

Cyanobacteria of alkaline ecosystems of Zabaikalie



Tsyrenova D.D.*, Barkhutova D.D.

Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Sakhyanova St., 6, Ulan-Ude, 660047, Russia

ABSTRACT. From the alkaline ecosystems of Zabaikalie, 12 monocultures of cyanobacteria belonging to the genera *Anabaena*, *Leptolyngbya*, *Mastigocladus*, *Nodularia*, *Phormidium*, *Pseudanabaena* and *Synechococcus* were isolated. The studied organisms showed themselves to be thermo- and alkaliphiles. The temperature optimum growth of cultures ranged from 40-55°C. Cultures were able to grow at alkaline pH values (8.5-9.5) and in a wide range of NaCl concentrations (0 to 100 g/l). Based on analysis of the 16S rRNA gene sequence, 5 strains of cyanobacteria were identified and described.

Keywords: alkaline ecosystems, thermal springs, soda-salt lakes, Zabaikalie, cyanobacteria

For citation: Tsyrenova D.D., Barkhutova D.D. Cyanobacteria of alkaline ecosystems of Zabaikalie // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 1121-1126. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1121

1. Introduction

Alkaline ecosystems are widespread on the territory of Zabaikalie (Saltish..., 2009; Geochemical..., 2011). The physicochemical conditions of water ecosystems are favorable for the activity of microbial communities, in which cyanobacteria, the main producers of organic matter, are dominant (Andreyuk et al., 1990; Zavarzin, 2007).

Isolating cultures of cyanobacteria, determining their characteristics of growth and development is an important stage in the study of their systematic position, since the modern classification of cyanobacteria is in the process of development. Currently, the Gen Bank database contains data on only 369 strains of cyanobacteria. Based on this, the aim of the present work was to isolate monocultures of cyanobacteria in the alkaline ecosystems of Zabaikalie and determine their ecophysiological characteristics and taxonomic position.

2. Materials and methods

Thermal springs and soda-salt lakes of Zabaikalie were objects of research. They are located in the Kurumkansky (springs Umkhey, Kuchiger, Uro, Alla, Garga) and Pribaikalsky (spring Goryachinsk) regions of Buryatia, in the Selenginsky region of Buryatia (lake

Sulfatnoye) and the Zabaikal region (lakes Gorbunka, Khilganta, Ekhe Torom). Studies of lakes were carried out in the spring-summer periods from 2001 to 2007, thermal springs - 2013, 2019.

Determination of physico-chemical parameters of aquatic ecosystems, sampling, isolation of cultures, study of their properties and molecular biological research were carried out according to a previously described method (Tsyrenova et al., 2011).

3. Results and discussion

Twelve monocultures of cyanobacteria were isolated from bottom sediments and microbial mats of alkaline ecosystems of Zabaikalie (Table).

Six monocultures of cyanobacteria belonging to the genera *Anabaena*, *Leptolyngbya*, *Mastigocladus*, *Phormidium* and *Synechococcus* were isolated from microbial mats of thermal springs of Buryatia. The studied organisms were thermophiles with optimum growth at 40°C. *Mastigocladus laminosus* (M122), with growth optimum at higher temperatures from 45 to 55°C, was an exception.

Identification of cultures to species was carried out based on morphological characteristics. In more detail, two strains *M. laminosus* (M122) and *Synechococcus bigranulatus* (S135) were described using

*Corresponding author.

E-mail address: baldanovad@rambler.ru (D.D. Tsyrenova)

Received: June 04, 2024; **Accepted:** June 20, 2024;

Available online: August 30, 2024

© Author(s) 2024. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



Table. Cultures of cyanobacteria isolated from the studied water ecosystems

Culture	Isolation source	Identification according to Elenkin (1949) and Gollerbach et al. (1953)	Identification according to Komarek and Anagnostidis (1999, 2007)	Identification based on the 16S rRNA sequence analysis
Um-13-2	spring Umkhey	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Anabaena</i> sp.	-
Ku-19-1	spring Kuchiger	<i>Oscillatoria animalis</i> Ag.	<i>Phormidium animale</i> (Ag. ex Gom.) Anagn. et Kom.	-
M122	spring Uro	<i>Fischerella thermalis</i> (Schwabe) Gom.	<i>Mastigocladus laminosus</i> Frémy	<i>M. laminosus</i> CCME5272 (99%)
Al-19-1	spring Alla	<i>Ph. fragile</i> (Menegh.) Gom.	<i>Leptolyngbya fragilis</i> (Gom.) Anagn. et Kom.	-
G-19-1	spring Goryachinsk	<i>Synechococcus elongatus</i> Näg.	<i>S. bigranulatus</i> Skuja	-
S135	spring Garga	<i>S. elongates</i> Näg.	<i>S. bigranulatus</i>	Uncultured cyanobacterium clone Alchichica AQ1 (99%)
Cya 1	lake Sulfatnoye	<i>Oscillatoria brevis</i> (Kütz.) Gom.	<i>Phormidium breve</i> (Kütz. et Gom.)	<i>Phormidium</i> sp. NIVA-CYA 202 (99.2%)
Cya 2	lake Ekhe Torom	<i>Oscillatoria brevis</i> (Kütz.) Gom.	<i>Phormidium breve</i> (Kütz. et Gom.)	<i>Phormidium</i> sp. NIVA-CYA 202 (99.2%)
Cya 4	lake Sulfatnoye	<i>Phormidium frigidum</i> Fritsch.	<i>Pseudanabaena frigida</i> (Fritsch) Anagnost	-
Cya 5	lake Khilganta	<i>Anabaena sibirica</i> (Pop. et Degt.) Elenk.	<i>Nodularia</i> sp.	-
Cya 6	lake Gorbunka	<i>Anabaena sibirica</i> (Pop. et Degt.) Elenk.	<i>Nodularia</i> sp.	-
Cya 10	lake Khilganta	<i>Phormidium</i> sp.	<i>Phormidium</i> sp.	<i>O. cf. laetevirens</i> Baja-Osc-1 (99.0%) <i>Phormidium</i> sp. UTCC 487 (98.9%)

Note: “-” - not defined.

the analysis of the 16S rRNA gene sequence. The strain *M. laminosus* (M122), isolated from the spring Uro (Kurumkansky region, Buryatia) was 99% identical to *M. laminosus* CCME5272, isolated from a thermal spring in Portugal (Miller et al., 2007). This is additional confirmation of the cosmopolitan nature of this species. The strain *S. bigranulatus* (S135) had the maximum similarity (99%) to the uncultivated representative of cyanobacteria Uncultured cyanobacterium clone Alchichica AQ1.

From bottom sediments and microbial mats of lakes in Southern Zabaikalie 6 monocultures of cyanobacteria were isolated: three cultures (Cya 1, Cya 2, Cya 10) assigned to the genus *Phormidium*, two cultures (Cya 5 and Cya 6) to the genus *Nodularia*, one culture (Cya 4) – to the genus *Pseudanabaena* (Table). All cultures were alkalophilic (pH 8.5-9.5) and halotolerant organisms (5 g/l NaCl). Two identical cultures (Cya 5, Cya 6) identified as *Nodularia* sp. were the exception. They could grow at NaCl concentrations of up to 100 g/L, which is the highest mineralization value for the growth of known heterocyst cultures (Lehtimäki et al., 2000).

Analysis of nucleotide sequences of 16S rRNA genes (1400 nucleotide pairs) was carried out for three cultures. *Phormidium* sp. (Cya 10) was most similar to *Oscillatoria cf. laetevirens* Baja-Osc-1 (99.0%) and *Phormidium* sp. UTCC 487 (98.9%) isolated from

mineralized reservoirs (Casamatta et al., 2005). Morphologically identical cultures identified as *Ph. breve* (Cya 1, Cya 2) were 99.2% similar to *Phormidium* sp. NIVA-CYA 202, isolated from a salt lake in Antarctica (Taton et al., 2006).

Thus, 12 monocultures of cyanobacteria were isolated from the studied alkaline ecosystems of Zabaikalie. 6 cultures were thermophiles with a temperature optimum for growth at 40°C, with the exception of *M. laminosus* (M122), which had a higher optimum – 45-55°C. The remaining 6 cultures are classified as moderate alkalophiles with optimal growth at an alkaline pH. They demonstrated the ability to develop in the absence of NaCl in the medium and up to its concentration of 100 g/l. Based on the analysis of 16S rRNA gene nucleotide sequences, 5 cyanobacterial cultures were identified.

Acknowledgements

The work was carried out within the framework of the theme of state assignment No. 121030100229-1.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Andreyuk E.I., Kopteva Zh.P., Zanina V.V. 1990. Cyanobacteria. Kiev: Naukova dumka (in Russian)
- Casamatta D.A., Johansen J.R., Vis M.L. et al. 2005. Molecular and morphological characterization of ten polar and near-polar strains within the *Oscillatoriales* (Cyanobacteria). *Journal of Phycology* 41(2): 421–438. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2005.04062.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.04062.x)
- Elenkin A.A. 1949. Sinezelenye vodorosli SSSR. Spetsial'naya chast' (Blue-Green Algae of the USSR. Special Part), Moscow: Akad. Nauk SSSR, 990 p. (in Russian)
- Gollerbakh M.M., Kosinskaya E.K., Polyanskii V.I. 1953. Opredelitel' presnovodnykh vodoroslei SSSR (Freshwater Algae of the USSR. Identification Guide). Vol. 2. Moscow: Sovetskaya Nauka, p.650 (in Russian)
- Geochemical activity of microorganisms in hydrotherms of the Baikal rift zone. 2011. Namsaraev B.B., Barkhutova D.D., Danilova E.V. et al. (Eds.). Novosibirsk: Geo, p. 302 (in Russian).
- Komárek J., Anagnostidis K. 1999. Cyanoprokariota 1. Teil: Chroococcales. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Ettl H., Gärtner G., Heynig H. et al. (Eds.). 19(1): 548.
- Komárek J., Anagnostidis K. 2007. Cyanoprokariota 2. Teil: Oscillatoriales. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. et al. (Eds.). 19(2): 759.
- Lehtimäki J., Lyra C., Suomalainen S. et al. 2000. Characterization of *Nodularia* strains, cyanobacteria from brackish waters, by genotypic and phenotypic methods. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 1043–1053.
- Miller S.R., Castenholz R.W., Pedersen D. 2007. Phylogeography of the thermophilic cyanobacterium *Mastigocladus laminosus*. *Applied and Environmental Microbiology* 73(15): 4751–475. DOI: [10.1128/AEM.02945-06](https://doi.org/10.1128/AEM.02945-06)
- Saltish and salt lakes of Zabaikalie: hydrochemistry, biology. 2009. In: Namsaraev B.B. (Ed.). Ulan-Ude: Buryat State University, 340 p. (in Russian). Taton A., Grubisic S., Ertz D. et al. 2006. Polyphasic study of Antarctic cyanobacterial strains. *Journal of Phycology* 42(6): 1257–1270. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2006.00278.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00278.x)
- Tsyrenova D.D., Bryanskaya A.V., Namsaraev Z.B. et al. 2011. Taxonomic and ecological characterization of cyanobacteria from some brackish and saline lakes of Southern Transbaikal region. *Microbiology* 80(2): 216-227.
- Zavarzin G.A. 2007. Formation of soda conditions as a global process. Proceedings of the Institute of Microbiology named after. S.N. Vinogradsky. In: Galchenko V.F. (Ed.), Alkalophilic microbial communities. Vol. 14. Moscow: Science, pp. 8-57 (in Russian)

Цианобактерии щелочных экосистем Забайкалья



Цыренова Д.Д.*, Бархутова Д.Д.

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, ул. Сахьяновой, 6, Улан-Удэ, 660047, Россия

АННОТАЦИЯ. Из щелочных экосистем Забайкалья было выделено 12 монокультур цианобактерий относящихся к родам *Anabaena*, *Leptolyngbya*, *Mastigocladus*, *Nodularia*, *Phormidium*, *Pseudanabaena* и *Synechococcus*. Изученные организмы проявили себя как термо- и алкалофилы. Температурный оптимум роста культур колебался от 40-55°C. Культуры способны развиваться при щелочных значениях pH (8.5-9.5) и в широком диапазоне концентрации NaCl (0 до 100 г/л). На основе анализа последовательности гена 16S рРНК идентифицированы и описаны 5 штаммов цианобактерий.

Ключевые слова: щелочные экосистемы, термальные источники, содово-соленые озера, Забайкалье, цианобактерии

Для цитирования: Цыренова Д.Д., Бархутова Д.Д. Цианобактерии щелочных экосистем Забайкалья // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 1121-1126. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1121

1. Введение

На территории Забайкалья широко распространены щелочные экосистемы (Солоноватые..., 2009; Геохимическая..., 2011). Физико-химические условия данных водоемов являются благоприятными для активной деятельности микробных сообществ, в которых доминирующими являются цианобактерии – основные продуценты органического вещества (Андреюк и др., 1990; Заварзин, 2007).

Выделение культур цианобактерий, определение их особенностей роста и развития является важным этапом в изучении их систематического положения, поскольку современная классификация цианобактерий находится в процессе разработки. На данный момент в базе данных Gen Bank имеются данные всего 369 штаммов цианобактерий. Исходя из этого, целью настоящей работы являлось выделение монокультур цианобактерий щелочных экосистем Забайкалья, определение их экофизиологических особенностей и таксономического положения.

2. Материалы и методы

Исследуемыми водоемами являлись термальные источники и содово-соленые озера Забайкалья, расположенные в Курумканском (источники Умхей, Кучигер, Уро, Алла) и Прибайкальском (источ-

ник Горячинск) районах Республики Бурятия, в Селенгинском районе Республики Бурятия (озеро Сульфатное) и Забайкальском крае (озера Горбунка, Хилганта, Ехэ Тором). Исследования озер были проведены в весенне-летние периоды с 2001 по 2007 гг., термальных источников – 2013, 2019 гг.

Определение физико-химических параметров водоемов, отбор проб, выделение культур, изучение их свойств и молекулярно-биологическое исследование проводили по ранее описанной методике (Tsyrenova et al., 2011).

3. Результаты и обсуждение

Из донных осадков и микробных матов щелочных экосистем Забайкалья было выделено 12 монокультур цианобактерий (Таблица).

Из микробных матов термальных источников Бурятии было выделено 6 монокультур цианобактерий, относящиеся к родам *Anabaena*, *Leptolyngbya*, *Mastigocladus*, *Phormidium* и *Synechococcus*. Изученные организмы являлись термофилами с оптимумом роста при 40°C. Исключением была культура *Mastigocladus laminosus* (M122) с оптимумом роста при более высокой температуре от 45 до 55°C.

Идентификация культур до вида проведена на основе морфологических признаков. Более подробно, с помощью анализа последовательности

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: baldanovad@rambler.ru (Д.Д. Цыренова)

Поступила: 04 июня 2024; Принята: 20 июня 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024



Таблица. Культуры цианобактерий, выделенные из исследованных водоемов

Культура	Водоем	Идентификация по Еленкину (1949), Голлербах и др. (1953)	Идентификация по Komárek and Anagnostidis (1999, 2007)	Идентификация по 16S рРНК
Um-13-2	ист. Умхей	<i>Anabaena</i> sp.	<i>Anabaena</i> sp.	-
Ku-19-1	ист. Кучигер	<i>Oscillatoria animalis</i> Ag.	<i>Phormidium animale</i> (Ag. ex Gom.) Anagn. et Kom.	-
M122	ист. Уро	<i>Fischerella thermalis</i> (Schwabe) Gom.	<i>Mastigocladus laminosus</i> Frémy	<i>M. laminosus</i> CCМEE5272 (99%)
Al-19-1	ист. Алла	<i>Ph. fragile</i> (Menegh.) Gom.	<i>Leptolyngbya fragilis</i> (Gom.) Anagn. et Kom.	-
G-19-1	ист. Горячинск	<i>Synechococcus elongatus</i> Näg.	<i>S. bigranulatus</i> Skuja	-
S135	ист. Гарга	<i>S. elongates</i> Näg.	<i>S. bigranulatus</i>	Uncultured cyanobacterium clone Alchichica AQ1 (99%)
Суа 1	оз. Сульфатное	<i>Oscillatoria brevis</i> (Kütz.) Gom.	<i>Phormidium breve</i> (Kütz. et Gom.)	<i>Phormidium</i> sp. NIVA-CYA 202 (99.2%)
Суа 2	оз. Ехэ Тором	<i>Oscillatoria brevis</i> (Kütz.) Gom.	<i>Phormidium breve</i> (Kütz. et Gom.)	<i>Phormidium</i> sp. NIVA-CYA 202 (99.2%)
Суа 4	оз. Сульфатное	<i>Phormidium frigidum</i> Fritsch.	<i>Pseudanabaena frigida</i> (Fritsch) Anagnost	-
Суа 5	оз. Хилганта	<i>Anabaena sibirica</i> (Pop. et Degt.) Elenk.	<i>Nodularia</i> sp.	-
Суа 6	оз. Горбунка	<i>Anabaena sibirica</i> (Pop. et Degt.) Elenk.	<i>Nodularia</i> sp.	-
Суа 10	оз. Хилганта	<i>Phormidium</i> sp.	<i>Phormidium</i> sp.	<i>O. cf. laetevirens</i> Baja-Osc-1 (99.0%) <i>Phormidium</i> sp. UTCC 487 (98.9%)

Примечание: «ист.» - источник; «оз.» - озеро; «-» - не определено.

гена 16S рРНК описаны два штамма – *M. laminosus* (M122) и *Synechococcus bigranulatus* (S135). Штамм *M. laminosus* (M122), выделенная из источника Уро (Курумканский район, Бурятия) на 99% был идентичен с *M. laminosus* CCМEE5272, выделенного из термального источника Португалии (Miller et al., 2007). Это дало дополнительное подтверждение о космополитности данного вида. Штамм *S. bigranulatus* (S135) имел максимальное сходство (99%) с некультивируемым представителем цианобактерий Uncultured cyanobacterium clone Alchichica AQ1, что говорит о том, что номенклатура цианобактерий находится в стадии реконструкции.

Из донных осадков и микробных матов озер Южного Забайкалья было выделено 6 монокультур цианобактерий: три культуры (Суа 1, Суа 2, Суа 10) отнесены к роду *Phormidium*, две культуры (Суа 5, Суа 6) – к роду *Nodularia*, одна культура (Суа 4) – к роду *Pseudanabaena* (Таблица). Все культуры проявили себя как алкалофильные (рН 8.5-9.5) и галотолерантные организмы (5 г/л NaCl). Исключением являлись две идентичные культуры, определенные как *Nodularia* sp. (Суа 5, Суа 6) способные расти при концентрации NaCl до 100 г/л, что является самым высоким значением минерализации для роста известных гетероцистных культур (Lehtimäki et al., 2000).

Анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК (1400 пар нуклеотидов) было проведено для трех культур. *Phormidium* sp. (Суа 10) имела наибольшее сходство с *Oscillatoria* cf.

laetevirens Baja-Osc-1 (99.0%) и *Phormidium* sp. UTCC 487 (98.9%), выделенных из минерализованных водоемов (Casamatta et al., 2005). Морфологически идентичные культуры определенные как *Ph. breve* (Суа 1 и Суа 2) на 99.2 % были сходны с *Phormidium* sp. NIVA-CYA 202, выделенного из соленого озера Антарктиды (Taton et al., 2006).

Таким образом, из исследованных щелочных экосистем Забайкалья было выделено 12 монокультур цианобактерий. 6 культур являлись термофилами с оптимумом роста при 40°C, за исключение *M. laminosus* (M122), которая имела более высокий оптимум – 45-55°C. Остальные 6 культур отнесены к умеренными алкалофилам с оптимум роста при щелочном рН. Они проявили способность развиваться при полном отсутствии NaCl в среде и до его концентрации 100 г/л. На основе анализа нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК идентифицировано 5 культур цианобактерий.

Благодарности

Работа выполнена в рамках темы государственного задания № 121030100229-1.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Андреюк Е.И., Коптева Ж.П., Занина В.В. 1990. Цианобактерии. Киев: Наукова думка.
- Геохимическая деятельность микроорганизмов гидротерм Байкальской рифтовой зоны. 2011. Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д., Данилова Э.В. и др. (Ред.). Новосибирск: Гео, 302 с.
- Голлербах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И. 1953. Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 2. Москва: Советская наука», 650 с.
- Еленкин А.А. 1949. Синезеленые водоросли СССР. Специальная часть. 2. Москва–Ленинград: АН СССР, 990 с.
- Заварзин Г.А. 2007. Образование содовых условий как глобальный процесс. Труды института микробиологии им. С.Н. Виноградского. Гальченко В.Ф. (Ред.), Алкалофильные микробные сообщества. Вып. 14. Москва: Наука, с. 8-57.
- Солоноватые и соленые озера Забайкалья: гидрохимия, биология. 2009. Намсараев Б.Б. (Ред.). УланУдэ: Бурятский госуниверситет, 340 с.
- Casamatta D.A., Johansen J.R., Vis M.L. et al. 2005. Molecular and morphological characterization of ten polar and near-polar strains within the *Oscillatoriales* (Cyanobacteria). *Journal of Phycology* 41(2): 421–438. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2005.04062.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.04062.x)
- Komárek J., Anagnostidis K. 1999. Cyanoprokariota 1. Teil: Chroococcales. *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Ettl H., Gärtner G., Heynig H. et al. (Eds.). 19(1): 548.
- Komárek J., Anagnostidis K. 2007. Cyanoprokariota 2. Teil: Oscillatoriales. *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. et al. (Eds.). 19(2): 759.
- Lehtimäki J., Lyra C., Suomalainen S. et al. 2000. Characterization of *Nodularia* strains, cyanobacteria from brackish waters, by genotypic and phenotypic methods. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 1043–1053.
- Miller S.R., Castenholz R.W., Pedersen D. 2007. Phylogeography of the thermophilic cyanobacterium *Mastigocladus laminosus*. *Applied and Environmental Microbiology* 73(15): 4751–4755. DOI: [10.1128/AEM.02945-06](https://doi.org/10.1128/AEM.02945-06)
- Taton A., Grubisic S., Ertz D. et al. 2006. Polyphasic study of Antarctic cyanobacterial strains. *Journal of Phycology* 42(6): 1257–1270. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2006.00278.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00278.x)
- Tsyrenova D.D., Bryanskaya A.V., Namsaraev Z.B. et al. 2011. Taxonomic and ecological characterization of cyanobacteria from some brackish and saline lakes of Southern Transbaikal region. *Microbiology* 80(2): 216-227.