуществления указанных процедур – клон неизбежно терялся. Несмотря на то, что в первые дни после обработки амфотерицином В темп деления водорослей несколько снижался, в последующие дни он восстанавливался до прежнего уровня, и далее культуры приходилось пересевать с обычной периодичностью. В целом, деконтаминированные культуры выглядели здоровыми, о чем свидетельствовали внешний вид клеток, их подвижность, состояние хлоропластов. Следует указать на то, что не все водоросли одинаково устойчивы к действию амфотерицина В, поэтому подбор дозы препарата и времени экспозиции следует проводить индивидуально в отношении каждого вида.

Примечателен тот факт, что воздействие амфотерицина В не сказывалось на репродуктивной функции диатомовых – по крайней мере, у проверенных в этом отношении *Entomoneis paludosa* и наиболее чувствительной к амфотерицину В из изученных видов *Ardissonaea crystallina*.

После устранения *B. saltans* из культур в тех из них, в которых было много погибших диатомовых, обнаруживалась (до следующих пересевов) повышенная концентрация бактерий, что легко объяснить попаданием в среду органических веществ из разрушенных клеток. Заметим, что в

культурах, контаминированных исключительно бактериями, диатомовые чувствовали себя лучше, чем в тех случаях, когда в них присутствовал также *B. saltans*. Случаев гибели таких культур мы не отмечали.

В заключение отметим, что такой антибиотик, как амфотерицин В может быть использован для очистки культур диатомовых от посторонних организмов и, в частности, от кинетопластид, однако важно помнить, что для обеспечения чистоты культуры, помимо соблюдения всех классических приемов, принятых в микробиологической практике, одним из важнейших требований является содержание водорослей в благоприятных условиях, для чего необходимо осуществлять регулярные и своевременные пересевы. Применительно к диатомовым это означает необходимость

недопущения перехода культур в стационарную фазу роста и, тем более, в фазу деградации, когда в среде в большом количестве развиваются бактерии, а вслед за ними гетеротрофные кинетопластиды.

Исследование выполнено в рамках государственного задания по теме «Изучение фундаментальных физических, физиолого-биохимических, репродуктивных, популяционных и поведенческих характеристик морских гидробионтов», № госрегистрации АААА-А19-119012490045-0.

Исследования выполнены без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mann D.G. Size and sex // The diatom world. Cellular origin, life in extreme habitats and astrobiology. Vol. 19 / Eds. J. Seckbach and J.P. Kociolek. Dordrecht: Springer, 2011. P. 145–166.
2. Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. The Diatoms. Biology and morphology of the genera. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1990. 747 pp.
3. Geitler L. Reproduction and life history in diatoms // Botanical Rev. 1935. Vol. 1. N 5. P. 149–161.
4. Полякова С.Л., Давидович О.И., Подунай Ю.А., Давидович Н.А. Модификация среды ESAW, используемой для культивирования морских диатомовых водорослей // Морской биол. журн. 2018. Т. 3. № 2. С 73–78.
5. Andersen R.A., Berges J.A., Harrison P.J., Watanabe M.M. Recipes for freshwater and seawater media // Algal culturing techniques / Ed. R.A. Andersen. N.Y.: Elsevier Academic Press, 2005. P. 429–538.
6. Gastineau R., Lemieux C., Turmel M., Davidovich N.A., Davidovich O.I., Mouget J.-L., Witkowski A. Mitogenome sequence of a Black Sea isolate of the kinetoplastid *Bodo saltans* // Mitochondrial DNA Part B. 2018. Vol. 3. N 2. P. 970–971.
7. Scheckenbach F., Wylezich C., Mylnikov A.P., Weitere M., Arndt H. Molecular comparisons of freshwater and marine isolates of the same morphospecies of heterotrophic flagellates // Appl. Environ. Microbiol. 2006. Vol. 72. N 10. P. 6638–6643.
8. Wood A.M., Everroad R.C., Wingard L.M. Measuring growth rates in microalgal cultures // Algal culturing techniques / Ed. R.A. Andersen. N.Y.: Elsevier Academic Press, 2005. P. 269–286.
9. Glantz S.A. Primer of biostatistics. N.Y.: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1997. 473 pp.
10. Droop S.J.M. A procedure for routine purification of algal cultures with antibiotics // Br. Phycol. Bull. 1967. Vol. 3. N 2. P. 295–297.
11. Guillard R.R.L. Purification methods for microalgae // Algal culturing techniques / Ed. R.A. Andersen. N.Y.: Elsevier Academic Press, 2005. P. 117–132.
12. Mitchell G.C., Baker J.H., Sleigh M.A. Feeding of a freshwater flagellate, *Bodo saltans*, on diverse bacteria // J. Eukar. Microbiol. 1988. Vol. 35. N 2. P. 219–222.
13. Жуков Б.Ф. Атлас пресноводных гетеротрофных жгутиконосцев (биология, экология, систематика). Рыбинск: Рыб. Дом печати, 1993. 160 с.
14. Arndt H., Dietrich D., Auer B., Cleven E.-J., Gräfenhan T., Weitere M., Mylnikov A.P. Functional diversity of heterotrophic flagellates in aquatic ecosystems // The flagellates: unity, diversity and evolution. Vol. 59 / Eds. B.S.C. Leadbeater and J.C. Green. London: Taylor and Francis, 2000. P. 240–268.
15. von der Heyden S., Cavalier-Smith T. Culturing and environmental DNA sequencing uncover hidden kinetoplastid biodiversity and a major marine clade within ancestrally freshwater *Neobodo designis* // Intern. J. Syst. Evol. Microbiol. 2005. Vol. 55. N 6. P. 2605–2621.
16. Vickerman K., Appleton P. L., Clarke K. J., Moreira D. *Aurigamonas solis* n. gen., n. sp., a soil-dwelling predator with unusual helioflagellate organisation and belonging to a novel clade within the Cercozoa // Protist. 2005. Vol. 156. N 3. P. 335–354.
17. Yazaki E., Ishikawa S.A., Kume K., Kumagai A., Kamaishi T., Tanifuji G., Hashimoto

T., Inagaki Y. Global Kinetoplastea phylogeny inferred from a large-scale multigene alignment including parasitic species for better understanding transitions from a free-living to a parasitic lifestyle // *Genes Genet. Syst.* 2017. Vol. 92. N 1. P. 35–42.

18. Deeg C.M., Chow C.-E.T., Suttle C.A. The kinetoplastid-infecting *Bodo saltans* virus

(BsV), a window into the most abundant giant viruses in the sea // *eLife*. 2018. Vol. 7: e33014.

Поступила в редакцию 31.01.2019 г.

После доработки 05.04.2019 г.

Принята в печать 16.04.2019 г.

RESEARCH ARTICLE

TREATING OF DIATOM ALGAE CULTURES CONTAMINATED WITH THE KINETOPLASTID *BODO SALTANS* EHRENBERG, 1832

N.A. Davidovich^{1,2,*}, O.I. Davidovich¹, Yu.A. Podunay¹, S.L. Polyakova¹, R. Gastineau²

¹Federal State Budget Scientific Institution «T.I. Vyazemsky Karadag Scientific Station – Nature Reserve of the Russian Academy of Sciences», Nauki str. 24, Kurortnoye, 298188, Russia;

²Natural Sciences Research and Educational Center and Palaeoceanology Unit, Faculty of Geosciences, University of Szczecin, Mickiewicza 16a, Szczecin, 70-383, Poland

*e-mail: karadag-algae@yandex.ru

Cultivation of diatom algae is associated with many problems, one of them concerns the contamination of cultures with various microorganisms. A representative of kinetoplastids, the free-living bacteriotroph *Bodo saltans* Ehrenberg, 1832 can be often found among contaminants. In the case when *B. saltans* reaches a large number, diatom cells cease to divide, some of them die, becoming a substrate for the development of bacteria, and for the next trophic link, kinetoplastids. For the decontamination of diatom cultures, we used amphotericin B, a polyene macrocyclic antibiotic active against some protozoa and fungi. The effect of the drug on *B. saltans* in cultures of eight species of diatoms, including *Ardissonea crystallina* (C. Agardh) Grunow, *Climaconeis scalaris* (Brébisson) E.J. Cox, *Entomoneis paludosa* (W. Smith) Reimer, *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget, *Pleurosigma aestuarii* (Brébisson ex Kützing) W. Smith, *Pleurosigma* sp., *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle, and *P. pungens* (Grunow ex P.T. Cleve) Hasle was investigated. The rate of division of diatom cells exposed to amphotericin B, depending on the dose and duration of exposure, was experimentally determined. Recommendations on the use of amphotericin B for the decontamination of diatom cultures from *B. saltans* are given.

Keywords: diatoms, cultivation, kinetoplastidae, contaminant, *Bodo saltans*, amphotericin B

Сведения об авторах

Давидович Николай Александрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории водорослей и микробиоты ФГБУН «КНС–ПЗ РАН». Тел.: 8-365-622-62-12; e-mail: karadag-algae@yandex.ru

Давидович Ольга Ивановна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории водорослей и микробиоты ФГБУН «КНС–ПЗ РАН». Тел.: 8-365-622-62-12; e-mail: olivdav@mail.ru

Подунай Юлия Александровна – науч. сотр. лаборатории водорослей и микробиоты ФГБУН «КНС–ПЗ РАН». Тел.: 8-365-622-62-12; e-mail: grab-ua@yandex.ua

Полякова Светлана Леонидовна – мл. науч. сотр. лаборатории водорослей и микробиоты ФГБУН «КНС–ПЗ РАН». Тел.: 8-365-622-62-12; e-mail: svetlana.poliakova.77@mail.ru

Гастиньо Роман (Gastineau Romain) – Ph.D., научный сотрудник (research assistant), Natural Sciences Research and Educational Center and Palaeoceanology Unit, Faculty of Geosciences, University of Szczecin, Szczecin, Poland. Тел.: +48-91-444-1000; e-mail: gastineauromain@yahoo.fr