

**Характеристика нового эукариотического эндобионта инфузорий из
комплекса видов *Paramecium aurelia***

Научный руководитель – Сабанеева Елена Валентиновна

Яковлева Юлия Александровна

Студент (бакалавр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: st041958@student.spbu.ru

Симбиоз очень широко представлен среди различных групп организмов, в том числе инфузорий, принадлежащих к комплексу видов *Paramecium aurelia*. Они нередко являются хозяевами экто- и эндосимбионтов, поскольку эукариотическая клетка является одной из глобальных экологических ниш для микроорганизмов. Взаимоотношения между хозяином и эндобионтом могут принимать различные формы, включающие в себя как мутуализм, так и паразитизм.

Клон SPM5-3 был выделен из природной популяции *P. aurelia* в Испании в 2015 г. Исследования проводили с помощью методов дифференциальной интерференционно-контрастной микроскопии (DIC), флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, атомно-силовой и электронной микроскопии.

В живых инфузориях были обнаружены эндобионты, находившиеся на различных стадиях жизненного цикла: более прозрачные ранние стадии размером 4-5 мкм, неправильной или сферической формы и более плотные поздние стадии характерной сферической формы размером 5 мкм. Эндобионты локализованы в цитоплазме и окружены мембраной паразитофорной вакуоли, в которой располагаются, как правило, поодиночке. Гибридизация *in situ* с олигонуклеотидным зондом, специфичным к 16S рРНК эубактерий, дала негативный результат. Вместе с тем, окрашивание клеток DAPI, специфически связываемым с ДНК, показало наличие в цитоплазме многочисленных ядер, принадлежащих эндобионтам. На электронных микрофотографиях были также обнаружены различные стадии жизненного цикла симбионта. Ранние стадии имеют неправильную или шаровидную форму, на них виден хорошо развитый шЭПР и фрагменты полярной трубки. В строении зрелой формы заметны крупная вакуоль, электронно-плотный наружный слой и находящийся под ним электронно-прозрачный слой (предположительно, экзоспор и эндоспор стенки соответственно), а также фрагменты полярной трубки в поперечном и продольном сечениях. Основываясь на особенностях ультраструктуры эндобионта, можно сделать вывод о его принадлежности к группе *Microsporidia*.

Исследована инфекционная способность эндобионтов в отношении культуры клеток *P. caudatum* и различных клонов *P. aurelia*. Показано, что эндобионты не способны заражать инфузорий *P. caudatum*, однако была выявлена инфекционная способность в отношении 3-х из 8-ми протестированных клонов *P. aurelia*. Экспериментальное заражение стабильно поддерживается на протяжении нескольких месяцев, однако приводит к заметному уменьшению размеров клетки-хозяина. В связи с тем, что *P. aurelia* является комплексом видов, необходимо определить видовую принадлежность чувствительных и резистентных к заражению клонов. С этой целью протестированные клоны зафиксированы для последующего выделения ДНК и молекулярной характеристики генов, кодирующих COI и COII.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04-06410) с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ: «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и «Центр микроскопии и микроанализа».