

УДК 631.461.5:631.44
AGRIS F30

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ РОДОВ *ANABAENA* И *NOSTOC* НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

©**Бачура Ю. М.**, SPIN-код: 7246-7592; ORCID: 0000-0001-9515-2020, канд. биол. наук,
Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины,
г. Гомель, Беларусь, julia_bachura@mail.ru
©**Ганжур Е. Н.**, SPIN-код: 9766-1616; ORCID: 0000-0003-3897-7186,
Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины,
г. Гомель, Беларусь, ms.ganzhur@mail.ru

THE CULTIVATION OF THE CYANOBACTERIA OF THE GENERA *ANABAENA* AND *NOSTOC* ON VARIOUS NUTRIENT MEDIA

©**Bachura Yu.**, SPIN-code: 7246-7592; ORCID: 0000-0001-9515-2020, Ph.D.,
F. Skorina Gomel State University, Gomel, Belarus, julia_bachura@mail.ru
©**Ganzhur E.**, SPIN-code: 9766-1616; ORCID: 0000-0003-3897-7186;
F. Skorina Gomel State University, Gomel, Belarus, ms.ganzhur@mail.ru

Аннотация. Проведено изучение особенностей развития цианобактерий родов *Anabaena* и *Nostoc* на различных питательных средах. Показано, что цианобактерии имеют пониженный и средний уровни изменчивости в культурах (6,15–22,7%), а характеристики колоний, нитей и клеток зависят от состава питательной среды. Установлено, что оптимальной средой для культивирования представителей родов *Anabaena* и *Nostoc* является среда Болда без азота. Культивирование цианобактерий на этой среде приводит к активному накоплению биомассы и усилению процесса азотфиксации.

Abstract. The study of the characteristics of the development of cyanobacteria of the genera *Anabaena* and *Nostoc* on various nutrient media was carried out. It has been shown that cyanobacteria have low and medium levels of variability in cultures (6,15–22,7%), and the characteristics of colonies, filaments and cells depend on the composition of the nutrient medium. It has been established that the optimal medium for the cultivation of representatives of the genera *Anabaena* and *Nostoc* is the Bold's Basal Medium without nitrogen. Cultivation of cyanobacteria on this medium leads to an active accumulation of biomass and an increase in the process of nitrogen fixation.

Ключевые слова: культивирование, питательные среды, почвенные цианобактерии.

Keywords: cultivation, nutrient media, soil cyanobacteria.

В последние десятилетия микроводоросли и цианобактерии приобретают все большую актуальность в качестве объекта биотехнологических исследований [1–2]. Они имеют примитивное строение и отличаясь нетребовательностью к условиям существования, являются первичными продуцентами и характеризуются значительным вкладом в функционирование водных и наземных экосистем. Цианобактерии участвуют в создании органического вещества, способны к азотфиксации, участвуют в накоплении ряда

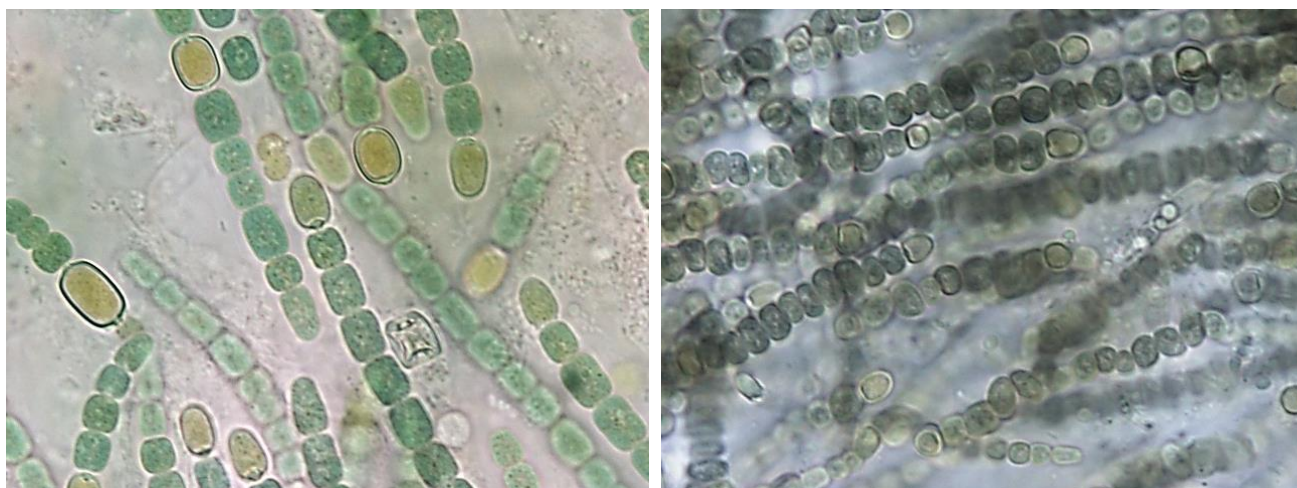
биологически активных веществ, при этом они достаточно быстро накапливают биомассу и отличаются простотой в культивировании [3–5].

Целью данной работы являлось изучение особенностей развития азотфиксирующих цианобактерий родов *Anabaena* и *Nostoc* на различных питательных средах для подбора оптимальной среды для их культивирования.

Материал и объекты исследования

Объектом исследования являлись культуры цианобактерий *Anabaena sp.* и *Nostoc sp.*, выделенные из почв Гомельского района.

Культура цианобактерии рода *Anabaena* характеризовалась достаточно яркой сине-зеленой окраской. Трихомы были прямыми или изогнутыми (Рисунок 1а), очень редко слабо суживались по направлению к концам, одиночные или соединенные в легко разрушающиеся дерновинки [6–7]. Влагалища были заметны слабо. Вегетативные клетки имели округлую или бочонковидную форму, различимые газовые вакуоли. Толстостенные гетероцисты отличались гомогенным содержимым. Споры формировались в старых культурах.



а

б

Рисунок. 1. Микрофотографии цианобактерий родов *Anabaena* (а) и *Nostoc* (б), $\times 400$.

Культура цианобактерии рода *Nostoc* имела окраску от сине-зеленой до оливковой, отличалась более выраженной слизью. Нити ностока состояли из клеток округлой или бочонковидной формы, включали терминальные и интеркалярные гетероцисты. Акинеты не выявлены.

В соответствии со схемой эксперимента для культивирования цианобактерий использовали четыре синтетических питательных среды: основную среду Болда (ВВМ), среду Болда без азота (ВВМ-N), среду Дрю и среду Чу-10 [8–9]. Готовые среды автоклавировали при температуре 121 °С и давлении 1 атм. Культивирование водорослей осуществляли в пятикратной повторности с помощью метода водных культур при температуре 25±3 при 14/10 часовом чередовании световой и темновой фаз и освещении 3500-4000 лк в климатостате КС-200. Наблюдение за культурами проводили на протяжении 8 недель, фотографируя их и визуально отмечая особенности накопления биомассы. На последней неделе исследования изучали культуры под микроскопом Nikon Eclipse 80i: измеряли линейные размеры 50 вегетативных клеток и гетероцист (при наличии), описывали морфологию колоний, нитей и клеток.

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы StatSoft Statistica 7.0. Для оценки уровня изменчивости на основании коэффициента вариации использовали шкалу А.С. Мамаева [10] согласно которой выделяли три уровня изменчивости, отражающие разнообразие растительных организмов: пониженный — коэффициент вариации менее 15 %; средний — коэффициент вариации — 15-25 %; повышенный — коэффициент вариации более 25 %.

В ходе эксперимента накопление биомассы цианобактериями рода *Anabaena* происходило постепенно; при этом на восьмой неделе культивирования наблюдали увеличение биомассы цианей на среде Болда (ВВМ) и на среде Болда без азота (ВВМ-N) — средах наиболее богатых по количеству содержащихся в них компонентов.

Для представителей рода *Nostoc* в первые четыре недели культивирования на всех питательных средах накопление биомассы было незначительным, к восьмой неделе эксперимента наиболее активное развитие культур *Nostoc* sp. отмечено на среде Дрю и среде Болда без азота (ВВМ-N), наименее активное — на среде Болда (ВВМ) и среде Чу-10.

В Таблице приведены характеристики культур цианобактерий на восьмой неделе исследования.

Таблица.

ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУР ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Культура	Питательные среды			
	ВВМ	ВВМ-N	среда Дрю	среда Чу-10
<i>Anabaena</i> sp.	Окраска культуры ярко-сине-зеленая. Слизь не отмечена. Нити длинные, изогнутые реже прямые. Клетки и гетероцисты имели типичную форму. Единично в культуре были выявлены молодые споры.	Окраска культуры ярко-сине-зеленая. Слизь обильная. Нити различной длины, прямые или изогнутые. Вегетативные клетки имели коротко цилиндрическую или почти квадратную форму. Встречались клетки с цианофициевыми гранулами. Гетероцисты типичной формы. Споры не отмечены.	Окраска культуры ярко-сине-зеленая. Слизь слабо выраженная. Нити короткие, прямые или изогнутые. Клетки квадратные или цилиндрические, иногда с цианофициевыми гранулами. Гетероцисты типичной формы, споры не выявлены.	Окраска культуры ярко-сине-зеленая. Слизь не отмечена. Нити одиночные или соединенные в группы, изогнутые или прямые. Клетки и гетероцисты имели типичную форму. Гетероцист мало, отмечены споры.
<i>Nostoc</i> sp.	Окраска культуры сине-зеленая. Слизь неплотная, расплывающаяся. Нити в колониях были прямыми или изогнутыми. Клетки коротко-бочковидные. Гетероцисты и споры не выявлены.	Окраска культуры сине-зеленая с оливковым оттенком. Слизь слабо выраженная. Нити были достаточно плотно упакованы внутри колоний, прямые или изогнутые. Клетки типичные. Гетероцисты интеркалярные и терминальные. Споры не отмечены.	Окраска культуры оливково-зеленая, реже сине-зеленая. Слизь слабо выраженная. Нити в колониях — прямые или изогнутые. Клетки типичные. Гетероцисты интеркалярные и терминальные. Споры не отмечены.	Окраска культуры сине-зеленая с оливковым оттенком. Слизь неплотная. Нити в колониях прямые или изогнутые. Клетки типичные. Гетероцисты и споры не выявлены.

Результаты и обсуждение

Согласно данным наблюдений, культуры рода *Anabaena* на средах «голодных по азоту» (BVM-N, среда Дрю) характеризовались наличием обильной или слабо выраженной слизи, отсутствием спор и накоплением в вегетативных клетках цианофитиновых гранул.

Культуры рода *Nostoc* на данных средах также имели сходные характеристики: слабо выраженная слизь, отсутствие спор и наличие терминальных и интеркалярных гетероцист.

Наличие цианофитиновых гранул в клетках рода *Anabaena* и большого количества гетероцист в культурах рода *Nostoc* на средах «голодных по азоту» указывает на активизацию процесса азотфиксации цианобактериями на данных средах.

Варьировали и размерные характеристики вегетативных клеток и гетероцист цианобактерий, культивируемых на различных питательных средах (Рисунок 1).

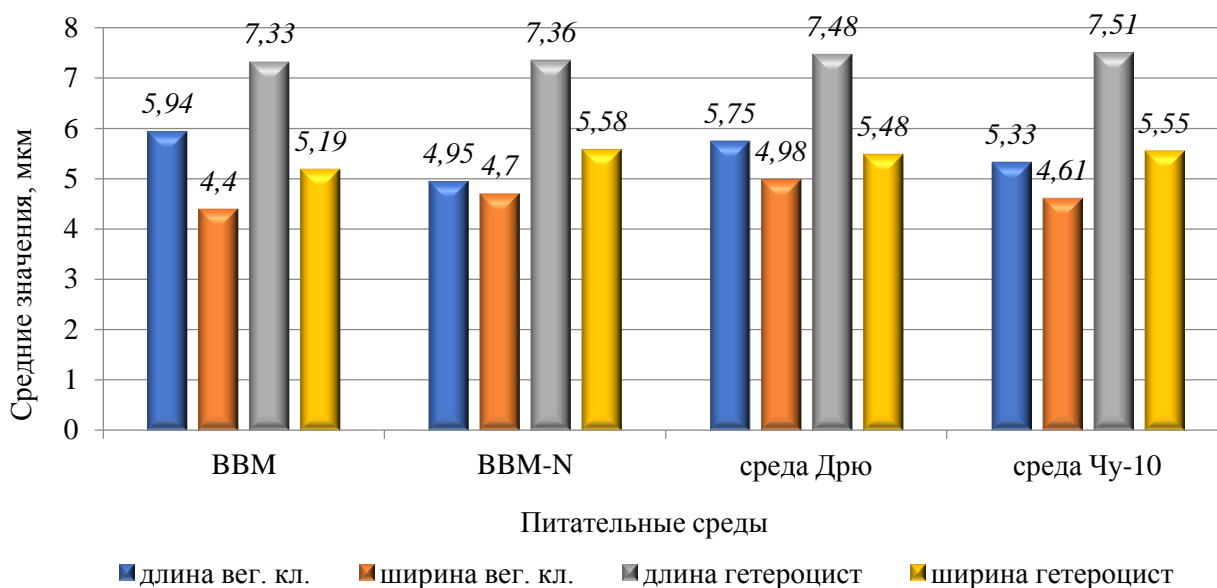


Рисунок 1. Сравнение средних длины и ширины клеток *Anabaena* sp. на различных питательных средах.

Средняя длина клеток находилась в интервале от 4,95 мкм (BVM-N) до 5,94 мкм (BVM), средняя ширина варьировала от 4,40 мкм (BVM) до 4,98 мкм (среда Дрю). На средах «голодных по азоту» отмечено увеличение ширины вегетативных клеток *Anabaena*. Максимальная длина клеток анабены была зафиксирована на среде Дрю и составила 8,44 мкм, максимальная ширина — на среде Чу-10 (6,45 мкм); минимальные длина и ширина клеток выявлены на среде Чу-10 (2,85 мкм и 3,69 мкм соответственно).

Морфометрические показатели гетероцист были более статичными: средняя длина гетероцист находилась в пределах 7,33-7,51 мкм, средняя ширина — 5,19-5,58 мкм. Максимальная длина гетероцист была отмечена на среде Чу-10 и составила 10,53 мкм, максимальная ширина — на среде Дрю (7,50 мкм); минимальная длина клеток выявлена на основной среде Болда без азота (4,02 мкм), ширина — на среде Дрю (4,00 мкм).

На Рисунках 2 и 3 представлено сравнение коэффициентов вариации длины и ширины вегетативных клеток и гетероцист *Anabaena* sp. на различных питательных средах.

Из данных Рисунка 2 видно, что наибольшее значение коэффициента вариации длины и ширины клеток зафиксировано на питательной среде Чу-10 (17,80 % и 13,91 %), наименьшее значение коэффициента вариации длины клеток — на среде Болда без азота (14,97 %),

ширины клеток — на основной среде Болда (6,15%). Подобные значения указывают на пониженный и средний уровни изменчивости вегетативных клеток в культурах.

Наибольшее значение коэффициента вариации длины гетероцист зафиксировано на питательной среде Болда без азота (15,91%), наименьшее — на питательной среде Дрю (13,65%). Наибольшее значение коэффициента вариации ширины клеток гетероцист зафиксировано на питательной среде Дрю (14,59%), наименьшее — на питательной среде Болда (9,05%). Подобные значения указывают на пониженный и средний уровни изменчивости гетероцист в культуре.

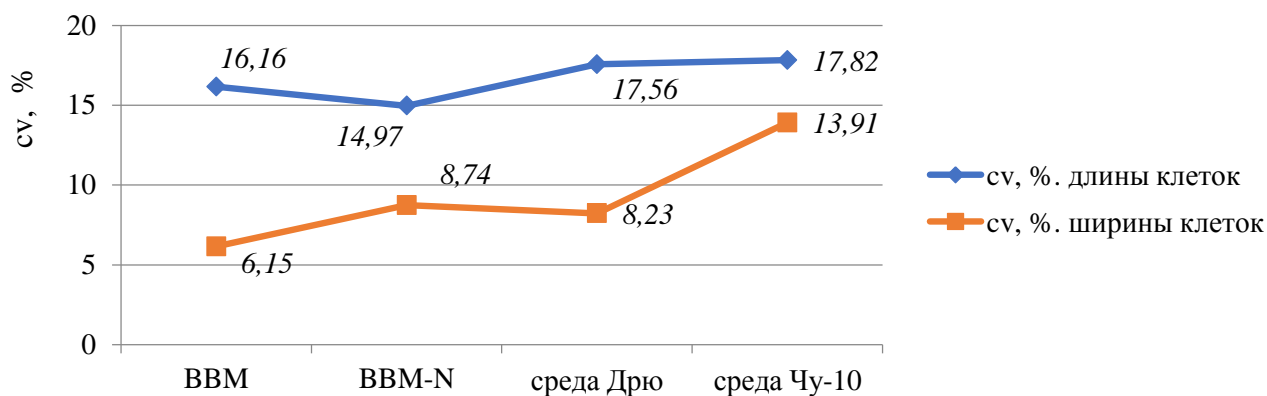


Рисунок 2. Сравнение коэффициентов вариации длины и ширины вегетативных клеток *Anabaena sp.*

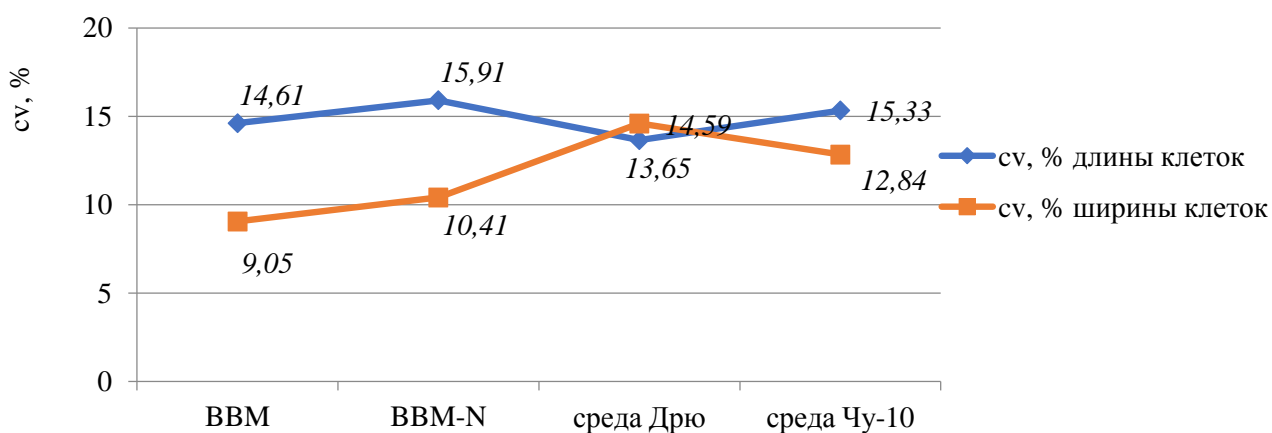


Рисунок 3. Сравнение коэффициентов вариации длины и ширины гетероцист *Anabaena sp.*

Сравнение средних морфометрических показателей вегетативных клеток и гетероцист *Nostoc sp.* на различных питательных средах представлено на Рисунке 4.

Средняя длина клеток ностока варьировала от 3,48 мкм (BBM-N) до 4,44 мкм (среда Чу-10), средняя ширина находилась в интервале от 4,43 мкм (среда Чу-10) до 4,88 мкм (BBM-N). Максимальные размеры вегетативных клеток *Nostoc sp.* были отмечены на питательной среде Болда 4,14×4,80 мкм, минимальные размеры клеток — на среде Дрю (3,81×4,56 мкм).

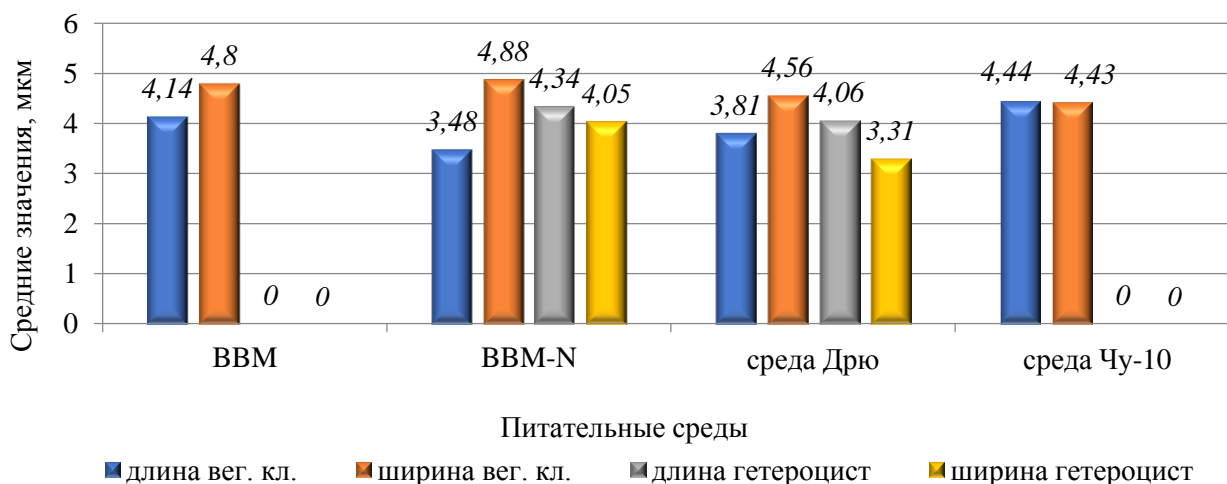


Рисунок 4. Сравнение средних морфометрических показателей вегетативных клеток *Nostoc* sp. на различных питательных средах.

Гетероцисты в культурах ностока отмечены только на средах «голодных по азоту», что свидетельствует об отсутствии азотфиксации на питательных средах с достаточным количеством азота. Средняя длина гетероцист варьировала незначительно (4,06-4,34 мкм); средняя ширина гетероцист на среде Болда без азота была на 0,74 мкм больше чем на среде Дрю. Максимальные длина и ширина гетероцист были зафиксированы на среде Болда без азота (4,34 мкм и 4,05 мкм соответственно), минимальные — на среде Дрю (4,06 мкм и 3,91 мкм). Полученные данные указывают на зависимость между морфометрическими показателями от состава компонентов в питательной среде (среда Дрю отличалась минимальным количеством элементов).

На Рисунке 5 представлено сравнение средних коэффициентов вариации длины и ширины вегетативных клеток и гетероцист *Nostoc* sp. на различных питательных средах.

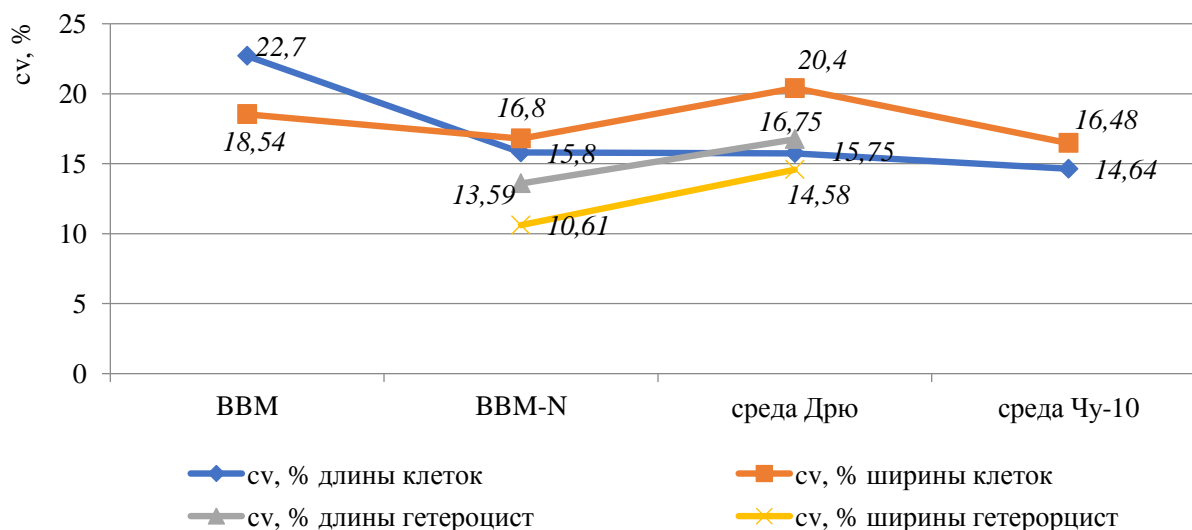


Рисунок 5. Сравнение средних коэффициентов вариации длины и ширины вегетативных клеток и гетероцист *Nostoc* sp.

Значение средних коэффициентов вариации указывает на средний уровень изменчивости для культуры *Nostoc* sp. на питательных средах Болда, Болда без азота и Дрю (15,75–22,70%), и низкий уровень изменчивости для ширины клеток культуры *Nostoc* sp. на питательной среде Чу-10 (14,64%) с учетом всех повторностей.

При сравнении средних коэффициентов вариации длины и ширины гетероцист на средах ВВМ-N и Дрю отмечен пониженный уровень изменчивости (10,61–14,58 %). На питательной среде Дрю коэффициент вариации длины указывает на средний уровень изменчивости (16,75%).

Заключение

В ходе проведенного эксперимента установлено, что накопление биомассы культурами цианобактерий на анализируемых питательных средах отлично: для цианей рода *Anabaena* оптимально использование среды Болда и на среды Болда без азота, для представителей рода *Nostoc* — среды Дрю и среды Болда без азота.

Значения коэффициентов вариации длины и ширины вегетативных клеток и гетероцист находились в интервале 6,15–17,82% для культур рода *Anabaena* и 10,61–22,7% для культур рода *Nostoc*, что указывает на пониженный и средний уровни их изменчивости в культурах.

При этом характеристики колоний, нитей и клеток зависят от состава питательной среды. На средах «голодных по азоту» отмечено наличие цианофитиновых гранул в клетках *Anabaena* и большого количества гетероцист в культурах рода *Nostoc*, что указывает на активизацию процесса азотфиксации в культурах.

Выполненное исследование позволило установить, что оптимальной средой для культивирования цианобактерий обоих родов является среда Болда без азота, которую можно использовать как для накопления биомассы цианобактериями, так и для обогащения среды азотом.

Список литературы:

1. Лукьянов В. А., Стифеев А. И. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе. Курск, 2014. 181 с.
2. Мельников С. С., Мананкина Е. Е., Будакова Е. А., Шалыго Н. В. Каталог генетического фонда хозяйственно полезных видов водорослей. Минск, 2011. 101 с.
3. Штина Э. А., Голлербах М. М. Экология почвенных водорослей. М., 1976. 143 с.
4. Андреюк Е. И., Коптева Ж. П., Занина В. В. Цианобактерии. Киев, 1990. 225 с.
5. Голлербах М. М., Штина Э. А. Почвенные водоросли. М.: Наука, 1969. 228 с.
6. Komarek J., Anagnostidis K. Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4-Nostocales // Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes. 1989. P. 247-345.
7. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 2: Синезеленые водоросли. 1953. 327 с.
8. Гайсина Л. А., Фазлутдинова А. И., Кабиров Р. Р. Современные методы выделения и культивирования водорослей. Уфа, 2008. 152 с.
9. Темралеева А. Д. А. Д., Минчева Е. В., Букин Ю. С., Андреева А. М. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (Chlorophyta). Кострома, 2014. 215 с.
10. Гайсина Л. А., Фазлутдинова А. И., Кабиров Р. Р. Популяционная альгология. Уфа, 2008. 152 с.

References:

1. Lukiyarov, V. A., & Stifeev, A. I. (2014). Prikladnye aspekty primeneniya mikrovdoroslei v agrotsenoze. Kursk, 181. (in Russian).
2. Melnikov, S. S., Manankina, E. E., Budakova, E. A., & Shalygo, N. V. (2011). Katalog geneticheskogo fonda khozyaistvenno poleznykh vidov vdoroslei. Minsk, 101. (in Russian).
3. Shtina, E. A., & Gollerbakh, M. M. (1976). Ekologiya pochvennykh vdoroslei. Moscow, 143. (in Russian).
4. Andreyuk, E. I., Kopteva, Zh. P., & Zanina, V. V. (1990). Tsianobakterii. Kiev, 225. (in Russian).
5. Gollerbakh, M. M., & Shtina, E. A. (1969). Pochvennye vdorosli. Moscow, Nauka, 228.
6. Komárek, J., & Anagnostidis, K. (1989). Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4-Nostocales. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 247-345.
7. Opredeletel' presnovodnykh vdoroslei SSSR. (1953). Issue 2: Sinezelenye vdorosli. 327.
8. Gaisina, L. A., Fazlutdinova, A. I., & Kabirov, R. R. (2008). Sovremennye metody vydeleniya i kul'tivirovaniya vdoroslei. Ufa, 152.
9. Temraleeva, A. D., Mincheva, E. V., Bukin, Yu. S., & Andreeva, A. M. (2014). Sovremennye metody vydeleniya, kul'tivirovaniya i identifikatsii zelenykh vdoroslei (Chlorophyta). Kostroma, Kostromskoi pechatnyi dom, 215. (in Russian).
10. Gaisina, L. A., Fazlutdinova, A. I., & Kabirov, R. R. (2008). Populyatsionnaya al'gologiya. Ufa, 152.

*Работа поступила
в редакцию 17.10.2018 г.*

*Принята к публикации
26.10.2018 г.*

Ссылка для цитирования:

Бачура Ю. М., Ганжур Е. Н. Культивирование цианобактерий родов *Anabaena* и *Nostoc* на различных питательных средах // Бюллетень науки и практики. 2018. Т. 4. №11. С. 31-38. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/bachura-ganzhur> (дата обращения 15.11.2018).

Cite as (APA):

Bachura, Yu., & Ganzhur, E. (2018). The cultivation of the cyanobacteria of the genera *Anabaena* and *Nostoc* on various nutrient media. *Bulletin of Science and Practice*, 4(11), 31-38. (in Russian).