

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ХРАНЕНИЮ РАБОЧЕЙ КОЛЛЕКЦИИ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР МИКРОМИЦЕТОВ В ПРОБИРКАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИАКРИЛАТА НАТРИЯ

М.М. Яремеева, А.Ф. Белосохов, С.Н. Еланский

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Разработка подходов к поддержанию коллекций чистых культур штаммов микромицетов ведется уже давно, и к настоящему времени существует несколько различных методов как кратковременного, так и долгосрочного хранения (Smith, 2002; Похиленко и др., 2009). Сейчас все большее распространение получают методы криоконсервации (Smith, Onions, 1983; Homolka, 2013). Тем не менее, при постоянной работе с культурами требуется поддержание изолятов на питательных средах в живом состоянии, так как при использовании криоконсервации для хранения культур при выведении штаммов из глубокой заморозки необходимо дополнительное время перед непосредственным включением их в работу исследователя. Более того, многие лаборатории не оборудованы низкотемпературными холодильниками и вынуждены хранить коллекцию микромицетов традиционным методом в пробирках, заткнутых ватно-марлевыми пробками. Традиционный метод хранения на скошенном агаре требует производить пересев культур раз в полгода при хранении при комнатной температуре и раз в год при хранении в холодильнике из-за высыхания среды. Это время – и трудозатратный процесс, при котором, в связи с частыми пересевами, увеличивается риск контаминации культур и вырождения исходных изолятов. Таким образом, совершенствование методов хранения рабочей коллекции исследователя не теряет актуальности. В работе предложен новый подход к традиционному методу: использование недорогого и подходящего для роста мицелиальных грибов материала – гидрогеля.

Апробацию проводили на коллекции микромицетов, выделенных с клубней картофеля в период с 2017 по 2019 год. В работе были использованы культуры нескольких родов: *Fusarium*, *Clonostachys*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Penicillium*. В качестве субстрата для роста колоний использовали прозрачный гидрогель (полиакрилат натрия, производитель Listok) в шариках 7 мм. Для создания питательной среды гидрогель насыщали стандартной жидкой картофельно-глюкозной средой или разведенным мальтозным экстрактом. Пробирки, заполненные гидрогелем с питательной средой, стерилизовали автоклавированием в течение 30 мин при 1 атм. Затем в них помещали агаровый блок с мицелием или спорами, эксперимент ставили в двух по-

вторностях. После 7-14 дней роста изолята ватно-марлевую пробку одной из пробирок вынимали и верх пробирки закрывали поливинилхлоридной пленкой или парафином (Parafilm M). Хранили культуры при комнатной температуре (+22-25°C) и в холодильнике (+4°C) в течение одного года.

Независимо от температуры, штаммы, выросшие на гидрогеле, даже по прошествии года сохранили жизнеспособность. Предложенный метод избавляет от необходимости ежегодных пересевов: при подсыхании достаточно добавить в пробирку жидкую питательную среду, или стерильный насыщенный ею гидрогель, если большая часть субстрата с мицелием использована в работе. При этом снижаются затраты, так как гидрогель – недорогой и широко распространенный материал. Стоит отметить, что поливинилхлоридная пленка снижает высыхание, но не препятствует газообмену. Кроме того, в отличие от парафила, она не теряет качество со временем, в течение длительного периода оставаясь эластичной.

Таким образом, метод культивирования микромицетов на полиакрилатном геле в сочетании с использованием ПВХ пленки с одной стороны является доступным, позволяет контролировать чистоту штаммов и при этом уменьшить частоту пересевов, а с другой стороны оставляет возможность исследователю постоянно работать с культурами.

Список литературы

1. Smith D. 37 Culturing, Preservation and Maintenance of Fungi //Plant pathologist's pocketbook. – 2002. – С. 384.
2. Похиленко В. Д., Баранов А. М., Дегушев К. В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития //Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2009. – №. 4.
3. Smith D., Onions A. H. S. A comparison of some preservation techniques for fungi //Transactions of the British Mycological Society. – 1983. – Т. 81. – №. 3. – С. 535-540.
4. Homolka L. Methods of cryopreservation in fungi // Laboratory protocols in fungal biology. – Springer, New York, NY, 2013. – С. 9-16.