

УДК 504.064.36: 574.579.26

А.А. Усербаева, Ф.К. Сарсекеева, К. Болатхан, Б.К. Заядан
 Казахский национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан
 *e-mail: aizhan_usherbaeva@mail.ru

Морфолого-культуральные свойства выделенных штаммов цианобактерий из экстремальных природных условий

Впервые приведены результаты исследования цианобактериального состава экстремальных природных зон (горячий источник Турген, залив Курты озера Балхаш, озеро Иссык) Казахстана. Получены следующие альгологически и бактериологически чистые культуры цианобактерий *Spirulina* sp. B12, *Synechococcus* sp. I12, *Synechocystis* sp. BT5612, *Nostoc* sp. B34. Изучены их морфолого-культуральные свойства и установлены оптимальные условия культивирования для выделенных штаммов *Synechococcus* sp. I12 и *Synechocystis* sp. BT5612.

Ключевые слова: экстремальные природные условия, цианобактерии

А.А. Усербаева, Ф.К. Сарсекеева, К. Болатхан, Б.К. Заядан

Экстремальды табиғи аймақтарынан бөлініп алынған цианобактерияларының морфологиялық-культуральды қасиеттері зерттеу

Қазақстанның экстремальды табиғи аймақтарынан (Турген ыстық су көзі, Балқаш көлі, Есік көлі) бөлініп алынған *Spirulina* sp. B12, *Synechococcus* sp. I12, *Synechocystis* sp. BT5612, *Nostoc* sp. B34 цианобактерияларының бактериологиялық және альгологиялық таза дақылдары алынды. Бөлініп алынған *Synechococcus* sp. I12 и *Synechocystis* sp. BT5612 штамдарының дақылдануына қолайлы жағдайлар анықталынып, морфологиялық-культуральды қасиеттері зерттелінді.

Түйін сөздер: экстремальды табиғи жағдай, цианобактериялар

A.A. Ussebayeva, F.K. Sarsekeeva, Bolatkhan K., B.K. Zaydan.

Morphological and cultural properties of cyanobacterial strains isolated from extreme natural conditions

Obtained algological and bacteriologically pure cultures of cyanobacteria *Spirulina* sp. B12, *Synechococcus* sp. I12, *Synechocystis* sp. BT5612, *Nostoc* sp. B34 isolated from extreme natural areas (hot spring Turgen, lake Balkhash, lake Issyk) Kazakhstan. Studied their morphological and cultural properties and set the optimal culture conditions for the isolated strains *Synechococcus* sp. I12 and *Synechocystis* sp. BT5612.

Keywords: extreme natural conditions, cyanobacteria

Успехи в развитии науки и техники обусловили в последние годы более углубленное изучение во всем мире сырьевых, в том числе водных биоресурсов [1].

Одним из мест обитаний современных цианобактерий являются минеральные термальные источники, физико-химические условия в которых близки к древним. В термальных источниках цианобактериальные маты формируют представители определенных родов цианобактерий (в основном, это - *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Calothrix*, *Fischerella*, *Microcoleus*) [2]. Из Котельниковского термального источника Байкальской рифтовой зоны были выделены два штамма цианобактерий *Pseudanabaena* sp. nov. и *Synechococcus bigranulatus* Skuja [3]. Приспособленность термофильных организмов к активной жизни при высокой температуре

базируется на своеобразии физико-химических, структурных и функциональных свойств всех компонентов клетки и выше благодаря своеобразному коллоидному состоянию протоплазмы, которая очень медленно коагулирует [4].

Многими авторами подтверждена перспективность использования цианобактерий в качестве источника разнообразных биологически активных веществ. Некоторые из этих веществ могут служить ценным сырьем для производства фармацевтической, косметической продукции, стимуляторов продуктивности сельскохозяйственных животных и урожайности сельскохозяйственных культур [5].

Целью исследования явилось выделение и получение чистых культур цианобактерий из экстремальных природных условий.

Материал и методы

Объектами данной работы являлись выделенные культуры цианобактерий из горячего источника п. Тургень, залива Курты озера Балхаш и озера Иссык.

Для приготовления накопительной культуры проводили посев собранного материала (несколько кубических сантиметров воды, зеленый налет, слизь и т.д.) в колбочки со стерильной жидкой питательной средой, использовали среды Заррука, BG-11 и Громова №6. Чистые культуры цианобактерий были получены многократным пересевом на селективные питательные среды и их стерильность определялась путем культивирования на LB. Культивирование проводили в условиях лабораторного люминистата в непрерывном режиме при температуре 25–40°C [6].

Оптическую плотность культур регистрировали на спектрофотометре PD -303 UV с длиной волны 750 нм.

Определение таксономической принадлежности цианобактерий проводили на световом микроскопе Axio Imager A1 (“Carl Zeiss”, Германия) по определителям [7, 8].

Результаты и их обсуждение

Пробы цианобактериальных матов отбирали в июне 2013г из озера Иссык, Енбекшиказахского района Алматинской обл. (температура воды 13°C, pH 6). Пробы из горячего источника п. Тургень, Енбекшиказахского района Алматинской обл. (температура источника 50°C, pH 5) и из восточной части озера Балхаш залива Курты (солёность от 3,5 до 6 г/л), были отобраны в октябре 2013 г. В исследованных источниках наблюдались плавающие и прикрепленные цианобактериальные маты изумрудно-зеленого и темно-зеленого цвета (рис. 1, а–в). На поверхности некоторых цианобактериальных пленок наблюдались многочисленные пузырьки газа, что свидетельствует об интенсивности фотосинтеза, протекавшего в мате (рис. 1, а).



Рисунок 1 - Цианобактериальные маты, развивающиеся в природе:

а – Горячий источник Тургень; б, в – оз. Иссык

Сбор проб воды из горячего источника Тургень, производился в 3 местах, расположенных друг от друга на расстоянии 3 м., на заливе Курты в 6-ти местах, а из оз. Иссык в 5-ти. В результате микроскопирования проб было обнаружено 12 разновидностей цианобактерий, из них: р. *Spirulina* – 3, р. *Nostoc* – 2, р. *Synechocystis* – 4 и р. *Synechococcus* – 3.

В лабораторных условиях, все штаммы были культивированы в трех различных питательных средах в течение четырех суток. Результаты исследования показали, что повышенный рост опытных штаммов отмечалось при культивировании на среде BG-11, в то время

как на среде Заррука и Громова №6 никакого роста культур не наблюдалось. В связи с этим нами была выбрана питательная среда BG-11 для дальнейшей инкубации вновь выделенных культур цианобактерий.

Нами были выделены 10 альгологически и бактериологически чистых вновь выделенных штаммов цианобактерий, предварительно названные как Т1, Т2, Б1, Б2, Б3, Б4, Б5, Б6, И1, И2.

Культуры Б1, Б2 были выделены из цианобактериальных матов горячего источника Тургень, оз. Иссык и залива Курты соответственно. При их культивировании образовывали пленку на стенках колб.

Многочлеточные водоросли. Трихомы культур состоят из одного ряда цилиндрических нитей. Нити водоросли спирально изогнуты. Длина клеток в среднем около 5.5 мкм, ширина 1.2 мкм, с тонкой оболочкой. Конечные клетки у зрелых трихомов удлинненные и закругленные. По своим морфологическим характеристикам, лишь с некоторыми вариациями в размерах, они были идентичны *Spirulina sp.* [8, 9] (рис. 2 а, б).

Культуры Б3, Б4 были выделены из залива Курты оз. Балхаш. Представляет собою нитчатую водоросль. Трихомы прямые. Нити состоят из одинаковых по величине шарообразных или слегка сплюснутых клеток. Длина каждой клетки от 3–3.5 мкм и шириной 2,3-3 мкм. Гетероцисты одиночные, расположены на концах трихомов или в середине. По морфологическим характеристикам определены как *Nostoc sp.* [7, 8, 9] (рисунок 3 а, б).

Культура И1, И2 была выделена из Иссыкского озера. Клетки палочковидной формы с закругленными концами, одиночные сине-зеленого цвета, с тонкой оболочкой. Ширина взрослой клетки около 2 мкм, длина от 3-7 мкм. Размножаются делением пополам. По

морфологическим характеристикам определены как *Synechococcus* [8] (рисунок 5 а, б).

Культуры Б5, Б6, Т1, Т2 были выделены из залива Курты оз. Балхаш и горячего источника Тургень соответственно. Световая микроскопия показала, что штаммы Б2, Б4, Т2, Т3 имеют шаровидные клетки, с тонкой оболочкой, одиночные от бледно до ярких сине-зеленые. Размножаются делением пополам. По морфологическим характеристикам определены как *Synechocystis* [7, 8] (рисунок 4 а-г). Проведенная световая микроскопия позволила нам отобрать четыре монокультур цианобактерий: *Spirulina sp.* Б12, *Synechococcus sp.* И12, *Synechocystis sp.* БТ5612, *Nostoc sp.* Б34.

На стабильность цианобактерий, ферментативный состав, скорость химической реакции и динамику роста влияют такие важные факторы как температура и рН среды. Для любого живого организма существуют свои показатели оптимальной температуры и рН среды. В настоящее время одноклеточные цианобактерии привлекают своей перспективностью в биотехнологии [10].

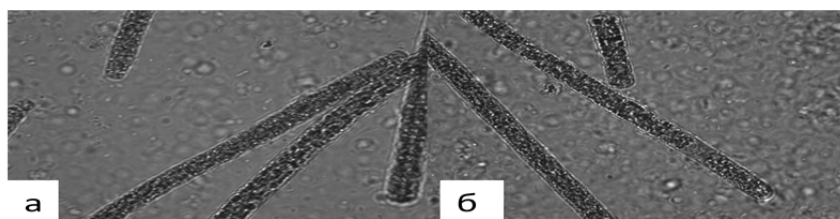


Рисунок 2 - Морфология культур цианобактерий (увеличение 1x100): а – культура Б1; б – культура Б2. Длина масштабной линейки 10 мкм.

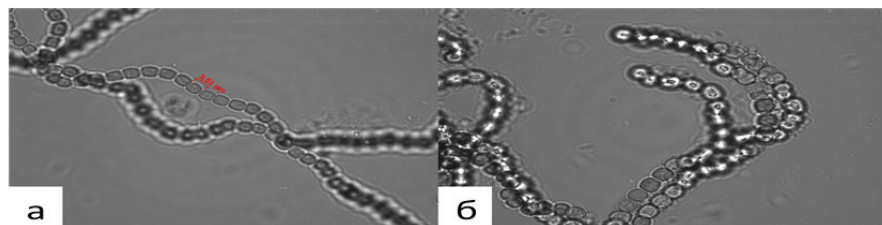


Рисунок 3 - Морфология культур цианобактерий (увеличение 1x100): а – культура Б3; б – культура Б4. Длина масштабной линейки 10 мкм.

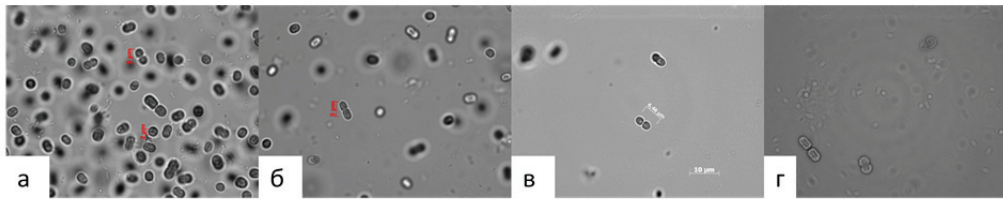


Рисунок 4 - Морфология культур цианобактерий (увеличение 1x100): а – культура Т1, б – культура Т2; в – культура Б5; г – культура Б6. Длина масштабной линейки 10 мкм.

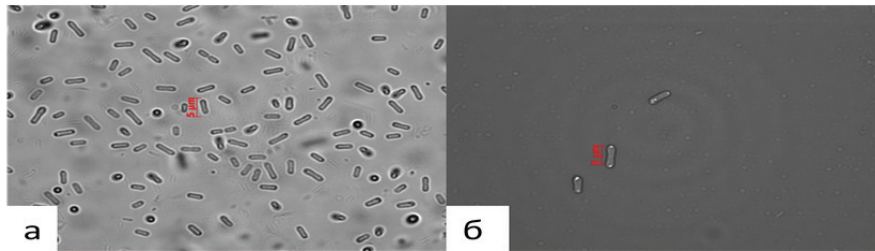


Рисунок 5 - Морфология культур цианобактерий (увеличение 1x100): а – культура И1; б – культура И2. Длина масштабной линейки 10 мкм.

В связи с этим нами было исследовано влияние pH среды (5,7,9) и температуры (25⁰С, 30⁰С, 40⁰С) на рост выделенные штаммы *Synechococcus sp. И12* и *Synechocystis BT5623* в течение 10 суток. Начальная плотность двух исследуемых штаммов составляла -0,02.

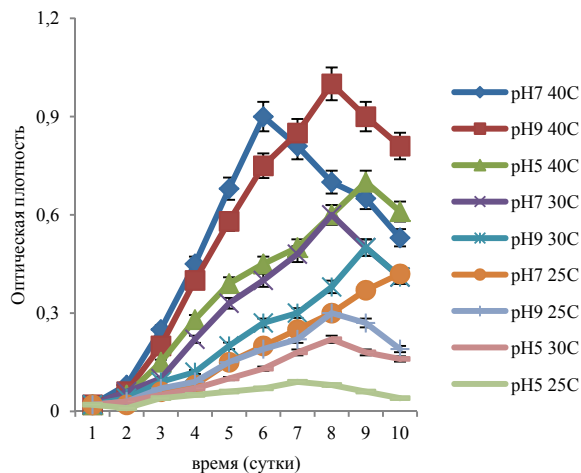


Рисунок 7 - Влияние температуры pH среды на оптическую плотность выделенного штамма *Synechococcus sp. И12*.

Штаммы *Synechococcus sp. И12* и *Synechocystis BT5623* с первого дня культивирования, показали хороший рост при температуре 40⁰С и pH 7. Максимальная оптическая плотность выделенного штамма *Synechococcus sp. И12* при температуре 40⁰С и pH 9 наблюдалась на 8-ые сутки

культивирования и достигала 0,8. В это время минимальный показатель оптической плотности при температуре 25⁰С и pH 5 и составлял 0,08. (рисунок 7).

На рисунке 7 показано, что оптимальной условием для цианобактерии *Synechococcus sp. И12* является культивирование при температуре 40⁰С и pH 7-9.

Для выделенного штамма цианобактерии *Synechocystis BT5612*, оптимальным условием культивирования являлось- температура 40⁰С, pH7-9 (рисунок 8).

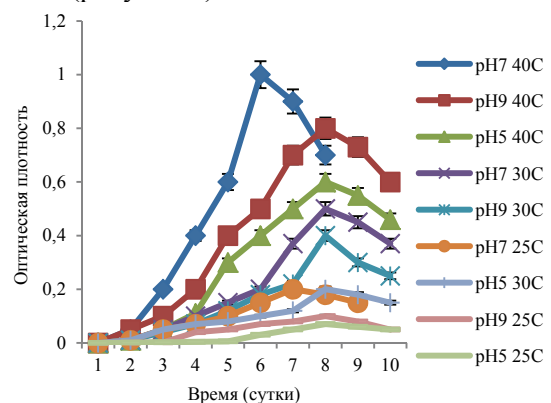


Рисунок 8 - Влияние температуры pH среды на оптическую плотность выделенного штамма *Synechocystis BT5612*.

На рисунок 8 можно увидеть, что максимальный показатель оптической плотности у штамма, наблюдалось на 6-ые

сутки при температуре 40⁰С и рН 7 и составляет – 0,9. А минимальный показатель - при температура 25⁰С и рН5 на 8-ые сутки культивирования и составляет- 0,19.

Таким образом, в составе цианобактериальных матов горячего источника Тургень, залива Курты озера Балхаш, озера Иссык – получено 10 альгологически и бактериологически чистых культур цианобактерий. Для культивирования вновь выделенных цианобактерий нами была выбрана питательная среда BG-11. Очевидна необходимость дальнейшей идентификации выделенных культур на молекулярном уровне. Оптимизация условий и технологии культивирования.

Таким образом, изучен цианобактериальный состав различных экстремальных экосистем (горячий источник Тургень, залив Курты, оз. Иссык) и выявлено, что выделенные культуры относятся к следующим родам: *Spirulina*, *Synechococcus*, *Synechocystis*, *Nostoc*. Выделены альгологически и бактериологически чистые культуры цианобактерий: *Spirulina* sp. БТ112, *Synechococcus* sp. И12, *Synechocystis* БТ5623, *Nostoc* sp. Б34. В результате исследования показано, что оптимальным условием роста для штаммов *Synechococcus* sp. И12 и *Synechocystis* БТ5612 является культивирование при температуре 40⁰С и рН 7-9.

Литература

- 1 Ефимова М. В. Синезеленые водоросли (цианобактерии) поверхностных термопроявлений Камчатки и возможности их использования в биотехнологии. Автореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток. 2005. 151 с.
- 2 Bonch-Osmolovskaya E.A., Miroschnichenko M.L., Slobodkin A.I., Sokolova T.G., Karpov G.A., Kostrikina N.A., Zavarzina D.G., Prokofieva M.I., Rusanov I.I., Pimenov N.V. // *Microbiology*. 1999. V. 68 (3). P. 343.
- 3 Бактериальная палеонтология / Ред. Ю. Розанов. М.:2002. 189 с.
- 4 Е.Г. Сороковикова, И.В. Тихонова, О.И. Белых и др., Идентификация двух штаммов цианобактерий из Котельниковского термального источника Байкальской рифтовой зоны//*Микробиология. Экспериментальные статьи*. Иркутск, 2008. Т 77. № 3. с. 413-420
- 5 Ефимов А.А., Ефимова М.В. Синезеленые водоросли гидротерм камчатки как сырье для получения биологически активных веществ// *Материалы конференций «фундаментальные исследования» Петропавловск-Камчатский, Россия. №10, 2007*
- 6 Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К. Коллекция микроводорослей и методы их культивирования. Научно-методическое пособие. Алматы: Изд-во «Литер», 2013. 158 с.
- 7 Определитель сине-зеленых водорослей Средней Азии, 1 - 3 том, 1987;
- 8 Lawton, L., B. Marsalek, J. Padisák, and I. Chorus. 1999. Determination of cyanobacteria in the laboratory, p. 347-367. In I. Chorus and J. Bartram (eds.), *Toxic Cyanobacteria in Water*. E & FN Spon, London, UK.