

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАДИЦИОННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ РОДА *MICROCYSTIS*

*М.В. Сакун, 2 курс*

*Научный руководитель – В.Н. Никандров, д.б.н., профессор  
Полесский государственный университет*

*Аннотация.* Изучено накопление биомассы цианобактерий рода *Microcystis*, выделенного из пруда Марковщина, Солигорского района, на пяти традиционных питательных средах через 10 суток после посева. Среда Громова дала наибольший прирост биомассы цианобактерий.

*Ключевые слова:* питательные среды, культивирование, водоросли, культура *Microcystis*.

*Введение.* Современная биотехнология рассматривает водоемы в качестве одного из основных природных банков культур микроорганизмов с любыми необходимыми свойствами. Являясь неотъемлемой частью экосистем, микроорганизмы играют важную роль в эволюции природы, с их помощью планируются решения в продовольственной, энергетической, фармацевтической и других отраслях биотехнологии. Поиск эффективных азотфиксирующих микроорганизмов при его сложности также чрезвычайно актуален, поскольку они относятся к числу агрономически значимых групп.

Способностью к азотфиксации обладают лишь некоторые прокариоты, обеспечивая все живое на Земле биогенными формами азота. Молекулярный азот атмосферы может быть использован живыми организмами благодаря активности ферментативного комплекса нитрогеназы. В результате работы этого комплекса происходит восстановление азота до аммиака, который потом включается в состав азотсодержащих органических молекул [1, с. 308].

Цианобактерии (сине-зеленые водоросли) – одна из самых древних на Земле групп организмов, способных к азотфиксации. Они возникли около 3,5 млрд лет назад и сыграли важную роль в становлении атмосферы Земли, обогатив ее кислородом [2, с. 1710-1728]. Это – граммотрицательные, неподвижные, неправильной или эллипсоидной формы колониальные микроорганизмы. Они по-прежнему являются неотъемлемым компонентом экосистем. Благодаря миксотрофности (способность сочетать одновременно различные типы питания авто- и гетеротрофность) и возможности азотфиксации, диапазон условий, в которых они способны обитать, чрезвычайно широк [3, с. 543-564].

*Цель настоящей работы* – выделение культуры сине-зеленых водорослей и изучение накопления ее биомассы на традиционных питательных средах.

*Материалы и методы исследований.* Цианобактерии рода *Microcystis* выделены из воды пруда Марковщина Солигорского района. Идентификацию микроорганизмов до рода провели на основании определителя А. К. Храмцова [4, с. 40-42] по совокупности культурально-морфологических признаков.

Культуру выделяли на плотной агаровой питательной среде методом Дригальского. Далее цианобактерии культивировали на жидких питательных средах Громова, Дрю, Тамия, Гиндака и Бристоля [5, с. 76-139] без аэрирования при искусственном освещении с длиной волны 660 нм интенсивностью 5000 лк и температуре 30 °С. Для изучения морфологических свойств выделенных микроорганизмов из полученных колоний делали мазки, окрашивали по Граму и микроскопировали. Концентрацию клеток цианобактерий учитывали методом подсчета в камере Горяева. Подсчет колоний проводили трехкратно. Количество колоний в 1 мкл рассчитывали по формуле:

$$x = \left( a \times \frac{4000 \times b}{80} \right),$$

где  $x$  – число колоний в 1 мкл раствора;  $a$  – число колоний, подсчитанных в 80 малых квадратах;  $b$  – разведение исходного субстрата;

Среднюю скорость роста рассчитывали по формуле:

$$V = \frac{dx}{dt},$$

где  $V$  – прирост колоний/сут;  $x$  – число колоний;  $t$  – время.

Все исследования выполнены не менее, чем трехкратно, результаты обработаны статистически.

**Результаты исследований.** Установлено, что на плотных питательных средах при росте выделенной культуры образовались мелкие, гладкие и округлые, слизистые колонии. Через 7 суток роста при температуре 25 °С на минерализованном агаре культура имела вид непрозрачных, слегка матовых колоний, плохо снимаемых бактериологической петлей с поверхности агара.

При росте на жидких питательных средах образовывались бесформенные комочки слизи, с погруженной в них массой беспорядочно расположенных мелких шаровидных клеток. Выделенная культура цианобактерий по всем культуральным особенностям соответствовала таковой рода *Microcystis*. При температуре 25–30 °С наблюдался наилучший рост культуры.

Полученные результаты выращивания цианобактерий на жидких питательных средах и плотной минеральной агаровой среде положены в основу дальнейшей техники выделения *Microcystis*.

Исследования показали, что на использованных питательных средах рост культуры *Microcystis* заметно различался (таблица).

Результаты исследований четко демонстрируют, что наибольший прирост выявлен при культивировании цианобактерии на среде Громова, который превосходил таковой на других питательных средах в 1,9–15,0 раз. Эта питательная среда отличалась наиболее сложным составом и включала ряд компонентов, отсутствующих в остальных средах.

Рост колоний *Microcystis* на жидких питательных средах при 25 °С ( $n = 4$ ).

Питательная среда	Количество колоний в 1 мкл, $\times 10^4$		Прирост колоний	
	исходное	через 10 сут	$\times 10^3$	%
Громова	10,0 $\pm$ 1,4	70,0 $\pm$ 4,7	60	600
Дрю	6,0 $\pm$ 0,7	6,0 $\pm$ 0,7	0	0
Тамия	8,0 $\pm$ 1,9	22,0 $\pm$ 2,1	14	175
Гиндака	14,0 $\pm$ 0,3	46,0 $\pm$ 4,2	32	286
Бристоль	6,0 $\pm$ 1,4	10,0 $\pm$ 2,8	4	67

На среде же Дрю (предназначена для азотфиксирующих сине-зеленых водорослей) рост не наблюдался, хотя культура при этом не погибала. Нужно отметить, что в отличие от других использованных сред, в этой среде отсутствовал источник азота, очень беден состав минеральных элементов. По-видимому, даже если на питательной среде Дрю цианобактерии *Microcystis* и обладали способностью фиксировать атмосферный азот, это было недостаточно для размножения клеток водоросли. Бедный состав минеральных элементов характерен и для среды Бристоль, хотя источник азота в ней есть.

Примечательно, что среда Гиндака по скорости роста колоний *Microcystis* уступала таковой Громова почти в два раза, несмотря на содержание азота в форме аммонийных солей и богатый спектр минеральных элементов.

**Заключение.** Итак, питательная среда Громова дала наилучшие результаты при культивировании цианобактерий рода *Microcystis*. Можно думать, что немалое значение имеет соотношение между отдельными компонентами среды. Выяснение этого составляет задачу дальнейших исследований.

*Выражаю благодарность Е. Науменко, П. Хомичу за помощь в проведении работы.*

#### Список использованных источников

1. Громов Б.В. Цианобактерии в биосфере – Энциклопедия "Современное естествознание". Т.2. Москва: Издательский Дом МАГИСТР-ПРЕСС, 2000. С. 308
2. Castenholz R. W., Waterbury J. B. Group I. // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 3. / N. R. Krieg, J. G. Holt (Eds.). Baltimore: Williams & Wilkins, 1989. С. 1710–1728.
3. Schopf J. W., Walter M. R. // *The Biology of the Cyanobacteria* / N. G. Carr and B. A. Whitton (Eds.). Oxford: Blackwell, 1982. С. 543–564.
4. Краткое руководство по определению родов пресноводных водорослей / Авт.-сост. А. К. Храмов. – Мн.: БГУ, 2004. С. 40–42
5. Гайсина Л. А., Фазлутдинова А. И., Кабиров Р.Р. Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. С. 76–139.