

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ СО РАН

На правах рукописи

ГАРАНКИНА Валентина Петровна

**СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ
МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА
МЕЛКОВОДНЫХ ЗАЛИВОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ**

03.02.08. – экология (биологические науки)
03.02.03. – микробиология (биологические науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

На соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
О.П. Дагурова

Улан-Удэ - 2012

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. Микробное сообщество мелководных заливов озера Байкал (литературный обзор)	8
1.1. Краткая характеристика озера Байкал.....	7
1.2. Мелководные заливы (соры) озера Байкал.....	11
1.2.1. Характеристика мелководных заливов.....	11
1.2.2. Физико-химические условия среды обитания микроорганизмов байкальских соров.....	13
1.2.3. Фитопланктон прибрежно-соровой зоны.....	17
1.3. Роль микробных сообществ в деструкции органического вещества в водоемах.....	18
1.3.1. Круговорот органического вещества.....	18
1.3.2. Продукция органического вещества.....	19
1.3.3. Деструкция органического вещества.....	20
1.4. Микробное сообщество воды и осадков озера Байкал.....	23
1.5.Разнообразие микробного сообщества воды и осадков озера Байкал.....	26
ГЛАВА 2. Объекты и методы исследования.....	30
2.1. Объекты исследования и методы отбора проб.....	30
2.2. Физико-химические методы.....	34
2.3. Методы учета численности бактерий.....	34
2.4. Методы изучения скорости микробных процессов.....	36
2.5. Методы выделения чистых культур.....	36
2.6. Молекулярно-генетические методы.....	38
2.7. Статистические методы.....	46
ГЛАВА 3. Результаты исследования и обсуждение.....	47
3.1. Физико-химическая характеристика исследованных заливов	47

3.2. Численность микроорганизмов воды и осадков мелководных заливов озера Байкал.....	60
3.3. Сравнительный анализ глубоководных и мелководных осадков озера Байкал.....	67
3.2. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества в заливах.....	74
3.3. Микробные процессы в заливах.....	80
3.4. Скорость разложения белка и целлюлозы.....	82
3.5. Вертикальное распределение микробиологических характеристик в воде.....	84
3.7. Сезонная динамика развития микробного сообщества.....	84
3.8. Многофакторный анализ массивов данных физико-химических и микробиологических показателей.....	87
3.9. Описание культур гетеротрофов.....	95
3.10. Разнообразие микробного сообщества воды и осадков мелководных заливов.....	100
ВЫВОДЫ.....	117
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	119

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Байкал – одно из величайших озер мира, характеризующееся разнообразием биотопов. Мелководные заливы озера Байкал (соры) по своим экологическим условиям отличаются от участков открытого Байкала. Мелководье исследованных заливов отличается хорошей прогреваемостью в летний период и высокой продуктивностью (Кулагин, Помазкина, 1977). В заливах формирование химического состава воды зависит от множества факторов, главным из которых является речной сток, благодаря которому вода несколько обогащена органическим веществом и характеризуется увеличением содержания компонентов ионного состава и аллохтонного органического вещества, вследствие подтока речных вод (Мещерякова, Верболова, 1977).

Одним из существенных компонентов биоты озера являются микроорганизмы, играющие важную роль в круговороте веществ и энергии. Функционирование микробных сообществ организмов в комплексе с другими природными особенностями Байкала влияет на формирование химического состава и обеспечивает высокое качество байкальской воды. Микробные сообщества водной толщи и донных осадков открытого Байкала достаточно хорошо исследованы (Младова, 1975; Максимова, Максимова, 1989; Максимова и др., 1991; Белькова и др., 1996; Намсараев, Земская, 2000; Земская, 2007 и др.), также изучалось микробное сообщество дельты реки Селенга (Младова, 1971; Максименко и др., 2008). В мелководных заливах озера Байкал разнообразие и активность микроорганизмов практически не изучено.

Исследование микробных сообществ мелководных заливов озера важно для характеристики роли микробного сообщества в круговороте веществ и энергии экосистемы озера Байкал, поэтому изучение структуры и функционирования микробного сообщества мелководных заливов озера Байкал является актуальной задачей.

Цель исследования: изучить структуру и функционирование микробного сообщества в мелководных заливах озера Байкал.

Основные задачи исследования:

1. выявить физико-химические условия среды обитания микроорганизмов воды и осадков мелководных заливов озера Байкал;
2. определить численность бактерий в воде и осадках;
3. определить величины продукции и деструкции органического вещества в заливах;
4. изучить пространственную и сезонную динамику развития микробных сообществ;
5. провести характеристику разнообразия микробного сообщества исследуемых участков микробиологическими и молекулярно-биологическими методами;
6. выявить основные факторы, влияющие на функционирование микробного сообщества воды и осадков мелководья.

Научная новизна. Впервые получены и обобщены данные по видовому разнообразию и функциональной активности микробного сообщества воды и осадков мелководных заливов озера Байкал. Установлено, что показатели численности и активности микробного сообщества заливов были выше, чем в фоновых участках. Выявлена значительная доля сапрофитных бактерий в заливах, особенно в воде. Впервые охарактеризовано разнообразие некультивируемого микробного сообщества заливов с применением молекулярно-биологических методов, показано, что доминирующими являются такие группы микроорганизмов *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Acidobacteria*. Выделенные культуры сапрофитных бактерий идентифицированы как представители родов *Brevibacterium*, *Pseudomonas*, *Aeromicrobium*, *Agrococcus*. Впервые установлена приоритетность основных факторов, влияющих на экосистему воды и осадков мелководья.

Практическая ценность. Выявленные закономерности распространения и активности микроорганизмов в воде и осадках мелководных заливов озера Байкал могут использоваться для разработки принципов управления функционированием водных экосистем, при моделировании и прогнозировании процессов переноса вещества в Байкале, а также при обосновании системы мониторинга качества его вод. Полученные данные расширяют представления о филогенетическом и функциональном разнообразии микробных сообществ озера Байкал и могут быть применены при разработке учебных курсов по экологии и байкаловедению. В базе данных EMBL зарегистрированы 15 последовательностей, данная информация может быть использована для выяснения родственных связей среди микроорганизмов различных географических местообитаний и разработки системы праймеров для оценки их количественных характеристик.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на XII международной научной школе-конференции студентов и молодых ученых «Экология Южной Сибири и сопредельных территорий» (Абакан, 2008); IV и V молодежных школах-конференциях с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, 2008, 2009); XIII Пущинской международной школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2009); X съезде Гидробиологического общества при РАН (Владивосток, 2009), всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы микробиологии Центральной Азии» (Улан-Удэ, 2010); всероссийской конференции молодых ученых «Биоразнообразие: глобальные и региональные процессы» (Улан-Удэ, 2010); V Верещагинской конференции (Иркутск, 2010); на II международной научной конференции «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии» (Улан-Удэ, 2011); на международной конференции «Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов экстремальных местообитаний» (Улан-Удэ – Улаанбаатар,

2011); Байкальском Микробиологическом Симпозиуме с международным участием «Микроорганизмы и вирусы в водных экосистемах» (Иркутск, 2011).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 2 работы в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

Структура и объем диссертации. Материалы диссертации изложены на 125 страницах, включая 29 таблиц и 22 рисунка. Диссертация состоит из разделов «Введение», «Обзор литературы», «Объекты и методы», «Результаты и обсуждение» «Выводы», «Список литературы» (178 наименований) и приложения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 0804-98018р_сибирь_a.

ГЛАВА 1. Микробное сообщество мелководных заливов озера Байкал.

1.1. Краткая характеристика озера Байкал

Озеро Байкал является неповторимым природным объектом на планете, занимающим часть рифта, представленного активной континентальной рифтовой зоной мира. Как известно, происхождение озера связано с развитием глобальной рифтовой структуры, характеризующейся высокой сейсмической активностью. Байкал обладает рядом отличительных черт, таких как большая глубина, значительная площадь поверхности, низкое значение солености, исключительная прозрачность воды, высокое содержание биогенных элементов и кислорода на больших глубинах (Shimaraev, 1994).

Длина озера достигает 636 км, наибольшая ширина располагается в центральной части и составляет 79,5 км, минимальная ширина напротив дельты реки Селенга – 25 км, длина береговой линии около 2100 км. Площадь водного зеркала при урезе воды 454 м над уровнем моря равна 31570 км². Глубина озера максимальна на отметке 1637 м, при среднем значении – 758 м (Тулохонов, 2009). Дно озера выстлано Северной, Средней и Южной котловинами, которые отделяются друг от друга подводными порогами и перешейками (Кожов, 1962). Западные берега озера на всем протяжении скалистые, с преобладанием обрывисто-абразионных. На восточном побережье встречаются аккумулятивные галечные и песчаные берега с террасами (Атлас Байкала, 1993). В озеро впадает 336 рек и вытекает одна река Ангара. Байкальская вода отличается низким содержанием минеральных веществ, по классификации О.А. Алекина характеризуется как слабominерализованная гидрокарбонатно-кальциевая вода первого типа (Алекин, 1970). Водородный показатель воды составляет 8,3 ед. рН в поверхностном слое, увеличиваясь во время развития водорослей. Придонный слой характеризуется значениями 7,5 ед рН. Минимальные значения фиксируются в зимние месяцы, весной значения повышаются

(Атлас Байкала, 1993). Уникальной особенностью озера Байкал является высокое содержание кислорода от поверхности и до придонного слоя воды. Наибольшая концентрация кислорода наблюдается на поверхности, далее с глубиной она уменьшается, но не опускается ниже 70%. Содержание кислорода, в среднем, составляет 9-15 мг/л. В период развития фитопланктона его количество увеличивается, при этом фотосинтез фитопланктона происходит в водной толще до глубины 70 м (Вотинцев и др., 1975). Придонная область также богата кислородом, обогащение воды кислородом происходит здесь за счет водообмена путем ветрового перемешивания. Водная толща полностью перемешивается до придонных слоев во время весеннего термобара, поэтому даже в придонных слоях воды величина кислорода не опускается ниже 6 мг/л. Вертикальное перемешивание водных масс в озере происходит каждый год и активнее идет в предледоставный период, замедлен в период весенней гомотермии. Большое влияние на количество кислорода оказывают развитие фитопланктона, круговорот органического вещества и температура (Гранина и др, 2002).

Толщина донных отложений в озере Байкал составляет 10 км в центральной и южной частях, 4 км - в северной. Скорость осадконакопления, в среднем, изменяется от 0,12-0,2 до 0,03-0,04 мм в год (Кузьмин, 2000). Скорости осадконакопления в озере равняются 0,16 мм в год в Северном Байкале, 0,6 мм в год в Среднем Байкале, 1,2-0,9 мм в год в районе дельты Селенги (Фуджии и др., 1994). Скорость осадконакопления в Селенгинском мелководье достигает 5,2 см за 1000 лет, при значениях в открытом Байкале 4,2 см (Намсараев, Земская, 2000). Толщина донных отложений составляет в Южном Байкале 700 м, в дельте реки Селенга 8500 м. По последним данным скорость осадконакопления в озере Байкал 0,42 мм/100 лет (Тулохонов, 2009).

Органическое вещество в донных отложениях озера Байкал, как известно, распределено неравномерно и варьирует от 0,09 до 5% сухого

вещества. Среднее значение органического вещества в осадках озера составляет 1,9%. Большое количество органического углерода содержится в диатомовых илах (в среднем 1,47%), очень мало его – в песчаных грунтах (0,32-0,51%) (Выхристюк, 1977). Распределение органического вещества по площади дна Байкала подвергается общим закономерностям, которые характерны для внутренних водоемов, максимальные концентрации наблюдаются в центральной глубоководной зоне, минимальные – в периферических областях. В южной же части озера содержание органического вещества несколько выше. В большом количестве органические вещества содержатся в заливах, на мягких илистых грунтах. В органической составляющей донных отложений Байкала имеется большой процент легкогидролизуемых веществ, содержание лабильного органического вещества составляет в среднем 47% от общего количества углерода, что создает благоприятные условия для жизни микробных сообществ (Выхристюк, 1980). Изотопный состав органического вещества поверхностных слоев глубоководных осадков озера составляет от -31,84 до -28,03 ‰, большую роль здесь играет фитопланктон, $\delta^{13}\text{C}$ которого равен -31,3 ... -28,4 ‰ (Ришар, 1995). На большей части акватории озера изотопный состав органического вещества варьирует в донных отложениях в пределах -28...-30 ‰ (Намсараев, Земская, 2000). Белок является одним из постоянных компонентов органического вещества. Содержание белка в осадках достигает 186-910 мкг/кг. Наибольшие количества выявлены в прибрежных и приустьевых иловых отложениях Селенгинского мелководья (Намсараев и др., 1994). Целлюлоза поступает в осадки при разложении водорослей и высших растений. Значительные количества целлюлозы поступают с терригенным и речным сносами. Максимальное содержание полимера выявлено в прибрежных осадках и в поверхностном слое осадков, так как для них характерны высокие концентрации остатков наземной растительности. Содержание целлюлозы в донных осадках Байкала варьирует от 300 до 2980 мг/кг. (Намсараев и др., 1995).

1.2. Мелководные заливы озера Байкал

1.2.1. Характеристика мелководных заливов

По определению Женевской конвенции, залив представляет собой четко выраженное углубление в береговой зоне. При этом величина залива находится в таком сочетании с шириной устья, что залив почти со всех сторон окружен сушей. На озере Байкал имеется несколько крупных заливов, среди которых наиболее крупными являются Баргузинский (725 км²) и Чивыркуйский (270 км²). Основа дельтового прогиба образована ветвями сброса Черского, одна из ветвей которого ограничивает с юга и юго-востока дельтовый прогиб. Амплитуда опускания по разрыву, ограничивающему залив Провал с востока за четвертичный период превысила 300 м. Это свидетельствует о росте темпов неотектонической активности и возможном усилении сейсмической активности Усть – Селенгинской депрессии (Дельта..., 2008; Агафонов, 1990). Залив Посольский Сор образовался при погружении под воду участка суши площадью 40 кв. км. Аналогично образовался и залив Провал, от Байкала отчленен песчаной пересыпью и соединяется с ним тремя мелководными проливами. Так же, вероятно, возник и Сор Черкалов.

Соры озера Байкал – это закрытые, мелководные, хорошо прогреваемые заливы. В отличие от соров в полупустынных районах байкальские соры никогда не пересыхают. Образование соров происходит во время отделения прибрежных участков движущимися береговыми наносами, формируя косы. В целом, соры представляют собой отчлененную от озера прибрежно-мелководную зону, вода которой частично отделена от воды открытого Байкала, связь отличаются некоторым своеобразием экологических условий по сравнению с участками открытого Байкала (хорошей прогреваемостью в летний период, высокой продуктивностью, повышением содержания компонентов ионного состава и органического

вещества благодаря подтоку речных вод), что может обуславливать особенности структуры и функционирования микробного звена. (Лимнология..., 1977).

Мелководные заливы Провал, Посольский Сор и Сор Черкалов озера Байкал располагаются в придельтовом пространстве реки Селенга. Река Селенга, являясь самым крупным притоком озера Байкал, поставляет большую часть всего речного стока в озеро. Площадь водосбора составляет 447 тыс. км², длина 1024 км, по территории России проходит 409 км. Самые крупные притоки - Орхон, Хилок и Чикой. Среднегодовой объем стока Селенги равен 28,7 км³. Она относится к типу рек с половодьем и дождевыми паводками. Большой процент стока фиксируется летом в связи с сезонными особенностями климата и наличием многолетней мерзлоты, которая затрудняет накопление подземных вод. Вода Селенги является низкоминерализованной, так же, как и Байкал, относится к гидрокарбонатному классу группы кальция. По гидрохимическому режиму река относится ко второму, казахстанскому, типу в классификации рек бассейна озера Байкал. Годовой минимум минерализации наблюдается весной, далее в летний период идет повышение минерализации, с последующим понижением во время летне-осеннего паводка и плавным повышением в осенне-зимний период. Концентрация биогенных элементов в дельте подвержена сезонным влияниям. После схода льда она снижается и происходит выравнивание в пространственном распределении элементов. Величина растворенного кислорода в воде изменяется от 8,7 до 10,2 мг/л (Л.М. Сорокикова и др., 1995).

При впадении в озеро Селенга образует дельту в виде эллипса, который вытянут в западном и северо-восточном направлениях и сужен на севере. Экосистема дельты реки Селенга составляет 70 км² и включает разветвленную сеть протоков, озер и стариц. Аккумулятивные берега образованы внешним краем дельты и косами, отделяющими соры от озера. (Тулохонов, 2009). Прибрежье селенгинского мелководья характеризуется

неустойчивыми погодными условиями, режим течений зависит от ветра, который не постоянен. В исследуемых заливах продукция фитопланктона и деструкция органического вещества в воде сбалансированы и по своим размерам характеризуют соры как мезотрофные водоемы (Лимнология..., 1977). Состав фитопланктона преобразовывается весной, видовое разнообразие дополняется зелеными, диатомовыми и золотистыми водорослями. От особенностей водообмена и химического состава воды зависит содержание микроорганизмов в протоках дельты. Прибрежно-соровая зона играет важную роль в биологической продуктивности Байкала (Продуктивность Байкала..., 1974.)

Строительство гидроэлектростанции оказало косвенное влияние на мелководье, спровоцировав подъем уровня воды и тем самым вызвав изменения в морфометрическом и гидрологическом режимах в прибрежно-соровой зоне, что оказало влияние на биоценологические факторы литоральной зоны. Особенно эти изменения оказались заметными в мелководных заливах. Активизировались экзогеодинамические процессы (размыв, транспортировка и аккумуляция). Подъем воды в озере привел к затоплению прибрежной территории, увеличению глубины, изменению островов и кос, отделяющих заливы от Байкала, изменился водообмен между заливами и озером. Таким образом, водообмен залива Провал с озером в безледный период вырос в 1,3 раза, залива Посольский Сор в 1,7 раза. Повысился уровень трофии залива Провал.

1.2.2. Физико-химические условия среды обитания микроорганизмов байкальских соров

Известно, что химический состав воды озер сходен с составом речных вод и зависит от размеров, глубины, конфигурации озера, его происхождения и особенностей климата примыкающей территории, которые детектируются составом горных пород и руд, преобладающих в дренируемых речной системой толщах. Формирование химического состава воды и

гидрохимического режима реки Селенга происходит среди слабо выщелачиваемых изверженных или метаморфических пород архея и протерозоя (Проблемы Байкала, 1978, Давиденко, 2003)

Физико-химические условия, возможно, играют определенную роль в формировании микробных сообществ водных экосистем. В трансформации веществ, поступающих в реку Селенга, как и в озеро Байкал, большая роль принадлежит бактериям водной толщи и побережья (Гордеев, 1978; Лисыцин, 1994; Емельянов, 1998). Колебания численности бактерий зависят от гидрологических и гидрохимических показателей среды обитания. Скорость круговорота биогенных элементов в воде заливов озера Байкал довольно высока, активную роль в функционировании экосистемы заливов играют бактерии (Намсараев и др., 2008).

Район прибрежно - соровой части Селенгинского мелководья характеризуется неустойчивыми погодными условиями, а поскольку режим течений полностью зависит от режима ветра, то он также не отличается постоянством. К югу от дельты преобладают юго-западные ветры по повторяемости и продолжительности.

Влияние реки Селенга и особые условия теплообмена в сорах определяют температурный режим придельтового пространства. Среднегодовая температура воды на поверхности озера Байкал около 4°C. В мелководных заливах среднегодовая температура поверхностных вод выше, чем в открытой части, за счет сильного летнего прогрева (Шимараев, 1977). В районе дельты реки Селенга у протоки Харауз температура воды достигает до 19°C. В районе Селенгинского мелководья в июне наивысшая температура – 22,2°C, а наименьшая - 6,4°C (Атлас Байкала, 1993). Температурный режим водных масс мелководных участков формируется под влиянием внешнего теплообмена с окружающей средой и динамических процессов, таких как течение, ветровое перемешивание, водообмен с глубоководными участками озера. Сезонные изменения температуры воды характеризуются большой амплитудой, коротким периодом весеннего

прогрева, значительным летним прогреванием, быстрым осенним охлаждением и продолжительным подледным периодом. В конце октября – начале ноября замерзают заливы Провал, Посольский Сор и Сор Черкалов. Подледный период длится около полугода. Сразу после ледостава в заливах происходит значительный прогрев придонного слоя воды от дна, быстро распространяющийся на всю водную толщу. Вертикальное распределение температуры в заливах представляет четкую обратную стратификацию с почти однородным по температуре подледным слоем и слоем с большими вертикальными градиентами в остальной части вертикали. Пространственное распределение температуры в это время характеризуется неоднородностью. Наблюдается небольшое повышение температуры к берегам. В период весеннего прогревания раньше температура повышается в области прибрежных мелководий из-за более интенсивного теплопоглощения. В Посольском и Соре Черкалов полное освобождение ото льда происходит к 25 мая. Переход к летнему периоду характеризуется развитием термобара на границе соприкосновения холодных вод глубоководных участков и теплых вод мелководных участков (Верболов и др., 1965). Мелководье открытого Байкала имеет более медленный и длительный характер прогрева, продолжающегося до конца июня (Россолимо, 1957). Период летнего прогревания хорошо выражен именно в сорах озера Байкал, где поверхность воды достигает до 25 градусов. Вертикальной стратификации не наблюдается. В районах прибрежных мелководий открытого Байкала поверхностный слой прогревается до 16 градусов. Период осеннего охлаждения начинается в мелководных заливах раньше, чем в открытой части озера. В сорах происходит быстрое охлаждение и раннее замерзание воды.

Химический состав воды озера Байкал формируется под действием такого сезонного явления, как речной сток (Намсараев и др., 2008). Химический состав воды озера Байкал определяется средним химическим составом вод притоков. Нарушение постоянства в содержании главных ионов

отмечается местами, например, рядом с притоком Селенги количество основных ионов намного выше. Для соросов характерно низкое содержание минеральных веществ в воде в отличие от речной воды. Для воды Байкала в дополнение к этому свойственно и низкое содержание органических веществ (Продуктивность Байкала..., 1974).

Воды реки Селенги отличаются от озерных по физическим характеристикам, содержанию взвеси и химическому составу (Сороковикова Л.М, 2000). Динамика содержания биогенных элементов в водных объектах дельты подвергается сезонному характеру. В весенний период состав фитопланктона меняется, видовое разнообразие дополняется различными группами водорослей. Встречаются зеленые, диатомовые и золотистые водоросли, также растет процент сине-зеленых водорослей. Протоки дельты различаются по содержанию микроорганизмов, большое влияние оказывают особенности водообмена и химического состава воды (Авдеев и др., 1992). В химическом балансе органического вещества главенствующую роль играет его автохтонное продуцирование фитопланктоном (Гидрохимия, проблемы Байкала, 1978). Бактерии используют биогенные элементы для синтеза органического вещества. Образованное ими органическое вещество служит субстратом для гетеротрофного сообщества бактерий, в процессе деструкции, использующее автохтонное и аллохтонное вещества в качестве доноров и акцепторов электронов (Горленко и др., 1977).

Водородный показатель находится в нейтрально-щелочной области – в пределах 7,2–7,8 и изменяется в соответствии с сезонными колебаниями свободной углекислоты. В период открытого русла рН воды в реке и протоках варьирует в пределах 7,8-8,7. По длине проток рН изменяется незначительно, составляя при этом 8,1-8,3; В центре дельты могут преобладать высокие значения 8,5-8,7. Высокие значения рН в теплый период времени связан с интенсивным поглощением углекислоты фитопланктоном (Гидрохимия, проблемы Байкала, 1978).

Минерализация является неотъемлемой составной при анализе воды,

определяя суммарное содержание растворенных ионов, солей и коллоидов. Вода большинства озер и рек содержит до 0,02% растворенных минеральных веществ, в большом количестве выносимых речными водами в моря и океаны (Давиденко, 2003). По классификации О.А. Алекина, химическая составляющая воды озера Байкал характеризуется как слабоминерализованная гидрокарбонатно-кальциевая вода первого типа (Алекин, 1970). Суммарная концентрация растворенных солей в воде составляет 100 мг/л (Вотинцев, 1961). На долю гидрокарбонатного иона приходится до 90% эквивалентов. Низкое содержание гидрокарбонатов наблюдается во время паводков и повышается в конце подледного периода, отмечается заметное возрастание их содержания в период летней межени. Из катионов главную массу составляет кальций, на долю которого приходится до 75% эквивалентов. Речная вода Селенги также является гидрокарбонатно-кальциевой. Вода Селенги формируется в условиях гористых ландшафтов Северной Монголии и степных ландшафтов Западного Забайкалья. Ее питают, в основном, дождевые воды, которые вызывают мощные летние паводки. Особенности геологического строения бассейна, сложенного кристаллическими породами, хорошая промытость почвогрунтов и незначительность питания подземными водами обеспечивают невысокую минерализацию воды реки Селенга (Гидрохимия // Проблемы Байкала, 1978). Воды Байкала, как известно, формируются за счет вод притоков и атмосферных осадков (Афанасьев, 1960).

В мелководной части соровой зоны озера Байкал идет аккумуляция органических веществ у устья реки Селенга, влияние на функционирование соров оказывается как самим Байкалом, так и береговыми потоками (Кожов, 1962). В приустьевых районах Байкала значительную часть осадочного материала составляют взвешенные вещества речного стока. Общий твердый сток притоков Байкала составляет 4313,8 тыс. тонн в год. Из них наибольший вклад вносит р. Селенга – 2661, 2 тыс. тонн в год (Вотинцев, 1967). По данным на 1994 год твердый сток рек составляет 3598 тыс. тонн в

год (Ломоносов, Хаустов, 1994).

1.2.3. Фитопланктон прибрежно - соровой зоны

Мелководность заливов характеризуется быстрым прогреванием и содержанием биогенных элементов, обуславливая более повышенный уровень продуктивности фитопланктона в сравнении с глубоководьем озера Байкал. Фитопланктон соров имеет богатый видовой состав. Развитие фитопланктона напрямую зависит от значений температуры. В озерно-соровой зоне его содержание выше, чем в пелагиали Байкала. Высоким содержанием фитопланктона характеризуется залив Посольский Сор, который населен широко распространенными видами водорослей. Наиболее многочисленны протококковые, синезеленые и диатомовые водоросли. Летом для сора свойственно «цветение» воды видами *Anabaena* и синезеленой водоросли *Gloeotrichia echinulata*. Максимальное количество фитопланктона, при развитии в течение всего вегетационного периода, наблюдается ранней весной подо льдом благодаря интенсивной вегетации комплекса водорослей. Несколько отличается залив Провал по содержанию фитопланктона, большое влияние оказывает Селенга, притоки которой повысил уровень трофии залива. Уровень развития планктона ниже, чем в Посольском Соре, так как в воде сора высокого содержания минеральных взвешенных частиц. Диатомовые водоросли здесь доминируют при высоком видовом разнообразии. Истоминский Сор по развитию фитопланктона схож с Посольским Сором (Лимнология..., 1977). В заливе Сор Черкалов обнаружено больше форм водорослей, чем в Посольском Соре и Провале. Доминирующими группами по числу видов являются зеленые и диатомовые водоросли. Видовой состав фитопланктона носит смешанный характер и состоит из видов, выносимых дельтовыми протоками реки Селенга, видов, характерных для самого сора и видов байкальского комплекса (Ташлыкова, Томберг, 2002; Ташлыкова, 2009).

1.3. Роль микробных сообществ в деструкции органического вещества в водоемах

1.3.1. Круговорот органического вещества в водоемах

Круговорот органического вещества является одним из важнейших процессов, происходящих в водоеме. В биохимических процессах, протекающих в подземных и поверхностных водах, участвуют аэробные и анаэробные, автотрофные и гетеротрофные бактерии, грибы и водоросли. Микроорганизмы являются основными катализаторами процессов продукции и деструкции органического вещества, образования и потребления газов, синтеза вторичных метаболитов и трансформации антропогенных загрязнений (Кузнецов, 1970). Значения и характер распределения интенсивности микробных процессов в барьерных зонах озера Байкал отличаются от таковых в контрольных районах. Донные осадки дельты реки Селенга и Селенгинского мелководья характеризуются высокой интенсивностью процессов продукции и деструкции органического вещества.

1.3.2. Продукция органического вещества

Органический мир Байкала многообразен и уникален благодаря обилию в нем различных экологических ниш и сложности биоценологических отношений. По источникам первичной продукции и абиотическим параметрам озеро Байкал подразделяется на прибрежную и глубоководную зоны (Атлас Байкала, 1993). В процессе фотосинтеза происходит образование органического вещества из углекислоты и создается первичная продукция фитопланктона, определяющая активную жизнедеятельность водоема (Винберг, 1960). В озере Байкал автотрофное продуцирование органического вещества обеспечивается за счет жизнедеятельности фитопланктона (Вотинцев, 1961). На долю донной растительности приходится 0,6% первичной продукции фитопланктона, что составляет небольшую часть органического вещества в озере. Содержание аллохтонного органического

вещества, поступающего в Байкал с водами его притоков и атмосферными осадками, составляет 10% первичной продукции фитопланктона, что указывает на второстепенное значение аллохтонности в озере. Автохтонное органическое вещество в Байкале является основным и составляет 127 г $C_{\text{орг}}$ под 1 м² поверхности в течение года (Вотинцев и др., 1975).

В продукции органического вещества в донных осадках принимают участие фототрофные и хемотрофные бактерии. Фотосинтезирующие аэробные цианобактерии и анаэробные зеленые и пурпурные бактерии развиваются в верхних слоях осадков прибрежных районов, определяющим фактором служит наличие света. Хемотрофные бактерии используют энергию окисления органических, а также неорганических веществ (водород, аммиак, сульфит, сера, сульфидные минералы и др.) и встречаются по всей толще осадков мелководных и глубоководных районов озера (Заварзин, 1972; Кондратьева, 1996).

Бактериальная продукция в воде в летний период колебалась от 1,3 до 9,0 мкг $C/l \cdot \text{сутки}$ (Щетинина, 2003). В осадках продукция составляет 0,2-3,5 мг $C/kg \cdot \text{сутки}$. (Максимова и др., 1991). При определении бактериальной продукции в осадках озера Байкал радиоуглеродным методом в каменисто-песчаных грунтах и глинистых илах продукция была низкой (0,01-0,05 мкг C/g), в заиленных песках 0,03-0,9 мкг C/g , в грунтах около БЦБК – 0,2-15,2 мкг C/g . (Романенко, 1964, Максимова и др., 1991).

1.3.3. Деструкция органического вещества

Деструкция обусловлена серией превращений, вызываемых различными физиологическими группами бактерий, где продукты одного этапа служат питательным субстратом для организмов, осуществляющих следующий этап. Накапливающаяся при этом биомасса бактерий является вторичной продукцией. В деструкции органического вещества участвуют аэробные и анаэробные микроорганизмы различных физиологических групп. На первых этапах деструкции основная роль принадлежит бактериям –

гидролитикам, которые делятся на две группы: организмы, разлагающие легкогидролизуемые соединения (сапрофиты, протеолитики, амилолитики, и др.), и организмы, разлагающие устойчивые полимеры клеточной стенки (целлюлозоразлагающие бактерии). В присутствии кислорода аэробные микроорганизмы окисляют органическое вещество до CO_2 и H_2O , синтезируя при этом клеточную биомассу. Гидролиз полимеров приводит к созданию резервуара мономеров (сахара, пептиды, аминокислоты, нуклеотиды, жирные кислоты), которые служат субстратами для бродильщиков. На второй стадии мономеры сбраживаются бактериями - бродильщиками с образованием ряда более простых соединений – низших жирных кислот, таких, как пропионат, бутират, лактат, пируват и спиртов – этанола, метанола, пропанола, бутанола. В числе продуктов брожения часто присутствует водород. (Гусев, Минеева, 2003).

В присутствии кислорода в водной толще и в поверхностных слоях осадков протекает аэробная деструкция до CO_2 и воды, при этом образуется бактериальная биомасса. Скорость аэробной деструкции в грунтах Южного Байкала 15-541 мг $\text{C}/\text{м}^2$ сутки. Деструкция в подледный период протекает в основном за счет анаэробных процессов и составляет 109-1218 мг $\text{C}/\text{м}^2$ сутки (Штевнева, Судакова, 1986). Аэробный этап разложения органического вещества идет в верхних слоях донных осадков и определяется, в первую очередь, скоростью поступления кислорода, т.е. массообменными характеристиками среды обитания (Заварзин, 1984). Основными конечными продуктами процесса являются углекислота, вода и бактериальная биомасса. Субстратами для аэробных микроорганизмов служат высокополимерные и низкомолекулярные органические вещества. В поверхностном слое ила биополимеры минерализуются разными видами родов *Caulobacter* и *Flexibacter* (Кузнецов и др., 1985). Из органических веществ в аэробной зоне прежде всего используются легкодоступные органические вещества: мономеры углеводов, аминокислоты, пептиды. Дальнейший распад растворенного органического вещества происходит при участии автохтонной

микрофлоры – олиготрофных и факультативно олиготрофных бактерий, для которых достаточно небольших концентраций веществ (Kuznetsov et al., 1970). Аэробные процессы продолжаются и при концентрации кислорода в среде ниже 1 мг/л, участие принимает микроаэрофильная микрофлора, характерными представителями которой могут служить акваспириллы. Продуктами газообмена на этом этапе является CO_2 , NH_3 и такие соединения серы, как метилсульфиды, но не H_2S (Заварзин, 1984). Легкоусвояемые низкомолекулярные вещества в первую очередь используются в аэробной зоне, к анаэробам попадают полимерные субстраты.

При отсутствии кислорода в толще осадков происходит анаэробная деструкция, включающая несколько этапов – гидролиз, брожение, кислотогенез, газообразование. За каждую стадию отвечает своя физиологическая группа бактерий, входящая в состав микробного сообщества. Анаэробная деструкция происходит при полном отсутствии кислорода и низком окислительно-восстановительном потенциале. Облигатные анаэробы условно можно разделить на две группы: первичные анаэробы, которые не используют внешних акцепторов электронов, и вторичные анаэробы, которые могут использовать внешний окислитель. К первичным анаэробам относятся микроорганизмы, осуществляющие брожения. Среди них имеются две крупные морфологические группы: споровых бактерий, объединенных в большой род *Clostridium*, и разнообразных неспоровых бактерий (Заварзин, 1984).

Начальными стадиями разрушения биополимеров является их гидролиз до мономеров, особенно характерен гидролиз целлюлозы. Гидролиз полимеров приводит к созданию резервуара мономеров, который в первую очередь служит субстратом для самих гидролитических микроорганизмов. Конечными продуктами обмена первичных анаэробов являются H_2 , CO_2 , кислоты, спирты. Сообщество первичных анаэробов регулируется рядом факторов. В результате их деятельности рН падает примерно до 5, что приводит к остановке процесса деструкции. Снижение рН зависит от

скорости сбраживания мономеров, и поэтому концентрация мономеров является одним из важнейших регулирующих факторов обмена. Регулирующим фактором является также концентрация водорода. Поэтому длительное развитие сообщества первичных анаэробов оказывается возможным при удалении продуктов обмена сообщества (Заварзин, 1984). Стадии гидролиза и брожения осуществляет клостридиальные формы - бактерии, гидролизующие целлюлозу, пектин, липиды и жирные кислоты до целлобиозы, сахаров и жирных кислот; бактерии гетероферментативного молочнокислого брожения, сбраживающие сахара и гемицеллюлозы с образованием молочной, уксусной кислот и H_2 . На ацетогенной стадии различные восстановленные продукты брожения превращаются в ацетат, H_2 и CO_2 . Многие из них относятся к микроаэрофилам и растут преимущественно на жирных кислотах, продуцируемых анаэробами. К этой группе относятся также облигатные протонвосстанавливающие ацетогенные бактерии (Кузнецов и др., 1985). Распад органического вещества в анаэробной зоне донных отложений завершается терминальными процессами сульфатредукции и метаногенеза. При наличии сульфатов распад органического вещества идет в основном при участии сульфатвосстанавливающих бактерий до H_2S и углекислоты, а при недостатке SO_4^{2-} - с образованием CH_4 и углекислоты (Кузнецов и др., 1985).

1.4. Микробное сообщество воды и осадков озера Байкал

Микробное сообщество озера Байкал, как и других озер мира, изучается сравнительно давно (Дрюккер, 1987). Однако, используя метод прямого подсчета бактерий в олиготрофных водах Байкала, в течение 40 лет были выявлены закономерности функционирования микробных сообществ (Максимова, Максимов, 1989; Максимов и др., 2002; Максимова и др., 2005). Определение общей численности микроорганизмов в естественных водах актуально и на современных этапах исследований. Микроорганизмы являются активными участниками биоты озера Байкал, формируя

химический состав воды и донных отложений. Самоочищение воды Байкала происходит под действием микроорганизмов, извлекающих из воды минеральные и органические вещества. Они участвуют в процессе самоочищения воды. Важнейшей функцией бактерий является непосредственное участие в деструкции органического вещества.

Численность микроорганизмов в заливах озера Байкал в течение годового цикла зависит от процессов биотического и абиотического характера, из которых большое значение имеет содержание органических веществ, степень развития фитопланктона и температура воды. Численность микроорганизмов показывает роль их в круговороте веществ в озере, также устойчивые или возникшие изменения состояния микробиоценозов и экосистемы в целом (Кулагин, Помазкина, 1977). Численность микроорганизмов в воде варьирует от нескольких сотен тысяч до миллионов клеток/мл. В осадках же численность микроорганизмов достигает до нескольких миллиардов клеток/мл и зависит от типа осадка – в илах бактерий больше, чем в песках. В осадках мелководья микроорганизмов больше, чем в глубоководье. Для Байкала характерно то, что наибольшая численность бактерий (до 2 млн кл/мл) отмечается в поверхностном слое воды в ранне-весенний и летне-осенний периоды. Самое низкое количество микроорганизмов в воде (до 160 тыс. кл/мл) наблюдается зимой также в поверхностных слоях. В гипolimнионе количество клеток на порядок ниже и достигает до 4,2 млн.кл/мл, сезонность в нем выражена слабее, возможно влияние оказывает береговая часть (Атлас Байкала, 1993).

Общая численность бактерий в водной толще измеряется сотнями тысяч клеток в мл воды. Максимальные значения сильно варьируют по годам (от 700 тыс. до 2,1 млн. клеток/мл. В годовом развитии прослеживаются два максимума – весенний подо льдом и летне-осенний (Максимова, Максимов, 1989). Общая численность бактерий в донных осадках достигает нескольких миллиардов клеток на грамм влажного грунта (максимум - до 3,5 млрд. клеток/г) и зависит от литологического состава и места отбора: в илах

численность больше, чем в песках; в мелководных осадках больше, чем в глубоководных. С глубиной осадка численность бактерий снижается (Намсараев, Земская, 2000).

Сезонная и пространственная динамика компонентов химического состава и качество воды в протоках определяются сезонными изменениями водного стока. Перенасыщение воды органическим веществом стимулирует развитие сапрофитных бактерий. В Байкале происходит самоочищение воды под действием сапрофитных бактерий, которые извлекают из воды минеральные и органические вещества. В исследованных заливах озера Байкал при участии бактерий идут процессы продукции и деструкции органического вещества автохтонного и аллохтонного происхождения. Бактерии различных физиологических групп, действуя в единстве с природными особенностями водоема, обеспечивают чистоту и определенный химический состав воды озера Байкал. Постоянным и закономерным компонентом микробного звена заливов являются сапрофитные бактерии. Эти гетеротрофные микроорганизмы играют большую роль в круговороте органического вещества, участвуя в процессах деструкции, минерализации и трансформации автохтонного и аллохтонного органического вещества. Сапрофиты служат индикаторами автохтонности и аллохтонности легкоусвояемых органических веществ. Существуют сезонные колебания численности сапрофитов. Прежде всего, прослеживается зависимость от содержания легкоокисляемых органических веществ автохтонного происхождения.

Исследование сапрофитов прибрежно-соровой зоны озера Байкал вызывает интерес, поскольку данная территория представляет собой промежуточную экотонную область между наземной и водной экосистемами, между прибойной волной озера и потоком речной воды Селенги, которые аккумулируют у устья легкоусвояемые органические вещества. Здесь влияние оказывается и со стороны Байкала и со стороны береговых наносов. Важным фактором, влияющим на развитие сапрофитных бактерий, является

автохтонное органическое вещество, продуцируемое водорослями. В целом, численность бактерий зависит от содержания растворенного органического вещества, поступающего с отмирающей водной растительностью, с речными выносами, береговым стоком.

Целлюлозоразлагающие бактерии являются специфической группой микроорганизмов, которые используют целлюлозу в качестве источника энергии и углерода. Первые работы по изучению деятельности целлюлозных бактерий в водоемах проводились были начаты давно. Целлюлоза составляет до 40% массы сухих растений, имеет широкое распространение среди веществ в природе (Stephens, Heichel, 1975). В мелководные заливы полимер поступает с терригенным сносом с берегов и речным потоком. В фотической зоне водоемов целлюлоза синтезируется фитопланктоном. В илах пресных озер содержание полимера достигает значительных величин, это объясняется поступлением в осадки больших количеств целлюлозосодержащего растительного материала и фитопланктона (Намсараев).

Санитарно-микробиологическая оценка чистоты вод Байкала по наличию бактерий группы кишечной палочки, являющимися индикаторами антропогенного загрязнения показала, что глубинная байкальская вода относится к чистой (кишечная палочка отсутствует или ее количество не превышает коли-индекс). Однако вблизи берегов у некоторых населенных пунктов, в устьях притоков наблюдаются повышенные концентрации кишечной палочки (Максимова и др., 1995; Грачев, 2002).

1.5. Разнообразие микробного сообщества воды и осадков озера Байкал

Идентификация и закономерности распространения бактерий зависят от совокупности экологических условий заливов и озера Байкал. Микробное сообщество мелководных заливов представляют собой одну из составляющих компонент экосистемы озера Байкал, приспособившись к уникальным гидрологическим и гидрохимическим условиям озера. С

помощью молекулярно-биологических методов было доказано наличие в микробных сообществах воды и осадков озера Байкал большого количества некультивируемых форм микроорганизмов, как приспособления к жизнедеятельности в данном олиготрофном водоеме. В водной толще обнаружено 138 новых некультивируемых видов бактерий, в донных отложениях – 260 новых некультивируемых видов (Белькова, 2004). Это и культивируемые формы микроорганизмов в состоянии покоя, а также и, действительно, не опознанные бактерии, выявленные молекулярным методом, но характерные для этой экосистемы. До недавнего времени характеристика микробных сообществ основывалась на получении чистых культур с дальнейшим анализом морфологических, физиологических и биохимических особенностей микроорганизмов. Это связано было с тем, что малые размеры и крайне ограниченный набор морфологических признаков затрудняет идентификацию микроорганизмов в природных образцах. На данный момент известно, что культивируется лишь небольшой процент всех микроорганизмов экосистемы в целом. Молекулярный подход открыл новый этап в изучении экологии микроорганизмов, позволив наиболее точно определять состав микробных сообществ (Разнообразие микробных сообществ..., 2009).

Максимум активно развивающихся в природе бактерий невозможно выделить в культуру. Штаммы бактерий, которые все-таки удается вывести из природных образцов, не детектируются при выделении ДНК с самого субстрата. Это может говорить о том, что культивируемые формы микроорганизмов играют в природе незначительную роль вследствие малого количества и являются высокоспециализированными организмами, способных активно развиваться в лабораторных условиях (Алешин, 2009). Исследования микроорганизмов толщи осадков (керны глубокого бурения длиной 100-600 м) показали, что в осадочных породах обитают представители широко распространенных родов бактерий, а также культивируемые бактерии, не относящиеся ни к одному из известных

таксонов (более 40%). Выделенные из кернов осадка байкальские штаммы отличались необычной морфологией (Андреева и др., 2001).

Таксономическое разнообразие микроорганизмов представлено большим количеством филогенетических групп. Микроорганизмы озера Байкал относятся к таким таксономическим группам, как цианобактерии, альфа и бета - протеобактерии, гамма и дельта – протеобактерии, флавобактерии, актинобактерии, планктомицеты, голофаги, нитроспира, веррукомикробии. Определенные группы преобладают на определенной глубине. В поверхностных слоях воды доминируют цианобактерии, на глубине 400 м – актинобактерии, в глубинных слоях – протеобактерии (Семенова, 2002; Белькова, 2004). В озере Байкал было выявлено родство с культивируемыми бактериями, такими как *Flavobacterium ferrugineum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Caulobacter crescentus* (Лаптева, Афанасьев, 1988). Результат сравнительного анализа показал гомологию с группой протеобактерий (альфа-, бета-, гамма- и дельта-) (Денисова и др., 1999). Среди гетеротрофных бактерий впервые в Байкале обнаружены представители веррукомикробий (Семенова, Кузнецов, 1998).

В настоящее время с помощью классических микробиологических и молекулярных методов определено 220 известных видов микроорганизмов, относящихся к 84 родам. Наиболее изучена в Байкале группа аэробных гетеротрофных бактерий, которая представлена большим разнообразием культивируемых видов. Установлено доминирование бактерий рода *Pseudomonas* в гетеротрофном сообществе озера. В воде и донных осадках обнаруживаются представители 5 из 7 филогенетических групп этого рода. Псевдомонады встречаются по всей глубине водной толщи с максимумом в термоклине и гиполимнионе (Лаптева, 1990). Количество псевдомонад в воде Байкала составляет 21-48% от количества культивируемых гетеротрофов (Павлова, 2004). Также широко распространены представители родов *Arthrobacter*, *Caulobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* (Лаптева, 1990; Верховина, 2003). Большинство выделенных

культур бактерий обладает различными ферментативными активностями – каталазной, оксидазной, дегидрогеназной, фосфатазной, протеазной и др. Выделены штаммы-продуценты эндонуклеаз рестрикции (Верхозина, 2003). Наиболее часто встречаемые в Байкале актиномицеты представлены 32 видами 2 родов - *Streptomyces* и *Micromonospora* (Теркина, 2004). Список дрожжей, обитающих в воде Байкала, включает 22 вида, 8 родов (Максимова, Колесницкая, 1982).

В экотонной зоне меняются количественные показатели и филогенетическая структура микробных сообществ, что свидетельствует о существовании речного и озерного комплексов видов микроорганизмов. Установлено, что в авандельте реки Селенги основную долю в сообществе составляют эубактерии, вклад которых в общую численность микроорганизмов уменьшается при удалении от устьев рек. Отмечено повышение доли микроорганизмов, принадлежащих к *Gamma*proteobacteria и *Cytophaga-Flavobacterium* в зонах с повышенной продукцией.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Исследования воды и осадков озера Байкал были проведены в 2008-2011 гг. в мелководных заливах - Провал, Посольский Сор и Сор Черкалов, а также фоновых (контрольных) участках Боярск и Энхалук, расположенных вблизи заливов. Было отобрано и проанализировано 112 проб воды и осадков в различные сезоны года.

Мелководные заливы Провал, Посольский Сор и Сор Черкалов находятся в придельтовом пространстве крупнейшего притока озера Байкал - реки Селенга.



Рис.1 Географическое расположение изученных участков озера Байкал (придельтовое пространство р. Селенга)

Отбор проб воды проводили с помощью батометра и переливали в стерильную посуду, осадков – с помощью стратометра. Пробы воды и осадков у уреза воды отбирали вручную. Все пробы обрабатывали или фиксировали сразу после отбора.

Залив **Провал (Дубининский Сор)** расположен у устья реки Селенга, к северу от дельты. Залив образовался в 1861 году при крупнейшем землетрясении, во время которого опустился блок земной коры, примыкавший с севера к дельте Селенги. Площадь залива составляет около 200 км². Средняя глубина 2 м, наибольшая – 3,5 м. Залив включает в себя территорию от мыса Облом на северо-востоке до села Дубинино на юго-западе, имеет почти треугольную форму. Берега залива ровные, песчано-галечные, заболоченные. В залив впадает группа дельтовых протоков реки Селенга. Залив отделен от озера цепочкой низких песчаных островов, имеющих четыре мелководных пролива. Основная масса воды из залива в озеро и обратно проходит через пролив между мысом Облом и островом Чаячий. В гидрологическом отношении сказывается значительное влияние вод озера, особенно во время ветров. Развитие фитопланктона в заливе Провал ниже, чем в Посольском соре, что связано с наличием в воде минеральных взвешенных веществ, поступающих в большом количестве из р. Селенга, при которых наблюдается плохое развитие сине-зеленых и диатомовых водорослей. (Поповская, 1977).

Залив **Посольский Сор** расположен в Южной котловине озера Байкал, к югу от дельты р Селенга. Залив Посольский сор также появился после погружения под воду участка суши во время землетрясения, в результате которого опустилась часть кударинской террасы (Солоненко, Тресков, 1960). Залив является типичным сором, то есть он связан с озером широким проливом с узкой и низкой песчаной косой. При этом влияние озера незначительно. Его площадь 37 км². Наибольшая глубина составляет 5 м, средняя – 3 м. В залив Посольский Сор впадают реки: Большая Речка, которая возле устья образует протоку Старица, Толбазиха, Абрамиха и Култушная, все реки стекают со склонов хребта Хамар-Дабан. Самая крупная из впадающих рек - река Большая. Посольский Сор является самым глубоким из мелководных заливов Байкала, отделенным от основной акватории посольскими песчаными косами, названными полуостровом Карга. Это

единственный на Байкале закрытый от основной акватории залив, в котором активный водообмен происходит во время штормов. Залив характеризуется высоким уровнем развития фитопланктона, наиболее многочисленны протококковые, сине-зеленые и диатомовые водоросли (Кулагин, Помазкина, 1977).

Залив **Сор Черкалов (Истокский Сор, Истоминский Сор)** также возник в результате землетрясения. Залив примыкает к дельте реки Селенга с юга и представляет собой широкий, но мелкий водоем с площадью водного зеркала 20 км². От озера Байкал его отделяет узкая и песчаная коса, расчлененная несколькими прорвами. Максимальная глубина достигает 2,5 м, преобладающая составляет 1,5 м. Благодаря постоянным ветрам и малым глубинам сор прогревается и охлаждается равномерно. Содержание кислорода в поверхностных и придонных слоях одинаковое в период открытой воды. Продукция фитопланктона и деструкция органического вещества в воде сбалансированы (Кулагин, Помазкина, 1977).

2.2. Определение физико-химических параметров среды обитания микроорганизмов

В местах отбора проб температуру воды измеряли с помощью сенсорного электротермометра Prima (Португалия). Показатель pH среды определяли потенциометрически при помощи полевого pH-метра pHep (Португалия). Показатель Eh – измерителем редокс-потенциала ORP (Португалия). Значение общей минерализации определяли портативным тестер-кондуктометром TDS-4 (Сингапур). Концентрацию гидрокарбонатов анализировали титриметрическим методом, кислорода - методом Винклера (Winkler, 1888) и с помощью оксиметра Oxi 315i (Германия). Содержание в воде и осадках катионов и анионов определяли по общепринятым в гидрохимии методам (Алекин и др., 1973). Содержание органического углерода в осадках определено по методу Тюрина в модификации Никитина (Никитин, 1972), углеводов – фенолсернокислым методом Дюбуа (Dubois et al., 1956), белка – по

реакции с кумасси синим (Bradford, 1976). Содержание стабильных изотопов углерода ^{12}C и ^{13}C в виде газообразной формы CO_2 измеряли на масс-спектрометре МИ-1201.* Результаты представлены в величинах $\delta^{13}\text{C}$ в промилле по отношению к общепринятым стандартам PDB (Зякун, 2010).

2.3. Методы учета численности микроорганизмов

Общую численность микроорганизмов в воде и осадках определяли путем подсчета на мембранных фильтрах (Романенко, Кузнецов, 1974). Использовали нитроцеллюлозные фильтры (диаметр пор 0,22 мкм, Владисарт), через которые фильтровали 20 мл воды на фильтровальной установке. Для определения общей численности в осадках готовили суспензию (1 мл ила в 100 мл безбактериальной воды), гомогенизировали на установке УЗДН UD-20 (Польша) 2 мин при частоте 22 кГц для отделения адсорбированных на частицах ила бактерий и фильтровали на фильтровальной установке. Фильтры окрашивали 5% раствором эритрозина, и проводили подсчет бактерий на световом микроскопе Axiostar Plus («ZEISS», Германия) в 20 полях зрения.

Численность жизнеспособных клеток микроорганизмов учитывали методом 10 кратных разведений на селективных средах (Кузнецов, Дубинина, 1989). Численность сапрофитных бактерий - подсчетом колоний, выросших в чашках Петри при глубинном посеве на среду РПА 1:10. Численность целлюлозоразлагающих бактерий определяли на среде Пфеннига (Pfenning, 1965) следующего состава (г/л дистиллированной воды): KH_2PO_4 - 0,33; NH_4Cl - 0,33; CaCl_2 - 0,33; MgCl_2 - 0,33; дрожжевой экстракт - 0,15; раствор микроэлементов по Липперту (Pfenning, Lippert, 1966) - 1 мл. В качестве субстрата использовали полоски фильтровальной бумаги, по разложению которых судили о наличии роста целлюлолитиков. Все посеы выполнены в 2-х повторностях. Инкубацию производили при комнатной температуре в течение 3 - 30 суток.

* Автор выражает глубокую благодарность к.б.н. В.Б. Дамбаеву за определение содержания стабильных изотопов углерода в осадках в ИБФМ им. Г.К. Скрыбина РАН

Морфологию бактерий изучали с помощью живых и окрашенных препаратов на микроскопе Axiostar Plus («ZEISS», Германия).

2.4. Методы определения скорости микробных процессов

Скорость процессов продукции и деструкции в воде определяли по методу Винберга, скорость аэробной и анаэробной деструкции в осадках – после инкубации в стеклянной колонке (Романенко, Кузнецов, 1974). Скорость разложения белка и целлюлозы оценена аппликационным методом по интенсивности разложения желатины фотобумаги и фильтровальной бумаги, соответственно (Гельцер, 1986).

Скорость микробных процессов определена радиоизотопным методом (Сорокин, 1975; Беляев, Иванов, 1975; Намсараев и др., 1995). Пробы воды отбирали в 25 мл пенициллиновые флаконы с резиновыми пробками, которые закатывали алюминиевыми крышками, осадков - в пластиковые шприцы, закрытые резиновыми пробками. В пробы вводили 0,1-0,2 мл раствора радиоактивно меченых $\text{Na}^{14}\text{HCO}_3$ (для определения процессов фотосинтеза, темновой фиксации CO_2 и метаногенеза) и $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ (для определения процесса сульфатредукции), инкубировали в течение 1-2 суток и фиксировали формалином. Процесс сульфатредукции дополнительно останавливали 10-25% раствором ацетата цинка. Обработку фиксированных проб производили по известным методикам (Вайнштейн, Лауринавичус, 1988; Гальченко, 2001). Радиоактивность меченых соединений измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике Rackbeta (LKB, Швеция).

Расчет интенсивности микробиологических процессов вели по формуле:

$$A = \frac{r * [C]}{R * t}, \quad \text{где}$$

A – интенсивность процесса;

C – концентрация субстрата;

r – радиоактивность продукта реакции;

R – радиоактивность введенного в пробу меченого субстрата;

t – время инкубации.

2.5. Выделение чистых культур сапрофитных бактерий

Из воды исследованных участков изолировали в чистую культуру численно доминировавшие при посеве природного образца на твердые питательные среды колонии. Посевы культивировали аэробно в течение 2 суток при комнатной температуре. Всего получено 14 чистых культур сапрофитных бактерий. Чистоту культур контролировали визуально и микроскопически. Способность культур использовать ряд углеводов, спиртов и других органических соединений определяли на среде Пфеннига с добавлением 0,5-1% субстрата.

2.6. Молекулярно-генетические методы

Работа по изучению генетического разнообразия микробного сообщества проводилась в соответствии с разработанными схемами (Белькова, Андреева, 2009).

2.6.1. Выделение ДНК из природных образцов и клеток культур

Образцы воды для выделения тотальной ДНК предварительно концентрировали фильтрованием через мембранные нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм (Владисарт, Россия). Фильтрование производили до тех пор, пока фильтр полностью не забьется бактериальным

материалом (70-150 мл воды). Выделение ДНК из осадков проводили как непосредственно из навески осадка, так и из суспензии осадка в трис-солевом буфере, отфильтрованной через мембранный нитроцеллюлозный фильтр.

Для выделения ДНК из чистых культур биомассу, полученную из колонии культуры, суспендировали в безбактериальной воде.

Выделение ДНК из воды и осадков производили 4 методами:

- 1) с помощью коммерческих наборов ДНК-сорб и РИБО-сорб (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва);
- 2) методом ферментативного лизиса;
- 3) методом модифицированной очистки с цетавлоном (Грачев и др., 2006);
- 4) с помощью коммерческого набора AxyPrep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen, США).

Выделение ДНК из суспензии чистых культур производили методом ферментативного лизиса.

Выделение ДНК с помощью сорбентов

Выделение ДНК проводили с помощью коммерческих наборов РИБО-сорб, ДНК-сорб А и ДНК-сорб Б по прилагаемой к наборам инструкции с небольшой модификацией. К фильтру или к навеске осадка объемом около 100 мкл добавляли 450 мкл лизирующего буфера, тщательно перемешивали. Надосадочную жидкость после центрифугирования переносили в новую пробирку и добавляли к ней 25 мкл сорбента. Суспензию тщательно суспендировали на вортексе и выдерживали при комнатной температуре 5 мин, периодически перемешивая. Центрифугировали 30 сек. при 12000 об/мин, надосадочную жидкость удаляли. Далее проводили серию отмывок в отмывочных буферах по инструкции. На последней стадии осадок ресуспендировали в 400 мкл буфера, центрифугировали 30 сек. при 12000 об/мин, надосадочную жидкость удаляли, а осадок подсушивали 30 мин. при 48°C. Нуклеиновые кислоты элюировали в 50 мкл безбактериальной стерильной воды. Для этого осадок тщательно суспендировали, прогревали в термостате 5 мин. при 60°C и центрифугировали 5 мин. при 12000 об./мин.

Надосадочную жидкость тщательно, без сорбента, отбирали в новую пробирку и использовали в качестве матрицы в полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Выделение ДНК методом ферментативного лизиса

ДНК экстрагировали по методу Мармура (Marmur, 1961), дальнейшую фенольную очистку ДНК проводили, как описано Маниатисом с соавторами (Маниатис и др., 1984). К 100 мкл пробы или к фильтру с осажденными бактериями добавляли 300 мкл трис-солевого буфера (ТСБ: 10 мМ трис-НСl, рН 8,0; 0,1 М NaCl, 2 мМ ЭДТА) с лизоцимом (10–20 мг/мл) до конечной концентрации лизоцима 1–10 мг/мл. Выдерживали 60 мин при 37°C. Затем добавляли 25 мкл протеиназы К (10 мг/мл) и инкубировали еще 15–30 мин. при 60°C. Добавили 10% SDS до конечной концентрации 1% SDS в растворе и выдержали 10 мин. при комнатной температуре. Белки и полисахариды экстрагировали фенолом и хлороформом. Для этого к водной фракции добавляли равный объем фенола, насыщенного трис-НСl (рН 8,0), суспензию взбалтывали 10–15 мин. и центрифугировали при 12000 об./мин. 10 мин. Для дальнейшей работы верхнюю водную фазу отбирали, не захватывая интерфазу, и далее экстрагировали равным объемом смеси фенол-хлороформ (1:1) и центрифугировали 10 мин. при 12000 об./мин. Затем водную фазу обрабатывали таким же образом равным объемом хлороформа. После экстракции макромолекул к водной фазе добавляли 1/10 объема 3М ацетата натрия (рН 5,0) и 2 объема абсолютного этанола. ДНК осаждали в течение ночи при –20°C, далее центрифугировали при 12000 об./мин. в течение 30 мин. Для удаления солей осадок промывали 400 мкл 70%-ного холодного этанола, еще раз центрифугировали. Надосадочную жидкость удаляли, осадок подсушивали на воздухе и растворяли в безбактериальной воде.

Выделение ДНК методом очистки с применением цетавлона (ЦТАБ)

Для выделения ДНК к 100 мкл пробы или к фильтру с осажденными бактериями в ТЕ буфере добавляли 100 мкл лизирующего буфера с ЦТАБ (10 мМ трис-НСl рН 8,0; 1,4 М NaCl; 20 мМ ЭДТА; 2% ЦТАБ),

гомогенизировали 10 мин. при 60°C, затем добавляли еще 150 мкл этого буфера и выдерживали 30 мин. при 60°C, периодически перемешивая. Смесь центрифугировали в течение 5 мин. при 12000 об./мин., надосадочную жидкость переносили в новую пробирку, а осадок промывали 100 мкл лизирующего буфера. Надосадочную жидкость объединяли и добавляли 5 мкл протеиназы К (10 мг/мл), смесь инкубировали 30 мин. при 60°C. Затем добавляли 1 мл 1% водного ЦТАБ, перемешивали и осаждали цетавлоновую соль нуклеиновых кислот с помощью замораживания-оттаивания. Осадок центрифугировали в течение 15 мин. при 12000 об./мин., дважды промывали 300 мкл 1% водного цетавлона. Надосадочную жидкость удаляли, а осадок подсушивали и экстрагировали этанолом (2 раза по 400 мкл) 10 мин. при 60°C, отделяя надосадочную жидкость центрифугированием в течение 30 мин. при 12000 об./мин.. К объединенному супернатанту добавляли 80 мкл 3М ацетата натрия (рН 5,0) и выдерживали ночь при температуре -20°C для осаждения нуклеиновых кислот. ДНК осаждали центрифугированием при 12000 об./мин. в течение 30 мин., промывали 70%-ным этанолом, подсушивали на воздухе и растворяли в ТЕ буфере (10 мМ трис-НСl рН 7,5; 1 мМ ЭДТА).

Выделение ДНК с помощью набора с колонками

Для работы использовали набор с колонками фирмы QIAGEN. Бактериальный осадок или смыв с фильтра суспендировали в 180 мкл ТСБ с лизоцимом (10 мг/мл). Суспензию инкубировали 30 мин. при 37°C. Добавляли 25 мкл протеиназы К (100 мг/мл) и далее всю обработку вели по протоколу: добавляли 200 мкл буфера AL (из набора). Реакционную смесь инкубировали 30 мин. при 70°C и 30 мин. при 95°C. После этого добавляли 210 мкл 96%-ного этанола, тщательно перемешивали, наносили на колонку и центрифугировали 1 мин. на настольной центрифуге при 12000 об./мин. Колонку дважды промывали буфером AW (из набора), центрифугировали 1 мин. при 12000 об./мин. Для полного удаления остатков спирта повторяли

центрифугирование в течение 3 мин. при 12000 об./мин. ДНК элюировали буфером АЕ (из набора). Для этого буфер предварительно прогревали при 70°C, наносили 200 мкл горячего буфера на колонку, выдерживали 1–5 мин. и центрифугировали 5 мин. при 12000 об./мин.

2.6.2. Полимеразная цепная реакция

Реакционная смесь для амплификации содержала: 10х буфер; 2,5 мМ MgCl₂; дезоксинуклеотидтрифосфаты 0,2 мМ каждый; 0,1 мМ соответствующих праймеров; 0,5 ед. активности Taq ДНК полимеразы.

В работе были использованы праймеры, комплементарные наиболее консервативным участкам гена 16S рРНК (табл. 1). Для амплификации на групп-специфичных праймерах использовали следующие пары праймеров: 344L-915R (ARCH), 500L-1350R (EUB), 106L-781R (CYA), 680L-1350R (BET), 681L-1350R (ADF), 319L-1350R (CF), 342L-1350R (BLS), 235L-1350R (ACT), 338L-930R (PLA).

Таблица 1

Праймеры, использованные в работе

Праймеры	Последовательность 5'-3'	Специфичность
344L	ACGGGGYGCAGCAGGCGCGA	Домен Archaea
915R	GTGCTCCCCCGCCAATTCCT	
27L	AGAGTTTGATCATGGCTCAG	Домен Bacteria
500L	CGTGCCAGCAGCCGCGGTAA	
1350R	GACGGGCGGTGTGTACAAG	
1542R	AAGGAGGTGATCCAGCCS	
106L	CGGACGGGTGAGTAACGCGTGA	Филум Cyanobacteria
781R	GACTACTGGGGTATCTAATCCCATT	
680L	CRCGTGTAGCAGTGA	Класс Betaproteobacteria
681L	CTGGCTCAGAYCGAACG	Класс Alphaproteobacteria
319L	GТАCTGAGACACGGACCA	Филум Bacteroidetes
342L	CAGCAGTAGGGAATCTTC	Филум Firmicutes
235L	CGCGGCCTATCAGCTTGTTG	Филум Actinobacteria
338L	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	Филум Planctomycetes
930R	CTCCACCGCTTGTGTGA	

Аmplификацию фрагмента ДНК, соответствующего гену 16S рРНК проводили на амплификаторе БИС (Новосибирск, Россия) в следующем режиме:

95°C – 3 мин (1 цикл)

95°C – 30 с, 52°C – 45 с, 72°C – 60 с (35 циклов)

72°C – 5 мин (1 цикл)

Аmplификацию на групп-специфичных праймерах проводили в следующем режиме:

94°C – 5 мин (1 цикл)

92°C – 45 с, 58°C – 45 с, 72°C – 45 с (35 циклов)

72°C – 5 мин (1 цикл)

Полученные продукты реакции анализировали электрофорезом в 1,5% агарозном геле. После окрашивания геля бромистым этидием полосы, соответствующие по размерам вставкам фрагмента гена 16S рРНК, вырезали и замораживали. Для элюции нуклеотидного материала таблетки геля центрифугировали, жидкость отбирали и использовали для секвенирования (ампликоны чистых культур) и клонирования (ампликоны природных образцов).

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (РВ-ПЦР) основана на детекции накопления продуктов амплификации по неспецифической флуоресценции красителя SybrGreen, способного селективно связываться только с двухцепочечной ДНК. С помощью этого метода измеряется количество амплифицированной ДНК в реальном времени после каждого цикла амплификации (Глик, 2002; VanGuilder, 2008). В процессе амплификации на групп-специфичных праймерах на амплификаторе-флуориметре «Амплиспект» (Россия) получены графики накопления специфических ампликонов, показывающие относительные доли анализируемых таксономических групп микроорганизмов в микробном сообществе.

2.6.3. Клонирование

Клонирование включало лигирование целевых ампликонов в плазмидный вектор с помощью набора GeneJET™ PCR Cloning Kit (Fermentas) и трансформацию компетентных клеток *Escherichia coli* (штамм DH-5L).

Лигирование ПЦР-продуктов с тупыми концами

Реакцию «затупления» концов ПЦР-продуктов, полученных с помощью Taq ДНК-полимеразы, проводили в лигазном буфере, добавляли 1–2 мкл очищенного ПЦР-продукта и 1 мкл фермента DNA-blinding. Смесь тщательно перемешивали, центрифугировали 3–5 сек. и инкубировали при температуре 70°C в течение 5 мин. Охлаждали во льду несколько секунд и ставили реакцию лигирования, добавляя 50 нг вектора pJET/blunt и 1 мкл T4 ДНК-лигазы. Реакционную смесь тщательно перемешивали, центрифугировали 3–5 сек. и инкубировали 30 мин при комнатной температуре. После этого смесь использовали для трансформации клеток *E.coli*.

Трансформация клеток *E. coli*

Для трансформации в каждую пробирку с компетентными клетками *E.coli* добавляли по 3 мкл лигазной смеси, тщательно перемешивали, выдерживали 30 мин. в ледяной бане и после этого проводили «тепловой шок»: пробирки инкубировали на водяной бане при 42°C 90 сек., после чего сразу же охлаждали во льду в течение 2 мин. и в каждую пробирку добавляли по 800 мкл среды SOC. Для восстановления клеточной стенки суспензию инкубировали 1 ч при 37°C. Для скрининга колоний клетки высевали на чашки Петри с твердой средой, содержащей 20 мкг/мл ампициллина. Чашки инкубируют ночь при 37°C.

Среда SOB (Sambrook et al., 1989)

1 г триптон

0,25 г дрожжевой экстракт

250 мкл 2М NaCl

62,5 мкл 2М KCl

Вода до 50 мл

Отдельно стерилизовали и добавляли в стерильных условиях:

0,5 мл 1М MgCl₂0,5 мл 1 М MgSO₄Среда SOC (Sambrook et al., 1989)

50 мл среды SOB

0,5 мл 20% глюкозы

Среда LB (Sambrook et al., 1989)

0,5 г дрожжевой экстракт

1 г триптон

1 г NaCl

1,5 г агар

Вода до 100 мл

Селективный отбор клонов со вставкой нужной длины основан на положительной селекции всех выросших клонов. Для быстрого скрининга большого числа колоний использован метод «кипячения» клеток. Для этого биомассу клеток отобранных колоний переносили в пробирки, содержащие 20 мкл 20 мМ трис-HCl (pH 7,5), суспензию клеток кипятили 5 мин., а затем замораживали при -20°C. Далее центрифугировали 15 мин., 12000 об./мин., лизат использовали в качестве матрицы в ПЦР на плазмидных праймерах.

Использовали плазмидные праймеры pJET 1.2 Forward (CGACTCACTATAGGGAGAGCGGC) и pJET 1.2 Reverse (AAGAACATCGATTTTCCATGGCAG).

Перед секвенированием проводили амплификацию клонов на плазмидных праймерах в следующем режиме:

94°C – 5 мин

94°C – 45 сек, 55°C – 45 сек, 72°C – 1 мин (30 циклов)

72°C – 5 мин

Секвенирование проводили в Межинститутском центре секвенирования ДНК (г. Новосибирск) на автоматических секвенаторах: ABI310A и ABI 3130xl (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer, США).

2.6.4. Филогенетический анализ

После секвенирования последовательности проверяли и корректировали с помощью программы Bioedit, поиск химерных структур вели с помощью пакета программ Pintail, сравнительный анализ - с помощью пакета программ FASTA (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/sss/fasta/>). Для выравнивания набора последовательностей использовали программу ClustalW, далее выровненные последовательности использовали для построения филогенетического дерева в программе MEGA ver.5.01.

2.6.5. Пиросеквенирование

Пиросеквенирование ампликонов проведено в Chunlab Inc. (Сеул, Южная Корея) на секвенаторе Roche/454 GS-FLX Titanium. Таксономическое разнообразие микробного сообщества оценивали с помощью программы CLcommunity(ver2.58).*

* Автор выражает глубокую благодарность к.б.н. Л.П. Козыревой за помощь в обработке данных и обсуждении результатов

2.7. Статистические методы исследования

Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами.

Массивы многомерных данных анализировали методом главных компонент PCA (Geladi, 1989; Эсбенсен, 2005; Gorban, Zinovyev, 2010). Данный метод наиболее полно характеризует и наглядно показывает весь спектр многомерных данных, полученных в ходе экологических исследований. В основе метода PCA лежит предположение, что каждый из измеренных параметров в каждом образце испытывает влияние множества независимых источников. Целью применения метода является расчет, скрининг и графическое отображение значительных массивов многомерных данных (Hubert, Engelen, 2004). PCA позволяет преобразовывать и визуализировать комплексные наборы данных, которыми описываются изучаемые объекты, в новое пространство главных компонент, в котором важность того или иного фактора становится очевидной.

Для анализа результатов методом главных компонент важны три составляющие: компонент счетов, компонент нагрузок и значение объясненной дисперсии. *Счета* – это проецирование на плоскость первых двух главных компонент (PC1 и PC2). Главной компонентой называется ось, проходящая через облако данных. Первая главная компонента (PC1) лежит в направлении максимального изменения исходных данных. Вторая главная компонента (PC2) будет ортогональна первой и будет лежать в направлении, вдоль которого происходит следующее по величине изменение значений переменных. Третья компонента – PC3 – должна быть перпендикулярна как PC1, так и PC2 и в тоже время лежать в направлении, в котором происходит третье по величине изменение данных и т.д. Близость точек на графике счетов свидетельствует об их схожести (положительной корреляции), точки, расположенные под прямым углом, являются некоррелированными, а

расположенные диаметрально противоположно - имеют отрицательную корреляцию. *Нагрузки* – это коэффициенты, связывающие исходные переменные и пространство главных компонент и определяющие вклад каждого параметра в главные компоненты. Нагрузки и счета определяются пошагово – первая компонента PC1 объясняет максимум изменений и имеет большее значение в объяснение состояния экосистемы, вторая компонента – оставшийся максимум и т.д. После преобразования большая часть вариации данных будет сосредоточена в первых координатах, что дает возможность анализировать пространство уменьшенной размерности. *Объясненная дисперсия* характеризует важность каждой компоненты, выражается в процентах или в долях единицы.

Все расчеты проведены с использованием пакета программ MathLabR 2010a и Excel 2003 для Windows.*

* Автор выражает глубокую благодарность к.б.н. С.В. Зайцевой за помощь в проведении расчетов и обсуждении результатов

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Характеристика исследуемых заливов

Район дельты реки Селенга является сейсмически наиболее активным районом Прибайкалья. Заливы Посольский Сор и Сор Черкалов являются морфологическими аналогами залива Провал. В таблице 2 представлены данные по морфометрии мелководных заливов озера Байкал.

Таблица 2

Морфометрическая характеристика мелководных заливов озера Байкал
(Лимнология..., 1977)

Залив	Площадь, км ²	Глубина, м		Впадают протоки и реки
		максимальная	средняя	
Провал	197	3,5	2	группа дельтовых проток реки Селенга
Посольский Сор	35	5	3	Большая Речка, Толбазиха, Абрамиха и Култушная
Сор Черкалов	20	2,5	1,5	группа дельтовых проток реки Селенга

Мелководье фоновых участков озера имеет более медленный и длительный характер прогрева, продолжающегося до конца июня – начала июля, в отличие от мелководных заливов. Мелководность заливов наоборот характеризуется быстрым прогреванием, обуславливая повышенный уровень продуктивности фитопланктона в сравнении с глубоководными участками, что косвенно влияет на общую характеристику экосистем (Россолимо, 1957).

3.1. Физико-химические показатели воды и осадков мелководных заливов озера Байкал

В период исследования температурные колебания воды в сорах находились в пределах 1,2-24,1^oC, в фоновых участках температурные значения были ниже и составляли 1,1-20,6^oC (табл. 1). Значения pH колебались от 5,8 до 8,9. Максимальные значения pH зафиксированы в воде

залива Провал, минимальные - в Боярске. Наиболее минерализованной была вода Сора Черкалов. Концентрация гидрокарбонатов больше в тех участках, где высока минерализация. Максимальное значение окислительно-восстановительного потенциала в осенний период определено в фоновых участках, достигая +280 мВ. Растворенный кислород в заливах присутствовал в концентрации 5,1-18,6 мг/л, показатель в фоновых участках был немного ниже. В целом, значения физико-химических показателей, в том числе анионно-катионного состава воды, не превышали средние для озера (Атлас Байкала, 1993), однако в отдельных образцах обнаруживалось увеличение значений показателей по сравнению с химическим составом водной толщи открытого Байкала.

Таблица 3

Физико-химическая характеристика воды мелководных заливов и фоновых участков озера Байкал

Место-положение	t, °С	pH	Минерализация, мг/л	O ₂ , мг/л	HCO ₃ ⁻ , мг/л
Залив Провал	<u>1,3-21,3</u> 12,1 ± 8,20	<u>7,6-8,9</u> 8,3 ± 0,4	<u>39,6-147,8</u> 117,3 ± 40,8	<u>6,4-18,2</u> 12,2 ± 4,5	<u>48,8-134,2</u> 92,7 ± 26,7
Залив Посольский Сор	<u>1,2-24,1</u> 15,1 ± 8,7	<u>6,3-8,3</u> 7,8 ± 0,6	<u>9,0-81,1</u> 58,2 ± 25,7	<u>5,1-18,6</u> 9,8 ± 4,2	<u>24,4-67,1</u> 46,9 ± 11,5
Залив Сор Черкалов	<u>5,1-22,0</u> 14,0 ± 11,9	<u>7,8-8,1</u> 7,9 ± 0,2	<u>135,1-162,2</u> 148,7 ± 19,1	<u>6,7-9,4</u> 8,1 ± 1,9	<u>103,7-115,9</u> 109,8 ± 8,6
Боярск, фон	<u>1,2-14,4</u> 16,0 ± 5,6	<u>5,8-8,5</u> 7,5 ± 0,8	<u>16,2-109,9</u> 65,9 ± 33,1	<u>8,0-11,8</u> 10,0 ± 1,1	<u>24,4-109,8</u> 66,0 ± 26,6
Энхалук, фон	<u>1,1-20,6</u> 10,3 ± 14,6	<u>7,7-8,8</u> 7,6 ± 0,1	<u>109,9-117,1</u> 113,5 ± 5,1	<u>7,0-9,0</u> 8,0 ± 1,4	<u>85,4-91,5</u> 88,5 ± 4,3

В числителе – минимальные и максимальные значения, в знаменателе – средние значения

Осадки в заливах были представлены илами и среднезернистыми песками, содержание $C_{\text{орг}}$ в которых составляло 0,03-7,32% и зависело от типа осадка (табл. 4). Максимальные и минимальные значения отмечены в осадках залива Провал, где происходит неравномерное распределение органического вещества, на которое оказывают влияние река Селенга, изменения рельефа дна и гранулометрического состава осадков. В песчаных осадках фоновых участков содержание $C_{\text{орг}}$ было ниже и составляло в среднем 0,22%. По значениям изотопного состава органического вещества (от -26,1‰ до 33,2‰) можно судить, что органическое вещество в сорах в основном синтезируется фитопланктоном и прибрежной растительностью. Известно, что в Байкале основным продуцентом органического вещества является фитопланктон, что справедливо и для мелководных заливов. Кроме этого, значительную роль в продукции заливов играет аллохтонное органическое вещество и вещество, продуцируемое прибрежной растительностью (Вотинцев и др., 1975), что согласуется с нашими данными.

Таблица 4

Физико-химическая характеристика осадков мелководных заливов и фоновых участков озера Байкал

Место-положение	Тип осадка	$C_{\text{орг}}$, %	$C_{\text{углеводов}}$, %	Белок, %	$^{13}\delta \text{C OB}$, ‰
Залив Провал	Заиленный песок, ил	<u>0,03-7,32</u> 1,20±2,04	-	-	-28,10±-4,30
Залив Посольский Сор	Мелко-зернистый песок	<u>0,27-0,98</u> 0,36±0,30	<u>0,01-0,70</u> 0,15±0,27	<u>0,024-0,044</u> 0,03±0,007	-31,57±-1,67
Залив Сор Черкалов	Заиленный песок	1,00	0,56	0,35	-
Боярск, фон	Крупно-зернистый песок	<u>0,1-0,2</u> 0,15±0,71	<u>0,001-0,020</u> 0,009±0,006	<u>0,0005-0,0530</u> 0,02±0,019	-33,19
Энхалук	Средне-зернистый песок	<u>0,24-0,34</u> 0,29±0,07	<u>0,011-0,015</u> 0,013±0,003	0,07	-

Прочерк – отсутствие данных

Физико-химические характеристики исследованных водоемов были проанализированы также в зависимости от времени года (табл. 5). Из таблицы можно увидеть подъем температуры во всех водоемах в июле, температурный пик составляет 19–22°C, только в Боярске наблюдается пониженная температура (12,9°C), что предположительно связано с наибольшей глубиной по сравнению с остальными территориями. Высокое значение рН в теплое время года, приходящееся на июль – август, связано с поглощением углекислоты фитопланктоном. При этом рН изменяется в соответствии с сезонными колебаниями свободной углекислоты. Водородный показатель был самым высоким в заливе Провал по сравнению с остальными участками и был равен 8. Величины общей минерализации и концентрации гидрокарбонатов были выше в заливах, таких как Провал, Сор Черкалов, а также в фоновом участке Энхалук, территориально расположенных рядом. В Посольском Соре и Боярске максимальные значения приходились на осень. На содержание растворенного кислорода в воде влияние оказывает также фитопланктон, а именно период его активного развития в теплый период. По сезонам выделяются весенний и осенний пики концентрации кислорода. Весенний максимум приурочен к подледному развитию водорослей в апреле - мае. Значения осеннего максимума выше весеннего и наблюдается, в основном, в сентябре - ноябре. Низкое содержание кислорода является следствием снижения его растворимости при повышении температуры и потребления кислорода в окислительных процессах, осуществляемых аэробными организмами. Нами не обнаружено значимых различий средних физико-химических показателей воды заливов от показателей воды фоновых участков, отобранных в прибрежной зоне. Только средняя температура отбора в заливах была выше, чем в фоновых участках. Мелководность обуславливает хорошее освещение, прогрев воды и донных осадков.

Физико-химические показатели воды в зависимости от времени года

Местоположение	месяц	T , °C	pH	мин-я, мг/л	O ₂ , мг/л	HCO ₃ ⁻ , мг/л
Залив Провал	апрель	1,7	8,26	37,0 66,7	12,89	80,32
	июнь	18,8	8,58	72,8 131,2	9,80	80,83
	июль	19,0	8,18	80,6 145,2	16,48	109,80
	август	16,6	8,08	75,0 135,1	9,35	100,70
	сентябрь	14,2	8,17	79,0 142,3	7,35	109,80
	ноябрь	0,3	8,44	78,0 140,5	12,50	79,30
Залив Посольский Сор	май	0,9	6,53	5,0 9,0	10,40	27,50
	июль	22,0	8,10	33,9 61,1	7,13	46,19
	сентябрь	13,6	7,99	43,0 77,5	18,28	54,90
	октябрь	6,6	7,73	43,5 78,4	10,25	61,00
Залив Сор Черкалов	июль	22,0	8,10	90,0 162,2	6,70	115,90
	октябрь	5,1	7,78	75,0 135,1	9,40	103,70
Фоновый участок Боярск	май	1,2	7,00	25,0 45,0	10,23	50,83

	июль	12,9	8,36	51,5 92,8	8,56	79,30
	сентябрь	14,0	8,40	61,0 109,9	11,80	109,80
	октябрь	7,7	7,70	44,0 79,3	9,95	76,25
Фоновый участок Энхалук	июль	20,6	7,54	65,0 117,1	7,00	91,50
	ноябрь	0,1	7,74	61,0 109,9	9,00	85,40

В исследуемых водоемах была также проведена работа по определению содержания органического углерода, углерода углеводов и белка в осадках (табл. 6). По данным параметрам в Соре Черкалов наблюдались наибольшие значения, минимальные были характерны для фоновых участков.

Таблица 6

Содержание органического вещества в осадках прибрежно – соровой зоны озера Байкал (средние значения)

Местоположение	Месяц	Тип осадка	$C_{орг}, \%$	$C_{углеводы}, \%$	Белок, %
Залив Посольский Сор	май	Мелкий заиленный песок	0,113	0,011	0,0252
		Мелкий песок	0,099	0,011	0,0258
	июнь	Песок	0,062	0,006	-
		Ил с лагуны	0,062	0,023	0,0394
	июль	Песок	0,200	0,016	0,0242
	октябрь	Средний песок	0,068	0,005	0,0291
		Мелкий песок,	0,115	0,013	0,0283
		Глина	0,690	0,702	0,0265
	май	Черный мелкий песок	0,615	0,540	0,0441

Залив Сор Черкалов	октябрь	Заиленный мелкий песок	5,762	0,555	0,3504
Открытый Байкал, Боярск	март	песок	0,092	0,0177	0,0530
	май	Мелкий песок, коса	0,080	0,020	0,0005
		Мелкий песок с черными вкраплениями	0,094	0,007	0,0236
		Крупный песок	0,097	0,020	0,0009
	июнь	Мелкий песок, дно черный песок	0,098	0,001	0,0356
	август	Крупный песок	0,147	0,002	-
		Мелкий песок	0,064	0,005	0,0335
		Песок с черным налетом	0,043	0,005	0,0036
	сентябрь	Крупный песок	0,018	0,006	0,0436
	октябрь	Средний песок	0,070	0,010	0,0196
		Мелкий песок	0,096	0,012	0,0014
	Открытый Байкал, Энхалук	июль	Желтый мелкий песок	0,041	0,0112
Желтый мелкий песок			0,03-4	0,015	-

«-» - не проведено

Изученные осадки были представлены илами и среднезернистыми песками. В осадках исследованных заливов содержание $S_{орг}$ составляло 0,27-1,81% и зависело от типа осадка. В осадках мелководных районов озера Байкал $S_{орг}$ распределен неравномерно, влияние оказывает Селенга, в связи с изменением рельефа дна и гранулометрического состава осадков. Содержание органического вещества напрямую зависит от синтезируемого фитопланктоном органического вещества в сорах и взвесей, привнесенных речными сносами Селенги (табл. 7). В сорах фитопланктон имеет активное

развитие по сравнению с фоновыми участками озера Байкал, даже зимой подо льдом мелководья процессы фотосинтеза, продукции и деструкции протекают активно, и происходит непрерывное образование органического вещества. Значительную роль играет аллохтонный растительный материал и прибрежные водоросли. Некоторое небольшое увеличение концентрации органического углерода связано с его присутствием, поступающим с речными водами. В целом, для Байкала первостепенное значение имеет автохтонное органическое вещество, продуцируемое фитопланктоном, в мелководных же заливах дельты Селенги превалирует аллохтонное, так как река Селенга является самым главным поставщиком взвешенных и растворенных в воде веществ. Органическое вещество далее подвергается деструкции и захоронению в осадках. Из таблицы видно, что содержание углерода органического находится в зависимости от расстояния от берега и от типа осадка.

Таблица 7

Содержание углерода органического в осадках мелководья озера Байкал

Дата отбора	Тип осадка	От берега, м	Содержание $C_{орг}$, %
Залив Провал			
апрель	песок	25	0,2083
	песок	70	0,4018
июнь	песок	25	0,3571
	мелкий заиленный песок	70	0,9598
июль	ил	25	1,4509
июль	песок	25	0,2827
	песок	70	0,3720
сентябрь	песок	25	0,3125
	мелкий песок+взвесь	70	5,8929
ноябрь	песок	25	0,2232
Залив Посольский Сор			
май	песок	70	0,3304
июль	мелкий заиленный песок	70	0,9821

июль	песок	70	0,4286
октябрь	песок	70	0,2589
Залив Сор Черкалов			
июль	мелкий заиленный песок	70	0,9970
Открытый Байкал, Боярск			
май	крупный песок	25	0,1696
	песок	70	0,2232
июль	крупный песок	70	0,0982
октябрь	крупный песок	25	0,1607
Открытый Байкал, Энхалук			
апрель	песок	70	0,2411
июль	песок	70	0,3393

Изотопный состав углерода органического вещества

Изотопный состав углерода органического вещества исследуемых донных осадков озера Байкал варьирует от – 31,84 до -26,13 ‰. Содержание органического вещества в мелководном прибрежном сору Провал составляет 1,30 ‰. Максимальное количество органического вещества характерно для глубоководных осадков (39,21 ‰ у мыса Толстый). В толще осадков к нижним горизонтам изотопный состав углерода утяжеляется, что свидетельствует о разложении, в первую очередь, более легкой фракции органического вещества.

В мелководных осадках сора Провал, Посольский Сор и Боярск значения $\delta^{13}\text{C}$ органического вещества -22,85 ... -33,19 ‰. Определенный вклад в синтез этого органического вещества вносят наземные растения прибрежной полосы и фитопланктон. В мелководных осадках сора Провал значения $\delta^{13}\text{C}$ органического вещества несколько различается и составляет -26,13 ‰ в пробе песка с наилком, отобранной осенью (содержание органического вещества 1,3‰). Определенный вклад в синтез этого органического вещества вносят наземные растения прибрежной полосы, $\delta^{13}\text{C}$ которых составляет приблизительно -27 ‰ (Кияшко и др., 1995). Это указывает на то, что органическое вещество осадка в основном синтезируется

водной растительностью.

Донные отложения оз. Байкал лишены уловимых количеств карбонатов и практически бескарбонатны (Князева, 1954). Это обусловлено тем, что степень насыщенности воды углекислым кальцием колеблется приблизительно от 30 % зимой до 38 % летом. Это исключает химическую осадку кальцита из воды и ведет к тому, что биогенно выделенный CaCO_3 в условиях Байкала оказывается неустойчивым и быстро распространяется. CO_2 в количестве 0,6 %, вероятно, принадлежит другим карбонатам, сидериту или родохрозиту. Изотопный состав органического вещества поверхностных слоев глубоководных осадков озера Байкал составляет от -31,20 ‰ до -33,30 ‰. Это указывает на участие в их образовании остатков биомассы фитопланктона.

Таблица 8

Изотопный состав углерода органического вещества в прибрежно-соровой зоне Байкала.

Станция	Дата отбора проб	Тип пробы	ОВ, % на 100 г минеральной части почвы	^{13}C ОВ, ‰
Мелководные заливы. Озеро Байкал				
Провал. Станция 3. 0,1 м	11.09.08	Мелкозернистый песок с черным наилком	2,36	-29,36
Провал. Станция 2. 0,7 м	13.08.09	ил	8,60	-31,06
Провал. Станция 3. 0,1 м	13.08.09	Мелкозернистый песок	5,75	-22,85
Провал. Станция 3. 0,1 м	13.08.09	Песок+взвесь	26,41	-32,66
Посольский Сор. Станция 2. 0,7 м	13.07.09	Песок	1,70	-32,71
Посольский Сор. Станция 3. 0,1 м	13.07.09	Песок	6,80	-31,33
Посольский Сор. Станция 3. 0,1 м	13.07.09	Песок с черным наилком	4,65	-32,94
Посольский Сор.	17.09.08	Крупнозернистый	1,83	-29,31

Станция 3. 0,1 м		песок		
Боярск. Станция 2. 0,1 м	17.09.08	Крупнозернистый песок	2,55	-33,19

Таким образом, проведенные исследования показали, что органическое вещество донных осадков озера Байкал в основном наследует изотопный состав фитопланктона. В прибрежной части озера в составе органического вещества определенный вклад вносят наземные C_3 – растения.

Химический состав воды прибрежно-соровой зоны Байкала (2010 г)

Дата отбора	Местоположение	От берега, м	Глубина, м	сухой остаток, мг/л	прокаленный остаток, мг/л	Ca ⁺⁺ , мг/л	Mg ⁺⁺ , мг/л	K ⁺ , мг/л	Na ⁺ , мг/л	SO ₄ ⁻ , мг/л
14.04.	Залив Провал	70	1,25	165	132	34	6	1,5	8,5	3,6
05.07.		0	0,2	155	110	12	3,6	0,75	3	0,6
07.05.	Залив Посольский Сор	70	0,5	27	20	6	2,4	-	0,8	-
04.07.		0	0,2	121	67	10	3,6	0,75	2	0,6
20.10.		0	0,2	149	95	12	4,8	0,75	3	0,8
04.07.	Залив Сор Черкалов	0	0,2	289	91	26	8,4	1,5	7	3
20.10.		0	0,2	275	118	30	6	1,5	8,5	1,8
07.05.	Открытый Байкал, Боярск	70	2,4	29	24	6	2,4	0,8	1,3	0
04.07.		0	0,2	194	72	20	2,4	0,75	4	1,2
20.10.		0	0,2	169	52	16	3,6	0,75	4	7,2
05.07.	Открытый Байкал, Энхалук	0	0,2	193	93	20	4,8	1,5	5	2,1

Химический состав воды прибрежно-соровой зоны Байкала (2011 г)

Дата отбора	Местоположение	сухой остаток, мг/л	прокаленный остаток, мг/л	Ca ⁺⁺ , мг/л	Mg ⁺⁺ , мг/л	K ⁺ , мг/л	Na ⁺ , мг/л	SO ₄ ⁻ , мг/л	Cl ⁻
Март	Залив Посольский Сор	205	86,0	22,0	3,6	1,5	6,7	0,9	21,69
Март	Открытый Байкал, Боярск	197	106	20,0	4,8	1,5	6,2	1,2	19,28
Ноябрь	Залив Посольский Сор	166	91,0	18,0	4,8	0,8	4,5	1,5	7,23
Ноябрь	Открытый Байкал, Боярск	145	75,0	18,0	4,8	0,8	5,0	0,75	7,23

Химический состав осадков прибрежно-соровой зоны Байкала (2008 - 2010 г)

Дата	Местоположение	От берега, м	Глубина, м	pH	N,% общ	Ca ⁺⁺ , мг/экв/100г	Mg ⁺⁺ , мг/экв/100г	P ₂ O ₅ мг/100г	K ₂ O мг/100г	C,%
11.09.2008	Залив Провал	25	0,7	7,3	0,009	9	3	0,9	2,4	0,07
30.04.2009		0	0,2	7,4	0,01	16,66	12,12	2,4	2,4	0,12
13.08.2009		0	0,2	7,4	0,19	11,11	7,41	3,1	1,2	-
13.07.2009	Залив Посольский Сор	0	0,2	7,2	0,04	8,82	5,88	2,4	1,2	-
07.05.2010		0	0,2	7	0,007	12	1	0,9	2,4	0,09
20.10.2010		0	0,2	7,2	0,01	10	3,75	0,7	2,4	0,14
20.10.2010	Залив Сор Черкалов	0	0,2	6,9	0,03	12,5	8,75	1,3	2,4	0,34
13.07.2009	Открытый Байкал, Боярск	0	0,2	7,3	0,03	6	4	1,8	1,2	-
07.05.2010		0	0,2	8,2	0,03	0	0	5,3	9,6	0,24
20.10.2010		0	0,2	7,2	0,008	8,75	3,75	0,7	2,4	0,06
05.07.2010	Открытый Байкал, Энхалук	0	0,2	7,4	0,002	20	10	0,7	2,4	0,03
14.04.2010		0	0,2	7,5	0,02	25	7,5	0,7	2,4	0,17

Химический состав осадков прибрежно-соровой зоны Байкала (2011 г)

Дата отбора	Местоположение	pH водный	N,% общ	Ca ⁺⁺ , мг/экв/100г	Mg ⁺⁺ , мг/экв/100г	P ₂ O ₅ мг/100г	K ₂ O мг/100г	C,%
Октябрь	Залив Провал	7,0	0,085	9,0	7,0	3,0	3,0	4,34
Октябрь	Открытый Байкал, Энхалук	6,7	0,001	11,0	7,0	2,5	0,6	0,03
Ноябрь	Залив Посольский Сор	6,8	0,002	12,0	8,8	4,0	1,5	0,09
Ноябрь	Открытый Байкал, Боярск	6,8	0,013	8,0	4,8	7,0	1,5	0,08

3.2. Численность микроорганизмов в воде и осадках мелководных заливов и фоновых участков озера Байкал

Общая численность микроорганизмов является одной из важных характеристик в экологии микробных сообществ, с помощью которой можно получить сравнительный анализ распространения бактерий в воде и различных типах осадков изучаемых объектов. Подсчет микроорганизмов необходим в определении их биомассы и участия в продуцировании живого вещества. Так, например, различные условия осадконакопления имеют влияние на общую численность микроорганизмов. Наибольшая активность микроорганизмов наблюдается в местах поступления и концентрации органического вещества – в поверхностных слоях осадков и прибрежных районах, особенно приустьевых участков рек (Намсараев, Земская, 2000).

Общая численность микроорганизмов (ОЧМ) была стабильной – в воде достигала до 2,6 млн кл/мл, в осадках – 0,74 млрд кл/мл. Колебания численности сапрофитных бактерий были более значительными – 0,4-1,9 млн кл/мл в воде, 0,06-3,3 млн кл/мл в осадках. Численность целлюлозоразлагающих бактерий в основном не превышала 55 тыс. кл/мл и 1 тыс. кл/мл соответственно. В заливах количество сапрофитов в воде и в осадках было одного порядка, хотя ОЧМ в воде на 2 порядка меньше, чем в осадках. Выявлена значительная доля сапрофитных бактерий в воде (около 10% - для сравнения в осадках около 0,1%), обусловленная наличием легкоусвояемого органического вещества, которое не успевает захорониться в осадках и в большей степени используется водными микроорганизмами.

Общая численность микроорганизмов в воде заливов и фоновых участков прибрежья Байкала была сопоставима – 2-2,6 млн кл/мл, но заливы характеризовались повышенной численностью. Такая же закономерность наблюдалась для значений численности сапрофитных и целлюлозоразлагающих бактерий. Численность сапрофитов в заливах достигала 1,9 млн кл/мл при значении 1,6 млн кл/мл фоновых участков.

Численность целлюлолитиков мелководья составляла 0,4-1,6 тыс. кл/мл, в контроле 0,10-0,21 тыс. кл/мл. Максимальные значения сапрофитов и целлюлолитиков определены для залива Сор Черкалов при самой низкой ОЧМ в целом.

Таблица 13

Средние значения численности бактерий в прибрежной воде соров озера Байкал и контрольных участках открытого Байкала

Место отбора	Общая численность бактерий, млн. кл/мл	Численность сапрофитных бактерий, млн. кл/мл	Численность целлюлозоразлагающих бактерий, тыс. кл/мл
Залив Провал	2,61	1,84	0,19
Залив Посольский сор	2,28	1,73	15,62
Залив Сор Черкалов	2,00	1,90	55,05
Боярск, фон	2,20	1,59	0,21
Энхалук, фон	2,05	0,39	0,10

В заливах численность бактерий в течение годового цикла зависит от процессов биотического и абиотического характера, из которых наиболее важными являются содержание органического вещества, степень развития фитопланктона и температура воды (Вотинцев, 1975). Численность бактерий также зависит от аллохтонного органического вещества, поступающего с отмирающей водной растительностью, с речными выносами, береговым стоком.

По сравнению с участками открытого Байкала в осадках заливов численность бактерий повышена. Колебания численности бактерий в мелководных и фоновых участках были более значительными, так же, как и колебания содержания органического вещества в осадках, что объясняется разнообразием грунтов и неравномерностью поступления $S_{орг}$ в осадки, что

уже отмечалось ранее (Максимова и др., 1991). В ряду осадков «песок - заиленный песок – ил» содержание органического углерода, общая численность бактерий и численность сапрофитных бактерий увеличивались. Например, рассмотрим залив Провал, где общая численность микроорганизмов в среднезернистом песке составляет 0,51 млрд. кл/мл. (численность сапрофитов 1,83 млн. кл/мл), в заиленном песке - 0,69 млрд. кл/мл. (2,67 млн. кл/мл), темно-серый ил характеризуется численностью в 1 млрд. кл/мл при значении 3,40 млн. кл/мл сапрофитных бактерий. Повышение численности происходит за счет увеличения содержания углерода органического в различных типах осадков (от 0,28% в песке до 1,81% в пробах ила). Самые высокие показатели были характерны для залива Сор Черкалов, также сор отличается высоким содержанием целлюлозоразлагающих бактерий.

Таблица 14

Средние значения численности бактерий в прибрежных осадках сорозера Байкал и контрольных участках открытого Байкала

Место отбора	$C_{орг}, \%$	Общая численность бактерий, млрд. кл/мл	Численность сапрофитных бактерий, млн. кл/мл	Численность целлюлозоразлагающих бактерий, тыс. кл/мл
Залив Провал	0,91	0,74	2,63	0,24
Залив Посольский сор	0,35	0,49	2,01	0,01
Залив Сор Черкалов	1,0	0,57	3,34	1,00
Боярск, фон	0,19	0,005	0,06	0,01
Энхалук, фон	0,29	0,02	1,04	0,01

В исследованных водоемах постоянным и закономерным компонентом микробного звена являются сапрофитные бактерии (табл.41). Выявленная высокая численность сапрофитных бактерий в воде и осадках характеризует преобладание легкоокисляемого органического вещества на изучаемых

станциях. При переходе от песков к заиленным пескам и илам, как правило, как и содержание органического вещества, увеличивается и численность сапрофитных бактерий. Наибольшие значения общей численности бактерий и сапрофитов обнаружено в темно-сером иле залива Провал. Количество сапрофитов в Чивыркуйском заливе больше, чем в открытом Байкале, но меньше, чем в мелководных заливах. Таким образом, численность бактерий в воде и осадках мелководных заливов озера выше, чем в открытом Байкале. Доля сапрофитных бактерий в сорах также выше, особенно в воде, составляя до 72,2%, в среднем, от общего числа бактерий. Большой процент сапрофитных бактерий в воде заливов связан с высокой скоростью разложения легкоокисляемого органического вещества, которое не успевает захорониться в осадках, и в большей степени используется водными микроорганизмами.

Таблица 15

Численность сапрофитных бактерий от ОЧМ в прибрежно-соровой зоне озера Байкал (средние значения)

Тип пробы	С орг, %	Общая численность бактерий, млн. кл/мл	Численность сапрофитов	
			млн. кл/мл	%
Залив Провал				
Вода	-	2,6	1,84	69,2
Среднезернистый песок	0,28	511,4	1,83	0,36
Заиленный песок	0,65	688,2	2,67	0,39
Темно-серый ил	1,81	1007,1	3,40	0,34
Залив Посольский Сор				
Вода	-	2,3	1,73	75,2
Среднезернистый песок	0,27	492,7	2,01	0,41
Чивыркуйский залив				
Вода	-	0,8	0,4	50
Заиленный песок	0,73	331,4	0,2	0,06
Темно-коричневый ил	3,11	427,8	0,8	0,19

Открытый Байкал				
Вода*	-	0,7	0,19	27,1
Крупнозернистый песок	0,19	5,1	0,06	1,2
Глубоководный ил	1,3	79	0,6	0,76

* Максимова Э.А., Максимов В.Н., 1989

Численность целлюлозоразлагающих бактерий была низкой. Их развитие, возможно, подавляется большим количеством сапрофитов и преобладанием легкоразлагаемых субстратов. Только в осадках Сора Черкалов численность аэробных групп целлюлолитиков составляла 1000 кл/мл, для проб Посольского Сора и фоновых участков - 100 кл/мл. Высокие количества сапрофитных и низкие – целлюлозоразлагающих микроорганизмов указывают на преобладание легкоусвояемой части органического вещества.

Наиболее подвержен антропогенному воздействию залив Посольский Сор, о чем свидетельствует выявление бактерий группы кишечной палочки в воде. Весной численность БГКП в заливе Посольский Сор составляет 173 кл/мл. В фоновом участке Боярск по глубине распределение БГКП происходит следующим образом: на поверхности наблюдается наибольшее количество бактерий 115 клеток/мл; на глубине 4 метра насчитывается 54 кл/мл; В придонном слое на глубине 6 и 8 метров количество бактерий составляет 30 и 63 кл/мл соответственно.

3.3. Сравнительный анализ глубоководных и мелководных осадков озера Байкал

В 2008-2009 гг. была осуществлена уникальная экспедиция – погружение глубоководных обитаемых аппаратов (ГОО) «Мир» в байкальские глубины. Применение ГОО дало возможность точного точечного отбора проб донных отложений в рамках исследования озера Байкал по программе научно-исследовательских экспедиций «МИРЫ на Байкале 2008» на глубоководном обитаемом аппарате «МИР-2» в районе

мыса Ухан и мыса Шунтэй (район острова Ольхон).

Район исследования включает помимо заливов и фоновых участков остров Ольхон (Средний Байкал). Различные условия осадконакопления имеют влияние на общую численность микроорганизмов. На величину микробного числа оказывает влияние концентрация органического вещества. Максимальная активность микроорганизмов наблюдается в верхних горизонтах донных осадков, куда поступает осадочный материал, в состав которого входят различные органические и неорганические вещества. Так, в пробах глубоководных осадков наблюдается снижение численности от поверхностных к нижним горизонтам, по сравнению с приустьевыми осадками, в которых прослеживается неравномерное распределение $C_{\text{орг}}$ (Намсараев, Земская, 2000). Количество органического вещества в донных осадках острова Ольхон варьирует от 1,24% до 1,60 % $C_{\text{орг}}$, в среднем 1,36%. В осадках мелководных заливов $C_{\text{орг}}$ составляет от 0,03-0,86 % $C_{\text{орг}}$, в среднем по Провалу 0,40 % $C_{\text{орг}}$, по Посольскому Сорю 0,27% $C_{\text{орг}}$.

Как правило, общая численность микроорганизмов зависит от типа осадка. Наиболее насыщены микроорганизмами поверхностные окисленные слои (коричневый ил). Общая численность микроорганизмов (ОЧМ) в донных осадках озера Байкал составляет 0,4-1,9 млрд. кл/мл. Наибольшее количество бактерий выявлено в глубоководных осадках мыса Ухан, где в поверхностных слоях (коричневый ил) встречается до 1,7 млрд. кл/мл. Наиболее низким содержанием бактерий характеризуются донные осадки мыса Шунтэй (светло-коричневый ил), достигающие, в среднем, до 6,7 млн. кл/мл.

Численность бактерий в глубоководных осадках озера Байкал

Район исследования	Горизонт	Тип осадка	ОЧМ, млн. кл/мл	Сапрофиты, млн. кл/мл
Мыс Ухан, остров Ольхон, глубина 1553 м	0-3	Жидкий коричневый ил	1719,0	6,33
	3-6	Коричневый ил	1901,2	10,12
	6-9	Серый ил	888,0	2,56
	9-13	Серый ил	826,9	2,97
	13-18	Серый ил	763,2	4,45
«, гл. 1460 м	0-1	Коричневый ил	1.177,2	5,37
	1-4	Серый ил	946,9	9,23
	4-6	Темно-серый ил	922,4	8,23
«, гл. 1213 м	0-5	Коричневый ил	501,5	4,42
	5-10	Коричневый ил	1.003,5	4,60
	10-15	Коричневый ил	1.560,3	2,16
«, гл. 1437 м	0-3	Коричневая корка, затвердевшая	425,0	15,5
Мыс Шунтэй Правый, о. Ольхон, гл. 1064	0-3	Светло-коричневый ил	997,4	10,30
	3-8	Светло-коричневый ил	670,8	9,15
	8-12	Светло-коричневый ил	598,5	8,32
	12-15	Светло-коричневый ил	697,5	8,08
	15-19	Светло-коричневый ил	662,2	7,14

В свою очередь, сапрофитные бактерии, деструкторы легкоусвояемого органического вещества, достигали максимальных значений в поверхностных горизонтах, как и общая численность бактерий, и составляли 2,2 - 10,3 млн. кл/мл. Наибольшее их количество обнаружено в донных осадках мыса Ухан на глубине 1553 метра. Одним из факторов, влияющих на развитие сапрофитов, является автохтонное органическое вещество, продуцируемое водорослями. Максимальная активность микроорганизмов наблюдается в верхних горизонтах донных осадков, куда поступает осадочный материал, в состав которого входят различные органические и неорганические вещества (рис. 2).

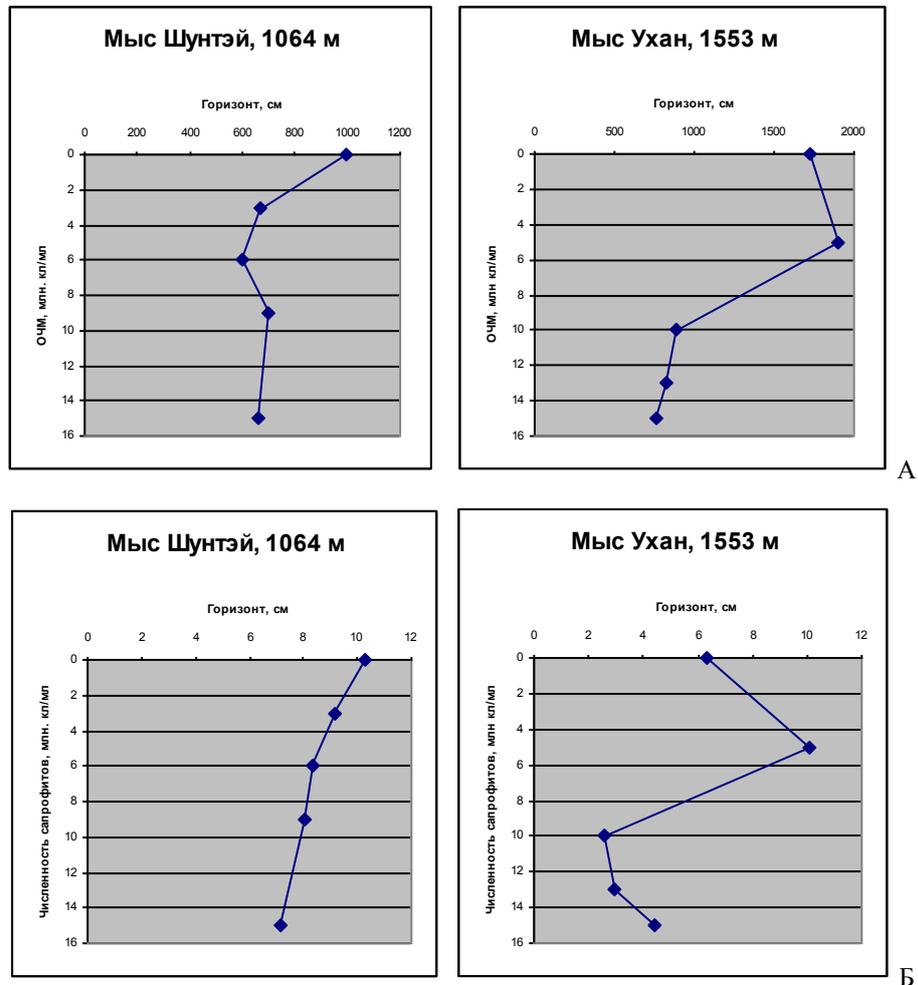


Рис. 2. А - Общая численность бактерий в глубоководных осадках

Б - Численность сапрофитных бактерий в глубоководных осадках

По проведенному анализу можно судить о роли органического

вещества ($C_{\text{орг}}$) в донных осадках, от количественного содержания которого зависит общая численность микроорганизмов и численность сапрофитных бактерий в изученных горизонтах глубоководных осадков и поверхностных прибрежных грунтах озера Байкал. Численность микроорганизмов осадков в глубоководных зонах вдвое превышала таковую в мелководных зонах. Обнаружено высокое количество сапрофитов в глубоководных осадках. Соответственно, в глубоководных осадках (табл. 17) при содержании $C_{\text{орг}}$ 1,36% общая численность бактерий составила 999,5 млн. клеток/мл, численность сапрофитов достигала до 6,8 млн.клеток/мл. $C_{\text{орг}}$ 0,34% характеризовался общей численностью бактерий в 505,2 млн. клеток/мл, количество сапрофитов составляло 1,9 млн. клеток/мл.

Таблица 17

Средние значения численности бактерий в осадках озера Байкал

Осадки	$C_{\text{орг}}$, %	ОЧМ, млрд. кл/мл	Сапрофитные бактерии, млн. кл/мл
Глубоководные	1,36	0,99	6,77
Мелководные	0,34	0,51	1,91

Так, при сравнении микробиологических показателей в глубоководных и мелководных участках видно, что ОЧМ и численность сапрофитных бактерий в глубоководных были больше (при среднем содержании $C_{\text{орг}}$ 1,36%), чем в мелководных (при среднем содержании $C_{\text{орг}}$ 0,34%). Удельный вес бактерий, разрушающих легкоусвояемые углеводы, в глубинных осадках было больше. Таким образом, численность бактерий в изученных осадках зависит от содержания $C_{\text{орг}}$. Выявление численности бактерий по горизонтам донных отложений имеет значение в получении информации о функционировании экосистемы водоема в целом. Основным материалом иловых отложений глубоководных зон озера Байкал являются остатки

диатомовых водорослей. В приустьевых же зонах большую часть осадочного материала составляют взвешенные частицы речного стока. Формирование органического вещества в центральном глубоководном районе происходит за счет участия планктона. В отличие от мелководного приустьевого района, где большое значение имеет аллохтонный растительный материал.

3.4. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества в исследованных водоемах

Определены средние показатели численности и величин деструкции органического вещества в осадках (табл. 18).

Таблица 18

Численность бактерий и деструкция органического вещества в исследованных участках

Место отбора	$C_{орг}, \%$	Общая численность бактерий, млн. кл/мл	Численность сапрофитных бактерий, млн. кл/мл	Численность целлюлозоразлагающих бактерий, кл/мл	Деструкция аэробная, мг С/м ² в сут	Деструкция анаэробная, мг С/м ² в сут
Залив Провал	0,91	735,6	2,63	10	62,1	61,9
Залив Посольский сор	0,35	492,7	2,01	10	78,7	52,2
Залив Истоминский Сор	1,0	572,7	3,34	1000	182,7	165,3
Боярск, фон	0,19	5,1	0,06	10	146,8	97,9
Энхалук, фон	0,29	20,5	1,04	10	-	-

Продукция и деструкция в прибрежной воде заливов были одного порядка. В заливе Провал продукция в воде колебалась от 0,013 до 0,21 мг С/л в сут, деструкция – от 0,013 до 0,15 мг С/л в сут. Максимальные значения измерены летом, в июле. Интенсификация обоих процессов была отмечена также в сентябре. Значения аэробной и анаэробной деструкции в осадках

также были сопоставимы – аэробная деструкция протекала со скоростью 9,0-644 мг С/м² в сут, анаэробная деструкция - со скоростью 29-113 мг С/м² в сут. Максимальные значения зарегистрированы в августе. В заливе Посольский Сор средние значения продукции и деструкции были меньше, чем в Провале. Максимальные значения процессов в воде были отмечены в сентябре (0,16 мг С/л в сут и 0,15 мг С/л в сут). Аэробная деструкция в осадках протекала со скоростью 21,3-63,4 мг С/м² в сут, анаэробная деструкция - со скоростью 10,5-52,0 мг С/м² в сут, достигая своих максимумов также в сентябре.

Таким образом, в воде величины продукции и деструкции были соизмеримы, наибольшие значения были отмечены в ранне-осенний период. Величины этих процессов были сопоставимы с измеренными в прибрежье фоновой станции. В осадках деструкция протекала как в аэробных, так и в анаэробных условиях, аэробная деструкция в большинстве измерений превалировала. Полученные данные позволяют говорить о том, что процессы продукции и деструкции в прибрежье заливов сбалансированы и связаны с условиями окружающей среды.

Таблица 19

Продукция и деструкция в мелководных заливах и фоновых участках
озера Байкал

Месяц	Продукция в воде, мг С/л в сутки	Деструкция в воде, мг С/л в сутки
Залив Провал		
июль	<u>0,06-0,17</u> 0,11±0,05	<u>0,02-0,15</u> 0,07±0,07
сентябрь	<u>0,05-0,12</u> 0,09±0,05	<u>0,03-0,12</u> 0,08±0,06
июнь	<u>0,01-0,02</u> 0,02±0,004	<u>0,02-0,05</u> 0,03±0,01
август	0,02	<u>0,03-0,04</u> 0,03±0,005
ноябрь	0	0,10
апрель	<u>0-0,02</u> 0,01±0,01	<u>0,003-0,09</u> 0,05±0,04
Залив Посольский Сор		
сентябрь	<u>0,05-0,13</u>	<u>0,02-0,12</u>

	0,09±0,06	0,07±0,08
июль	<u>0-0,009</u> 0,006±0,04	<u>0,002-0,03</u> 0,01±0,01
октябрь	0,05	0,07
май	0,006	<u>0,06-0,09</u> 0,08±0,02
Залив Сор Черкалов		
июль	0,07	0,08
октябрь	0,07	0,07
Боярск, фон		
сентябрь	0,003	0,02
июль	0,06	0,07
октябрь	0,03	0,06
май	<u>0,003-0,02</u> 0,01±0,008	<u>0,04-0,08</u> 0,06±0,1
Энхалук, фон		
ноябрь	0,01	0,008
июль	0,07	0,07

Таким образом, в воде изученных заливов величины процессов продукции и деструкции были соизмеримы, наибольшие значения были отмечены в ранне-осенний период. В осадках деструкция протекала как в аэробных, так и в анаэробных условиях, аэробная деструкция в большинстве измерений превалировала. Полученные данные позволяют говорить о том, что процессы продукции и деструкции в прибрежье заливов сбалансированы и зависят от условий окружающей среды.

Продукция и деструкция в прибрежной воде были одного порядка - продукция в воде колебалась от 0,06 до 0,21 мг С/л в сут, деструкция – от 0,02 до 0,19 мг С/л в сут. Наибольшая величина продукции была отмечена летом, во время цветения на глубине 10 см, при самой низкой величине деструкции. Величины деструкции были сопоставимы с определенными ранее значениями для глубоководного Баргузинского залива озера Байкал (Дагурова и др., 2000). Значения аэробной и анаэробной деструкции в осадках также были сопоставимы – аэробная деструкция в изученных осадках протекала со скоростью 9,0-51,8 мг С/м² в сут, анаэробная деструкция - со скоростью 29,0-49,2 мг С/м² в сут. Полученные данные

свидетельствуют о наличии как аэробных, так и анаэробных процессов деструкции в осадках мелководных заливов озера Байкал, что определяется условиями окружающей среды. Продукция и деструкция в воде были одного порядка - продукция в воде колебалась от 0,058 до 0,209 мг С/л в сут, деструкция – от 0,022 до 0,194 мг С/л в сут. Наибольшая величина продукции была отмечена во время цветения в Провале на ст. 2 на глубине 10 см, при самой низкой величине деструкции (таблица 19). Величины деструкции были сопоставимы с определенными ранее значениями для глубоководного Баргузинского залива озера Байкал (Дагурова и др., 2000).

Значения аэробной и анаэробной деструкции в осадках также были сопоставимы – аэробная деструкция в изученных осадках протекала со скоростью 8,99-63,36 мг С/м² в сут, анаэробной деструкции - 10,52-67,7 мг С/м² в сут. На станции ПС1 в заливе Посольский Сор зафиксированы наибольшие значения аэробной и наименьшие - анаэробной деструкции. Напротив, в глубоководных восстановленных осадках озера значения анаэробной деструкции на порядок превышали значения аэробной деструкции (Штевнева, Судакова, 1986). Полученные данные свидетельствуют о наличии как аэробных, так и анаэробных процессов деструкции в осадках мелководных заливов озера Байкал, что определяется условиями окружающей среды. Аэробная деструкция в изученных осадках протекала со скоростью 9,0-63,4 мг С/м² в сут, анаэробная деструкция - со скоростью 10,5-67,7 мг С/м² в сут.

Продукция и деструкция в прибрежной воде были одного порядка - продукция в воде колебалась от 0,06 до 0,21 мг С/л в сут, деструкция – от 0,02 до 0,19 мг С/л в сут. Наибольшая величина продукции была отмечена летом, во время цветения на глубине 10 см, при самой низкой величине деструкции (табл. 20).

Продукция и деструкция в воде и донных отложениях залива Провал

Станция, глубина воды	Продукция в воде, мг С/л в сутки	Деструкция в воде, мг С/л в сутки	Аэробная деструкция в осадках, мг С/м ² в сутки	Анаэробная деструкция в осадках, мг С/м ² в сутки
Июль				
Ст. 1 (0,5 м)	0,08	0,06	-	-
Ст.1 (1 м)	0,12	0,19	-	-
Ст. 2 (10см, цветение)	0,21	0,02	8,99(песок) 32,3(ил)	40,97(песок) 49,2(ил)
Сентябрь				
П ₁ (0,5 м)	0,06	0,15	45,97	67,77
П ₂ (0,5 м)	0,15	0,04	51,84	29,03

Значения аэробной и анаэробной деструкции в осадках также были сопоставимы – аэробная деструкция в изученных осадках протекала со скоростью 9,0-51,8 мг С/м² в сут, анаэробная деструкция - со скоростью 29,0-49,2 мг С/м² в сут. Полученные данные свидетельствуют о наличии как аэробных, так и анаэробных процессов деструкции в осадках мелководных заливов озера Байкал, что определяется условиями окружающей среды. Наибольшие показатели продукции выявлены в прибрежье – месте концентрации остатков наземной растительности. Так, в июле на станции 3 этот показатель был равен 0,011 мг С/дм³ в сутки, на станции 1 - 0,008 мг С/дм³ в сутки, и был одинаков на изученных горизонтах водной толщи. Следует отметить, что продукция доминировала над деструкцией в поверхностных горизонтах, до глубины 1 м. Наибольшая величина продукции и деструкции была отмечена в осенний период. Летом же эти параметры характеризовались меньшими значениями. В придонной воде значения деструкции увеличиваются. В урете воды продукция и деструкция протекают с одинаковой скоростью. На фоновой станции величины этих процессов были сопоставимы с таковыми в Посольском Соре (табл.21).

Таблица 21

Продукция и деструкция в воде залива Посольский Сор в сравнении с фоновым участком озера Байкал

Станция, глубина воды	Дата отбора	Продукция в воде, мг С/дм ³ в сутки	Деструкция в воде, мг С/дм ³ в сутки
Станция 1 (глубина 1,5 м)			
0 м	июль	0,008	0,002
	сентябрь	0,166	0,029
0,5 м	июль	0,008	0,006
	сентябрь	0,058	0,151
1 м	июль	0	0,033
1,5 м	июль	0,008	0,020
Станция 2 (глубина 0,5 м)			
0 м	июль	0,011	0,035
Станция 3 (глубина 0,1 м)			
0 м	июль	0,011	0,011
Боярск			
0,1 м	июль	0,004	0,020
	сентябрь	0,024	0,016

В осадках Посольского Сора деструкция в основном протекает в аэробных условиях. Напротив, в глубоководных осадках озера Байкал величины анаэробной деструкции озера Байкал на порядок превышают значения аэробной деструкции (Максимова, Максимов, 1989). Так, на станции 3 аэробная деструкция достигает больших значений и в осенний, и в летний периоды и составляет 60,0 - 63,4 мг С/м² в сутки. Анаэробная деструкция в песках составила 10,5 мг С/м² в сутки, 28,5 мг С/м² в сутки в заиленных песках. Летом значения анаэробной деструкции выше, чем осенью (табл. 22).

Скорость деструкции органического вещества в осадках залива
Посольский Сор озера Байкал

Станция, глубина воды	Дата отбора	t, °С	C _{орг} , % сух.в.	Аэробная деструкция в осадках, мг С/м ² в сутки	Анаэробная деструкция в осадках, мг С/м ² в сутки
Ст 2	сентябрь	13	0,21	43,2	28,5
Ст 3, урез воды	сентябрь	13	0,27	63,4	10,5
Ст 3, урез воды	июль	24	0,27	60,0	48,0

В мелководном заливе Провал озера Байкал деструкция в осадках характеризовалась такими же величинами: аэробная деструкция - до 51,8 мг С/м² в сутки, анаэробная деструкция – до 49,2 мг С/м² в сутки. Полученные данные свидетельствуют о наличии как аэробных, так и анаэробных процессов деструкции в осадках мелководных заливов озера Байкал, что определяется условиями окружающей среды.

В Баргузинском заливе озера Байкал значения аэробной и анаэробной деструкции сильно варьировали и зависели от типа осадка, достигая 111 мг С/м² в сутки, и 263,1 мг С/м² в сутки соответственно (Дагурова, 2000), что на порядок больше определенных нами значений.

Наибольшая величина валовой продукции была отмечена в осенний период у уреза воды и составила 0,166 мг С/л в сутки, при значениях деструкции 0,029 мг С/л в сутки. Летом продукция и деструкция характеризовались меньшими значениями - 0,008 и 0,006 мг С/л в сутки соответственно. В осадках аэробная деструкция протекала со скоростью 63,4 мг С/м² в сутки в осенний период, 60 мг С/м² в сутки – летом. Деструкция в анаэробных условиях составляла 10,5 мг С/м² в сутки осенью, 48 мг С/м² в сутки - летом. Для побережья открытого Байкала величина продукции в воде осенью составила 0,024 мг С/л в сутки, летом - 0,004 мг С/л в сутки; величина

деструкции - 0,016 мг С/л в сутки и 0,02 мг С/л в сутки соответственно.

Таким образом, для побережья залива Посольский Сор показана большая интенсивность процессов продукции и деструкции, чем в прибрежных участках открытого Байкала, причем процессы деструкции происходят с меньшей интенсивностью, чем продукции. В осадках деструкция в основном протекает в аэробных условиях. Это объясняется мелководностью, обусловленным хорошим освещением, насыщением кислородом, прогревом воды и донных осадков. В воде величины продукции и деструкции были соизмеримы, наибольшие значения были отмечены в осенний период. Величины этих процессов были сопоставимы с измеренными в побережье фоновой станции. Наибольшая величина деструкции, а также продукции, была отмечена в осенний период. В осадках деструкция в основном протекала в аэробных условиях. В осадках деструкция в основном протекала в аэробных условиях. Полученные данные позволяют говорить о том, что процессы продукции и деструкции в побережье залива Посольский Сор сбалансированы и связаны с условиями окружающей среды.

3.5. Микробные процессы, протекающие в мелководных и открытых участках озера Байкал

В осадках были измерены интенсивности терминальных процессов анаэробной деструкции органического вещества - сульфатредукции и метанобразования. Интенсивность сульфатредукции была высока - 0,83-1,31 нмоль см⁻³ сут⁻¹, в черных илах с остатками растительности достигала очень значительных величин до 264 нмоль см⁻³ сут⁻¹. Метанобразование из СО₂ происходило со скоростью 0,07-1,49 нмоль см⁻³ сут⁻¹, что не превышало значений процесса в участках открытого Байкала. Сравнение расхода органического вещества на эти процессы выявило доминирование процесса сульфатредукции, в отличие от его второстепенной роли в деструкции в осадках глубоководных районов Байкала (Намсараев, Земская, 2000).

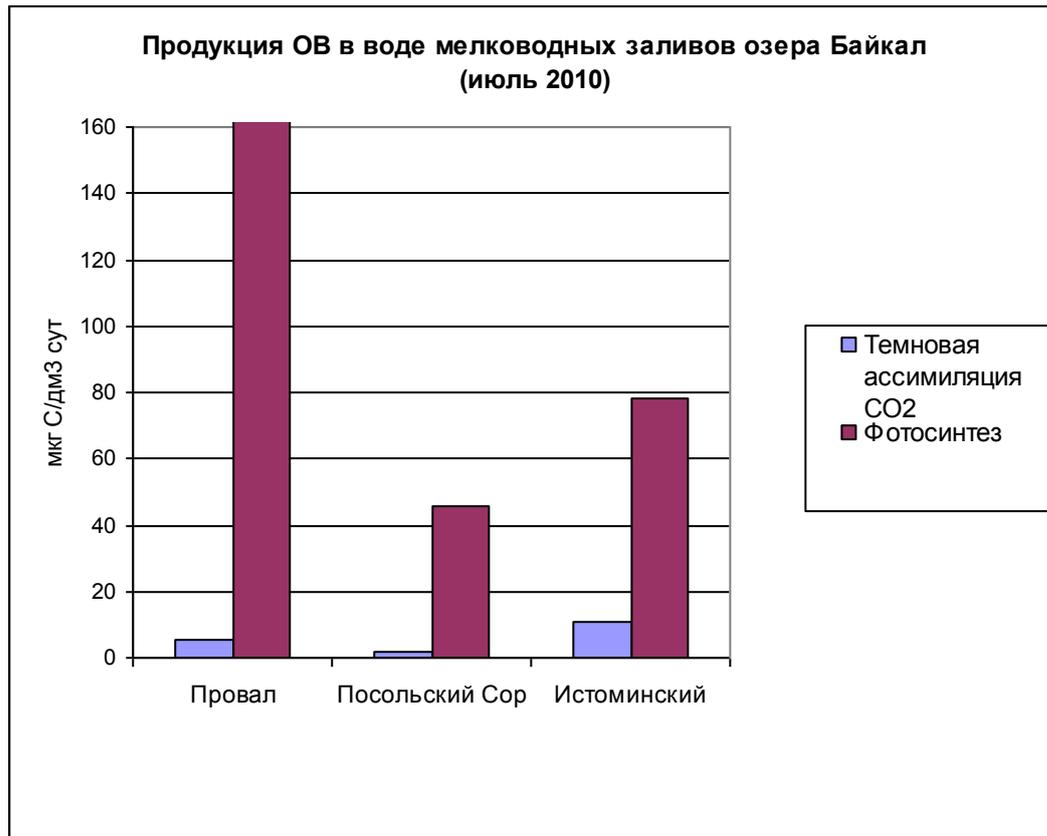


Рис.3. Продукция органического вещества в воде мелководных заливов озера Байкал

Темновая фиксация CO₂ в воде составляла 0,6-1,0 мкг С дм⁻³ сут⁻¹, в осадках – 0,1-0,9 мкг С дм⁻³ сут⁻¹. Примечательно, что в осадках, при обилии бактерий, их активность была низкой, а в воде гетеротрофное микробное сообщество характеризовалось высокой активностью. Это можно объяснить ранее установленным фактом - несоответствием между численностью бактерий и гетеротрофной ассимиляцией, в том числе и в озере Байкал (Максимова, Максимов, 1989). Предположительно, гетеротрофное потребление углекислоты связано с содержанием доступных для бактерий органических веществ. Сравнивая с численностью бактерий, можно заключить, что численность являлась стабильным показателем системы, изменялась в небольших пределах, в отличие от функциональных характеристик гетеротрофного сообщества.

Процессы фотосинтеза и темновой ассимиляции углекислоты в июле

также происходили более интенсивно. Вклад оксигенного фотосинтеза в продукцию был наибольшим (72%), темновая ассимиляция CO_2 составляла 5%. Доля хемосинтеза была довольно значительной – 20%. Фотосинтез в заливе Провал отличался большей интенсивностью по сравнению с другими изученными мелководными заливами (рис. 2). В осадках заливов и контрольных участках были измерены интенсивности сульфатредукции. Интенсивность сульфатредукции была высока - 0,61-37,5 нмоль cm^{-3} сут⁻¹, в Истоминском Соре достигала очень значительных величин - до 418 нмоль cm^{-3} сут⁻¹. Значительных отличий в скорости процесса между заливами и контрольными участками обнаружено не было. В Истоминском Соре также были измерены скорости автотрофного метанобразования (68,5 нмоль cm^{-3} сут⁻¹) и метаноокисления (32,4-938 нмоль cm^{-3} сут⁻¹). Темновая ассимиляция углекислоты была также высокой и составляла 266 мкг С dm^{-3} сут⁻¹, скорость хемосинтеза составляла 10,3 мкг С dm^{-3} сут⁻¹. Сравнение расхода органического вещества на процессы терминальной деструкции в осадках Истоминского Сора выявило доминирование процесса сульфатредукции, в отличие от его второстепенной роли в деструкции в осадках глубоководных районов Байкала, где деструкция в основном завершается процессом метанобразования (Намсараев, Земская, 2000).

Продукция в заливе Провал отличалась большей интенсивностью по сравнению с другими мелководными заливами (рис. 4).

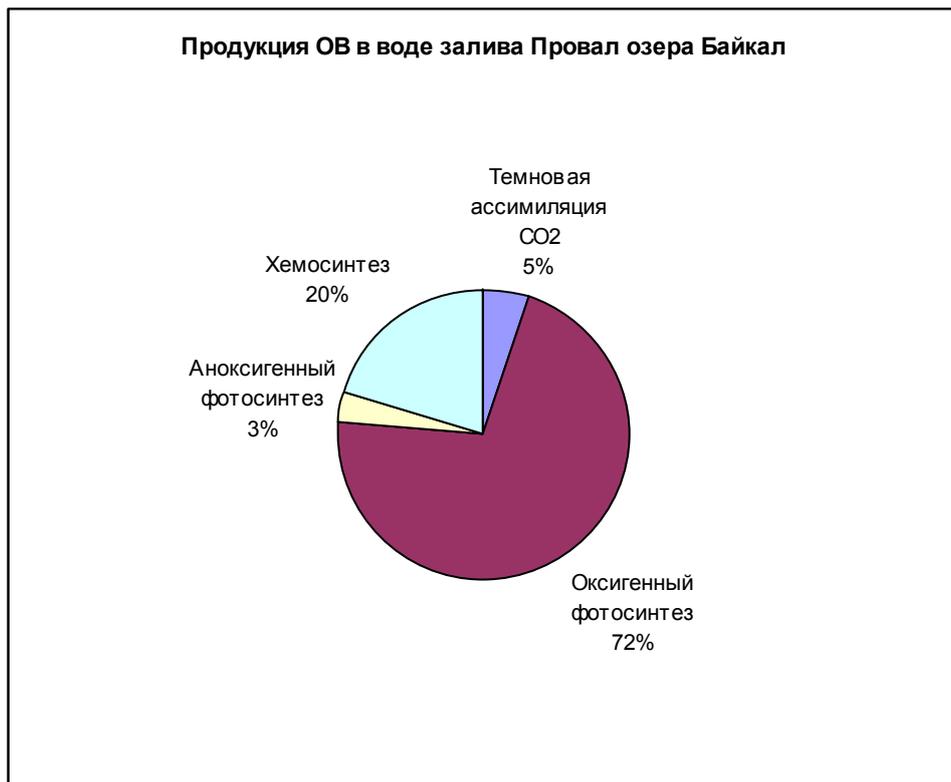


Рис. 4. Продукция органического вещества в воде залива Провал озера Байкал

3.6. Скорость разложения белка и целлюлозы в осадках исследованных водоемов

Большая часть органического вещества, поступающего в осадки, подвергается деструкции на поверхности «вода-осадок». Белок, как первичный биополимер, является одним из компонентов органического вещества осадков, как и целлюлоза, он поступает в осадки при разложении растительных, животных и микробных клеток из водной толщи и с речными сносками. Обилие целлюлозы в водоемах определяет важную роль целлюлозоразлагающих бактерий в процессе деструкции органического вещества. Оценка активности целлюлозоразлагающих бактерий в пресных водоемах выявляет их важную роль в процессе деструкции органического вещества (Намсараев, 1984). Разложение этих субстратов происходило практически с одинаковой скоростью. Была прослежена динамика процессов: целлюлоза в начале опыта разрушалась медленнее, чем белок. Например, в заливе Провал процессы шли быстрее – к 7 суткам опыта разложилось около

20% обоих субстратов, в заливе Посольский Сор было потреблено около 4% белка и целлюлозы. Сравнительный анализ разложения белка и целлюлозы в летний период представлены в таблице.

Таблица 23

Разложение белка в мелководных заливах и фоновых участках открытого Байкала

Местоположение	Тип осадка	Суточное разложение, %					Среднее значение
		1	7	14	21	30	
Залив Провал	Заиленный мелкозернистый песок	3,14	2,51	2,97	2,84	2,44	2,78
Энхалук	Мелкозернистый песок	0,96	2,01	1,46	0,97	0,85	1,25
Залив Посольский Сор	Среднезернистый песок	1,04	1,33	1,49	1,23	1,84	1,39
Боярск	Среднезернистый песок	0,70	1,49	1,36	0,96	0,83	1,01
Истомино	Заиленный мелкозернистый песок	0,56	2,22	2,39	2,91	1,90	2,00

Разложение белка происходило относительно равномерно в течение месяца. По мере увеличения времени экспозиции суточное разложение целлюлозы увеличивалось, после 21-30 суток разложения происходило замедление процесса.

Таблица 24

Разложение целлюлозы в мелководных заливах и фоновых участках открытого Байкала

Местоположение	Тип осадка	Суточное разложение, %					Среднее значение
		1	7	14	21	30	
Залив Провал	Заиленный мелкозернистый песок	0,21	2,70	2,09	4,33	2,69	2,40
Энхалук	Мелкозернистый песок	0,31	0,42	1,70	1,01	1,00	0,89
Залив Посольский Сор	Среднезернистый песок	0,14	0,35	0,85	1,44	1,15	0,79
Боярск	Среднезернистый песок	0,48	0,67	0,92	0,66	0,59	0,66
Истомино	Заиленный	1,38	4,30	4,30	2,78	2,87	3,13

	мелкозернистый песок						
--	-------------------------	--	--	--	--	--	--

В данном эксперименте наблюдается зависимость от типа осадка и содержания органического вещества. Удельный вес бактерий, разрушающих легкоусвояемые углеводы, в осадках заливов Провал и Сор Черкалов выше. Разложение белка активнее протекает в заливе Провал, целлюлозы же - в заливе Сор Черкалов.

Деструкция в воде изученных участков в целом превышала продукцию. Особенно это было характерно для воды заливов Провал и Посольский Сор, отобранной в апреле. Продукция в воде мелководных заливов составляла в среднем 0,062 мг O₂/л ч, деструкция – 0,093 мг O₂/л ч. В контрольных участках эти показатели были ниже и составляли 0,055 и 0,085 мг O₂/л ч соответственно.

Процессы фотосинтеза и темновой ассимиляции углекислоты в июле также происходили более интенсивно. Вклад оксигенного фотосинтеза в продукцию был наибольшим (72%), темновая ассимиляция CO₂ составляла 5%. Фотосинтез в заливе Провал отличался большей интенсивностью по сравнению с другими изученными мелководными заливами (рис.5).

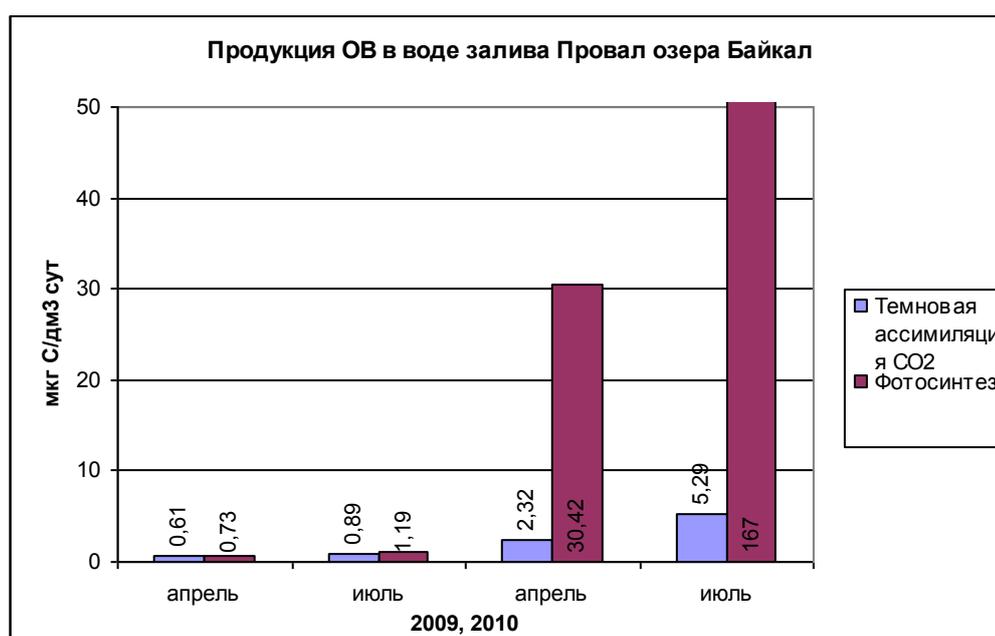


Рис. 5 Продукция органического вещества в воде залива Провал

3.7. Вертикальное распределение микробиологических характеристик в воде залива Провал озера Байкал

Для осеннего периода озера характерен интенсивный вертикальный водообмен, способствующий неоднородному распределению бактерий в поверхностных слоях (Верболов, 1996; Безруков и др., 1998).

В заливе Провал изучено распределение численности бактерий и скорости микробных процессов продукции по глубине водной толщи. Величины темновой ассимиляции углекислоты и фотосинтеза были сопоставимы (колебания от 0,4 до 1 мкг С дм⁻³ сут⁻¹). Общая численность микроорганизмов, численность сапрофитных и целлюлозоразрушающих бактерий с глубиной воды не снижались, как и скорости ассимиляции углекислоты и фотосинтеза. Численность бактерий в воде и в осадках по трансекте от берега на протяжении 40 м также существенно не менялась. Выявлены высокие значения темновой фиксации CO₂ в период интенсивного цветения воды 0,6-1,0 мкг С дм⁻³ сут⁻¹, как показатель высокой активности гетеротрофного микробного сообщества воды.

В июле общая численность бактерий в воде была выше – от 1,5 до 3,1 млн. клеток/см³ (среднее значение 2,1 млн. клеток/см³) (табл.10). Численность микроорганизмов в воде была одного порядка на всех точках отбора, в отличие от донных осадков, где численность зависела от литологии осадка. В илах численность колебалась в широких пределах - от 4 млн. до 1,4 млрд. клеток/см³ при невысоких для грунтов значениях численности сапрофитных и целлюлозоразлагающих бактерий.

Общая численность микроорганизмов в воде и донных осадках залива
Провал

Расстояние от берега, м	Глубина воды, м	ОЧМ в воде, клеток/см ³	ОЧМ в донных осадках, клеток/см ³
70	1	$2 \cdot 10^6$	$4,0 \cdot 10^6$
25 по трансекте	0,7	$2 \cdot 10^6$	$5,7 \cdot 10^8$
25 -//-	0,7	$1,9 \cdot 10^6$	$5,8 \cdot 10^8$
25 -//-	0,7	$2,2 \cdot 10^6$	$7,0 \cdot 10^8$
25 -//-	0,7	$2,1 \cdot 10^6$	$6,9 \cdot 10^8$
25 -//-	0,7	$2 \cdot 10^6$	$6,7 \cdot 10^8$
25 -//-	0,7	$1,8 \cdot 10^6$	$7,5 \cdot 10^8$
25 -//-	0,7	$2 \cdot 10^6$	$8,6 \cdot 10^8$
25 -//-	0,7	$1,5 \cdot 10^6$	$1,4 \cdot 10^9$
0	0,2	$3,1 \cdot 10^6$	$5,5 \cdot 10^6$

Была подсчитана ОЧМ по трансекте от берега на протяжении 40 м (рис. б). Численность в воде и в осадках существенно не менялась; в точке отбора у берега содержание микроорганизмов в осадках, представленных песками, было меньше на 2 порядка.

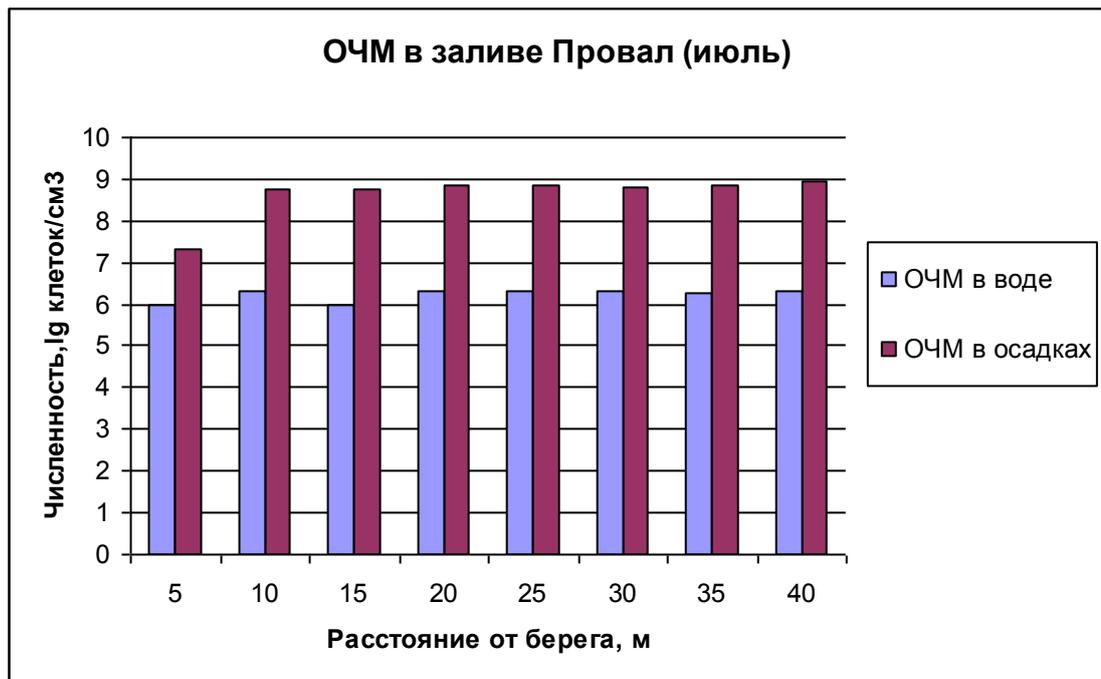


Рис.6. Общая численность микроорганизмов по трансекте от берега

В заливе Провал в апреле по глубине водной толщи с шагом 25 см (глубина 2,5 м) было изучено распределение ОЧМ, численности сапрофитных и целлюлозоразрушающих бактерий, процессов темновой фиксации углекислоты и фотосинтеза (рис.7,8). Численность бактерий с глубиной воды не снижалась. В слоях воды на горизонтах 1,5 м и 2,5 м (придонная) наблюдались в большом количестве гифы водных микромицетов. На глубине 1,5 м, где были обнаружены гифы микромицетов, общая численность бактерий и численность изученных групп бактерий характеризовалась наименьшими значениями. Максимальное количество сапрофитных (10^5 - 10^6 кл/мл) и целлюлозоразлагающих (10^2 кл/мл) бактерий обнаружено в придонном слое воды. Величины фотосинтеза и темновой ассимиляции углекислоты, являющейся показателем активности гетеротрофного микробного сообщества, были сопоставимы (колебания от 0,4 до 1 мкг С дм⁻³ сут⁻¹). Их распределение по глубине воды было таким же, как и численности бактерий – с глубиной скорости не снижались, оставаясь на одном уровне. На глубине 1,5 м, где численность бактерий была наименьшей, наблюдались небольшие пики активности фотосинтеза и

темновой ассимиляции CO_2 , что связано, вероятно, с развитием водорослей и микромицетов, не учитываемых при подсчете бактерий.

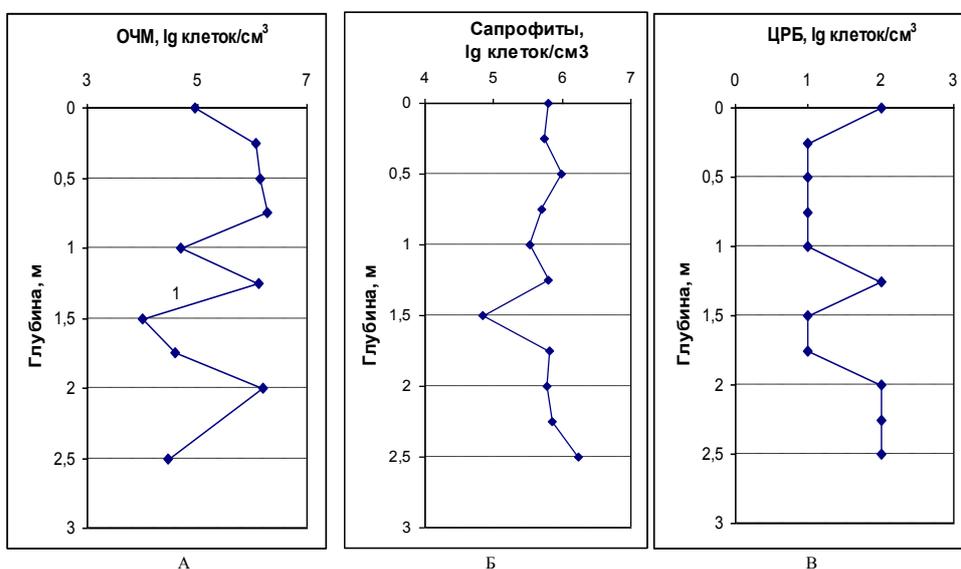


Рис. 7. Распределение по глубине водной толщи общей численности микроорганизмов (А), численности сапрофитов (Б) и целлюлозоразлагающих бактерий (В) в заливе Провал озера Байкал.

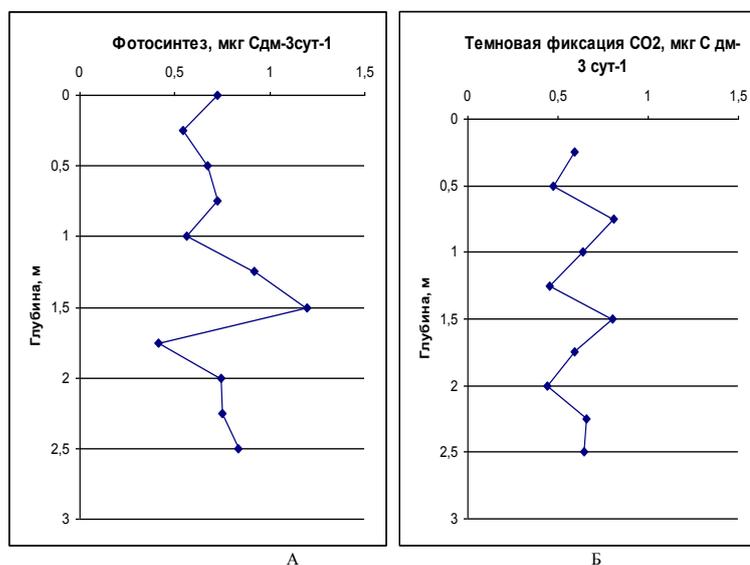


Рис.8. Распределение по глубине водной толщи величин фотосинтеза (А) и темновой фиксации CO_2 (Б) в заливе Провал озера Байкал.

3.8. Таксономическое разнообразие микроорганизмов мелководных заливов и фоновых участков озера Байкал

Понятие таксономического разнообразия включает в себя все виды организмов, которые являются составной частью экосистемы. Этот термин

охватывает разную степень природного разнообразия, учитывая как число видов, так и частоту их встречаемости. В современных биологических классификациях таксоны формируют иерархическую систему: каждый таксон, с одной стороны, состоит из одного или большего числа таксонов более низкого уровня общности, в то же время являясь частью другого таксона – группы более высокого уровня общности. Такая иерархическая система именуется таксономической иерархией, а различные её уровни – таксономическими рангами или группами. В настоящее время общепринятым считается понимание таксонов как монофилетических групп.

Среди естественных компонентов биосферы значительное место занимают микроорганизмы. В силу высокой скорости эволюции микроорганизмы наиболее эффективно реагируют на изменение окружающей среды, так что исследование природных микробных сообществ позволяет наиболее оперативно оценить эффекты изменений окружающей среды на таксономическое разнообразие. Понятие структуры микробного сообщества, по сути дела, подразумевает установление видового разнообразия сообщества. Одной из важных проблем исследования разнообразия природных микробных сообществ состоит в том, что подавляющее большинство находящихся (и активно развивающихся) в природных условиях микроорганизмов не удается перевести в культуру, что исключает использование фенотипических признаков в систематике этих «некультивируемых» микроорганизмов. В связи с этим, в последние годы систематика и филогения микроорганизмов строятся все чаще на различиях в структуре генома и переходят в область геносистематики, основанной на новейших достижениях молекулярной биологии. Сущность этих подходов основана на анализе разнообразия консервативных элементов генома микроорганизмов. Наиболее распространенным является анализ, основанный на переменных фрагментах консервативных элементов генов рибосомных РНК.

В настоящем исследовании для изучения природных микробных сообществ мелководных заливов оз. Байкал использовали разные методические подходы, основанные на полимеразной цепной реакции: доминирующие генотипы получены с помощью ПЦР и клонирования, структуру микробных сообществ проанализировали методом ПЦР в реальном времени и групп-специфичной ПЦР, состав микробного сообщества оценили методом пиросеквенирования ампликона, идентификация культивируемых сапрофитных бактерий проведена на основе анализа полноразмерного гена 16S рРНК.

Характеристика разнообразия микробных сообществ молекулярно-генетическими методами

Характеристика разнообразия природных микробных сообществ проведена методами молекулярной биологии, которые не только позволяют выявлять и идентифицировать бактерии без культивирования и анализировать их филогенетические взаимоотношения с типовыми штаммами разного таксономического уровня, но и дают возможность проведения количественных оценок состава и структуры микробных сообществ в целом.

Применение этих методов значительно расширило представления о таксономическом разнообразии микроорганизмов природных экосистем, в том числе и в озере Байкал (Белькова и др., 2003; Земская, 2007 и др.). Ранее было показано, что таксономическое разнообразие микроорганизмов озера Байкал представлено широким спектром таксонов разного уровня. Отличительной особенностью разнообразия микроорганизмов озера Байкал является преобладание некультивируемых форм бактерий в связи со специфическими экологическими условиями обитания. В глубинных слоях воды и осадков широко распространены некультивируемые бактерии с

неясным филогенетическим положением, которые могут рассматриваться как эндемичные виды (Белькова, 2004).

Групп-специфичная амплификация тотальной ДНК, выделенной из прибрежных осадков мелководных заливов и фоновых участков, проведена как на два домена прокариот Archaea и Bacteria, так и крупные бактериальные филумы: Proteobacteria (классы Alpha-, Beta-, Gammaproteobacteria), Actinobacteria, Firmicutes, Planctomycetes, Bacteroidetes и Cyanobacteria. За исключением фонового участка Энхалук, в осадках всех остальных станций детектирован одинаковый спектр ампликонов (рис. 9). С ДНК, изолированной из поверхностного осадка станции Энхалук, не был выявлен ампликон на праймерах, специфичных для домена Archaea. Это показывает широкую распространенность исследованных групп микроорганизмов, как в мелководных заливах, так и в фоновых участках.

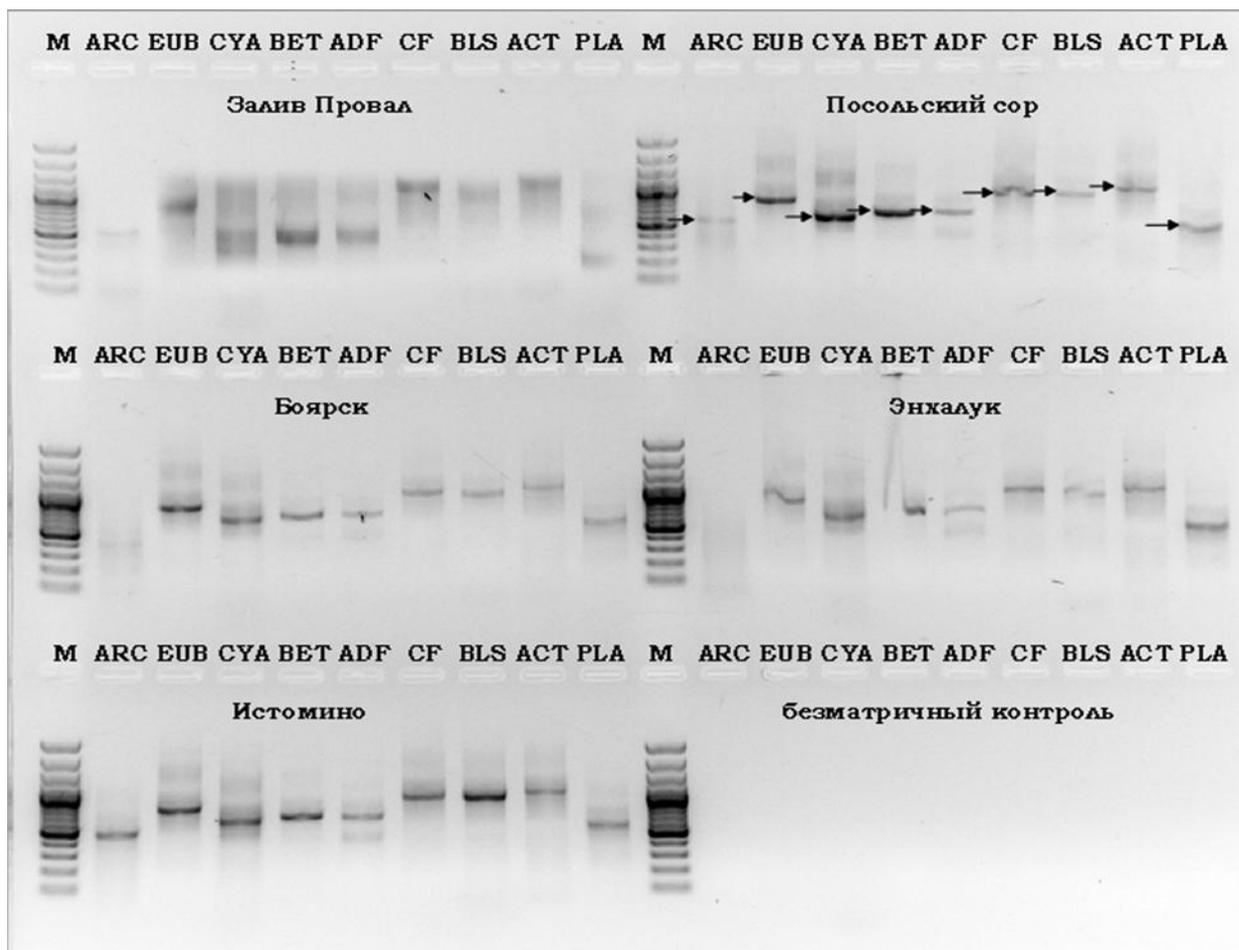


Рис. 9. Электрофореграмма продуктов амплификации тотальной ДНК, выделенной из прибрежных осадков озера Байкал, с использованием праймеров разного уровня специфичности: ARC – домен Archaea, EUB –

домен Bacteria, CYA – филум Cyanobacteria, BET – класс Betaproteobacteria, ADF – класс Alphaproteobacteria, CF – филум Bacteroidetes, BLS – филум Firmicutes, ACT – филум Actinobacteria, PLA – филум Planctomycetes. Стрелками указаны целевые ампликоны.

ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР) обладает более высокой чувствительностью и позволяет как детектировать микроорганизмы с низкой общей численностью, так и оценить преобладание представителей отдельных таксономических групп при сопоставлении результатов, полученных в одной серии параллельных экспериментов. На рисунке 10 представлено распределение основных групп микроорганизмов разного таксономического уровня в воде залива Провал (рис. 2, А) и фонового участка Боярск (рис. 2, Б), полученное в РВ-ПЦР. Установлено, что в водном микробном сообществе наиболее представлены такие таксоны бактерий как Betaproteobacteria и Cyanobacteria. Это согласуется с данными Л.Я. Денисовой с соавторами (Денисова и др., 1999), отмечающих наличие в разных слоях водной толщи озера протеобактерий и цианобактерий. Авторами установлено доминирование этих групп на глубине озера до 1400 м и увеличение доли цианобактерий в поверхностных слоях в летний период. Нами показано широкое распространение этих групп, как в мелководных, так и контрольных участках, что предполагает их доминирование в микробном сообществе, как воды, так и поверхностных осадков озера. Представители групп Alphaproteobacteria, Planctomycetes и домена Archaea отмечены как минорные компоненты, при этом доля планктомицетов в микробном сообществе мелководного и контрольного участков была наименьшей.

Распределение детектируемых филогенетических групп в мелководном заливе и контрольном участке различалось. В мелководном заливе было выявлено преобладание класса Betaproteobacteria, в то время как в фоновом участке доминировали филум Cyanobacteria. Доля Alphaproteobacteria в воде залива Провал также была выше, чем на контрольной станции Энхалук.

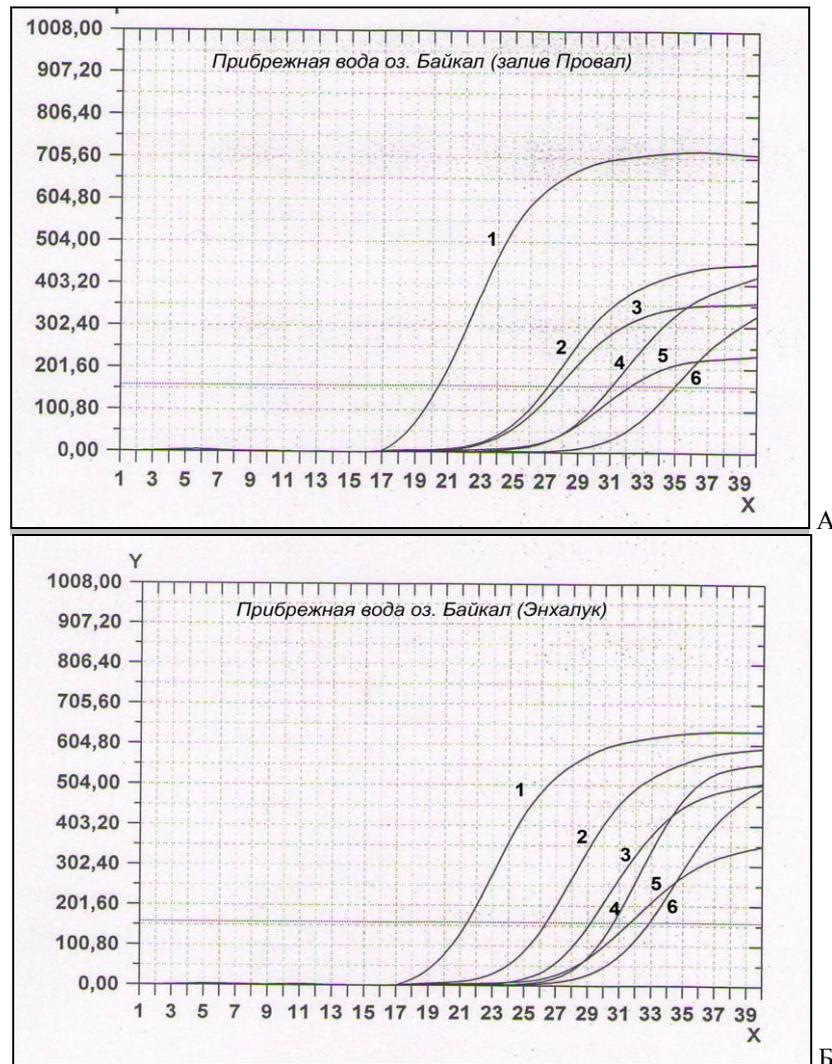


Рис. 10. Распределение основных групп микроорганизмов разного таксономического уровня в прибрежной воде озера Байкал (пронумерованы по убыванию доли в микробном сообществе):

А – мелководный залив Провал (1 – домен Bacteria, 2 – класс Betaproteobacteria, 3 – филум Cyanobacteria, 4 – класс Alphaproteobacteria, 5 – домен Archaea, 6 – филум Planctomycetes);

Б – участок открытого Байкала Энхалук (1 – домен Bacteria, 2 – филум Cyanobacteria, 3 – класс Betaproteobacteria, 4 – домен Archaea, 5 – класс Alphaproteobacteria, 6 – филум Planctomycetes).

Клонированием фрагмента гена 16S рРНК в прибрежных осадках в качестве доминирующих определены представители пяти групп эубактерий: филумов Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Acidobacteria и домена Archaea (рис.11). Наиболее широко представлен филум Proteobacteria (35%). Как известно, многие представители данной таксономической группы широко распространены в природных экосистемах,

а некоторые встречаются повсеместно. Среди протеобактерий большая часть последовательностей относена к классу Betaproteobacteria, что также хорошо согласуется с полученными нами данными по групп-специфичной ПЦР и РВ-ПЦР.

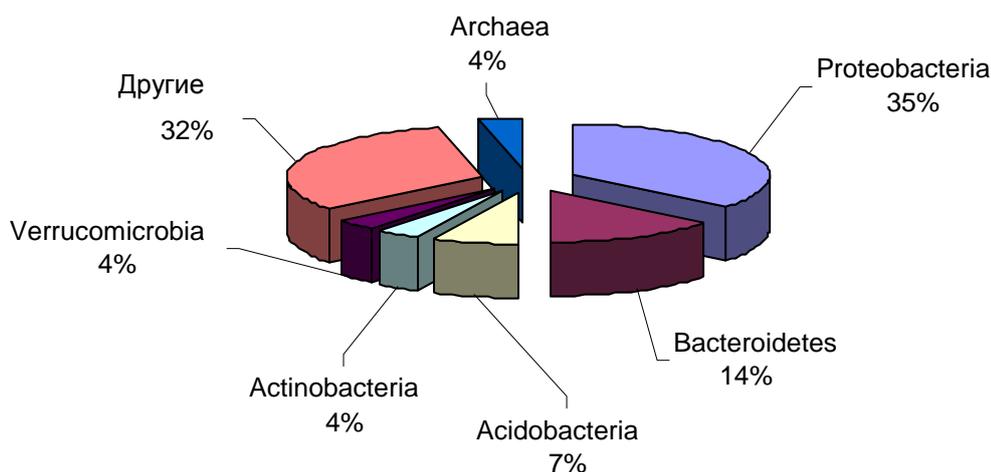


Рис. 11. Филогенетическое разнообразие прокариот в прибрежных осадках мелководных и фоновых участков озера Байкал.

Сравнительный анализ показал, что преимущественно нуклеотидные последовательности имеют невысокий процент гомологии с последовательностями из EMBL банка данных (табл. 11). Возможно, полученные последовательности принадлежат к новым видам, свойственным экосистеме озера Байкал. Нуклеотидные последовательности имели наибольшую гомологию с последовательностями некультивируемых микроорганизмов из банка данных EMBL Environmental (83-98% сходства). Сходство с последовательностями культивируемых микроорганизмов из банка данных EMBL Prokaryote в целом было ниже - от 74%. Максимальный процент гомологии показали нуклеотидные последовательности клонов 1-38 и 4-32 с последовательностями культивируемых микроорганизмов *Limnohabitans planktonicus* (99%) (класс Betaproteobacteria) и *Flavobacterium* sp. (98%) (фила Bacteroidetes, класс Flavobacteriia), соответственно.

Ближайшие некультивируемые родственники изученных последовательностей в основном регистрировались в осадках других пресных водоемов и почвенных экосистемах. Следует отметить, что ближайшие гомологи двух клонов 1-24 и 1-39 (HE650688) обнаружены в пресном озере Поншартрейн, что говорит о наличии в микробном сообществе не только специфичных для озера, но и повсеместно распространенных в пресноводных экосистемах видах. Примечательно, что ближайшие родственники большинства проанализированных последовательностей были обнаружены в холодных местах обитания, например, в антарктических озерах. Однако для некоторых ближайших гомологов последовательностей В1-22 (HE650684) и В1-23 (HE65068) отмечены местообитания с повышенной температурой – микробные маты термальных источников. В биопленках пресноводных экосистем были обнаружены ближайшие родственники клонов В2-12 и В3-1, отнесенных к филуму *Bacteroidetes*. Последовательности клонов В2-11 (HE650686) и 7-7, отнесенные к филуму *Proteobacteria*, имели наибольшее сходство с последовательностями, детектированными в морских экосистемах.

Таблица 26

Результаты сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей, полученных после клонирования ампликонов с суммарной ДНК, выделенной из мелководных осадков исследованных участков озера Байкал

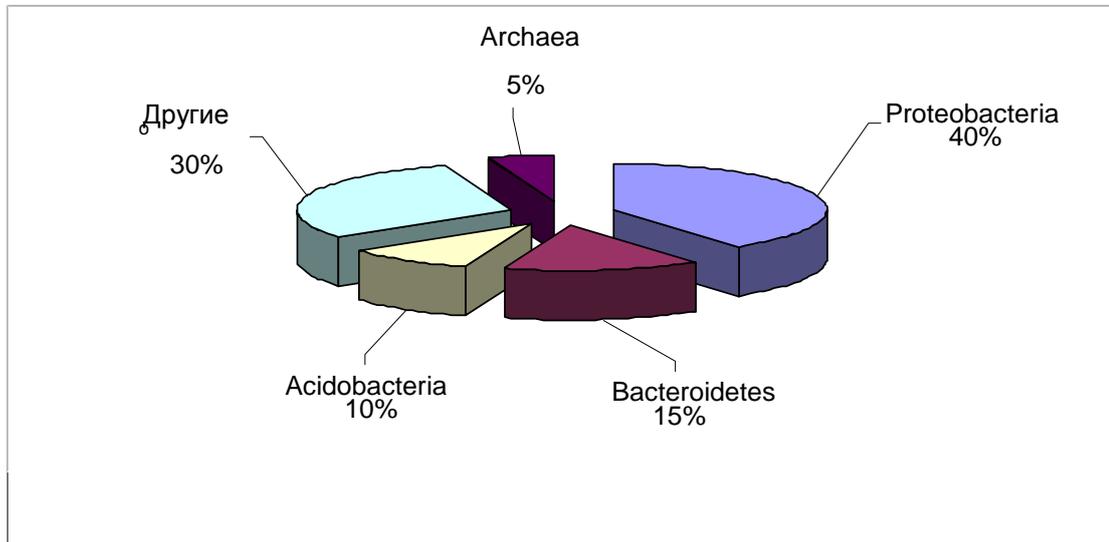
Клон (п.н.), номер в EMBL банке	Ближайший родственник по базе <i>Environmental</i> , % сходства, место обнаружения	Ближайший родственник по базе <i>Prokaryote</i> , % сходства	Филогенетическая группа	Место обитания
В1-22 (871) HE650684	Некультивируемый клон ВN4, 90% Термальные источники Арктики	<i>Nostoc</i> sp., 86%	Филум <i>Cyanobacteria</i>	Залив Провал
В1-23 (898) HE650685	Некультивируемая бетапротеебактерия, 97% Геотермальные маты	<i>Thiobacter subterraneus</i> , 93%	Класс <i>Betaproteobacteria</i>	Залив Провал
В1-24 (926)	Некультивируемая бактерия, 97%	Бактерия TG160, 96% <i>Sideroxydans</i>	Класс <i>Betaproteobacteria</i>	Залив Провал

	Осадки пресного озера Поншартрейн, США	<i>lithotrophicus</i> ES-1, 90%	a	
1-38 (870) <i>HE650687</i>	Некультивируемый <i>Limnohabitans</i> sp. 97% Резервуар для питьевой воды	<i>Limnohabitans planktonicus</i> 99%	Класс Betaproteobacteria	Залив Провал
1-39 (920) <i>HE650688</i>	Некультивируемый археон, 86% Осадки пресного озера Поншартрейн, США	<i>Methanotorris formicicus</i> Mc-S-70, 74%	Домен Archaea	Залив Провал
B2-11 (802) <i>HE650686</i>	Некультивируемая <i>Devosia</i> sp., 85% Морской канал Бедж, Аргентина	Uncultured <i>Devosia</i> sp. Ci5, 84%	Класс Alphaproteobacteria	Залив Посольский Сор
B2-12 (895)	Некультивируемая бактерия, 98% Эпилитные пленки высокогорного озера, Пиренеи	Бактерия TG141, 94,9% <i>Sphingobacteriales</i> бактерия TP498, 93%	Филум Bacteroidetes	Залив Посольский Сор
B3-1 (908)	Некультивируемая бактерия, 91% Белый микробный мат на стенке трубы	<i>Owenweeksia hongkongensis</i> DSM17368, 89%	Филум Bacteroidetes	Боярск
B3-2 (915)	Некультивируемая бактерия, 98% Ручей, остров Хоккайдо	<i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> , 86%	Класс Alphaproteobacteria	Боярск
3-8 (794) <i>HE650690</i>	Некультивируемый бактериоид, 96% Почва, остров Александр (Антарктика)	<i>Ferruginibacter lapsinanicus</i> , 96%	Филум Bacteroidetes	Боярск
3-4 (740)	Некультивируемая бактерия <i>Sphingobacteriaceae</i> , 94% Осадки ручья, Аляска	<i>Ferruginibacter lapsinanicus</i> , 90%	Филум Bacteroidetes	Боярск
B4-31 (895)	Некультивируемая бактерия, 87% Вода озера, Антарктика	<i>Geodermatophilus obscurus</i> , 83%	Филум Actinobacteria	Энхалук
4-32 (885) <i>HE650689</i>	Некультивируемая бактерия, 97% Ледник, Антарктика	<i>Flavobacterium</i> sp. R-38-359, 98%	Филум Bacteroidetes	Энхалук
G1-32 (286)	Некультивируемая бактерия, 90% Моллюск из реки Святого Лаврентия,	Ацидобактерия IGE-016, 83,3%	Филум Acidobacteria	Залив Провал

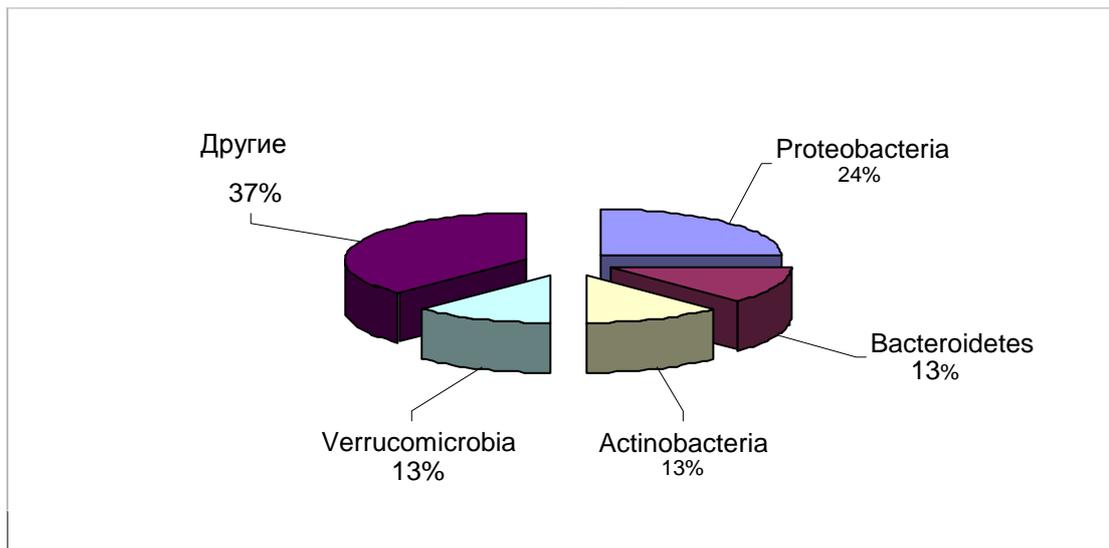
	Великие озера, США			
1-2 (201)	Некультивируемый бактериоид, 87% Ветланд, Калькутта, Индия	<i>Filimonas</i> sp., 84%	Филум Bacteroidetes	Залив Провал
1-3 (245)	Некультивируемая бактерия <i>Chloroflexi</i> , 95% Почва, Индия	<i>Olavius algarvensis</i> delta 1, 80%	Класс Deltaproteobacteria	Залив Провал
1-10 (214)	Некультивируемая бетапротееобактерия, 98% Активный ил	<i>Leptothrix cholodnii</i> , 99%	Класс Betaproteobacteria	Залив Провал
1-13 (362)	Некультивируемая ацидобактерия, 98% Почвы, Калифорния	Ацидобактерия, 96%	Филум Acidobacteria	Залив Провал
5-1 (488)	Некультивируемая бактерия, 98% пресноводное озеро	Бетапротееобактерия, 98%	Класс Betaproteobacteria	Боярск
5-3 (490)	Некультивируемая бактерия, 94% пресноводные осадки	Верукоммикробия, 90%	Филум Verrucomicrobia	Боярск
6-11 (890)	Некультивируемая бактерия, 85% Загрязненные почвы	<i>Ralstonia pickettii</i> , 85%	Класс Betaproteobacteria	Энхалук
7-2 (303)	Некультивируемая <i>Nitrosovibrio</i> sp., 95% Почвы, анаэробное сообщество	Неидентифицированная зубактерия, 90%	Филум Firmicutes	Залив Сор Черкалов
7-4 (455)	Comamonadaceae бактерия MWH55, 94% вода, пресное озеро Ланкер, Германия	Comamonadaceae бактерия, 93%	Класс Betaproteobacteria	Залив Сор Черкалов
7-6 (245)	<i>Rhodobacter capsulatus</i> SB1003, 87%	<i>Rhodobacter</i> sp., 87%	Класс Alphaproteobacteria	Залив Сор Черкалов
7-7 (394)	Некультивируемая бактерия, 86% Железо-марганцевые конкреции, Балтийское море	Дельтапротееобактерия, 86%	Класс Deltaproteobacteria	Залив Сор Черкалов

Состав микробного сообщества мелководных заливов и фоновых участков имеет небольшие различия. Несмотря на то, что в осадках заливов, также как и контрольных участков, доминируют микроорганизмы с неопределенным таксономическим положением и высока доля

представителей филумов Proteobacteria и Bacteroidetes (рис. 4), в мелководных заливах идентифицированы дополнительно Archaea и Acidobacteria (рис. 12, А), а в открытом Байкале - Actinobacteria и Verrucomicrobia (рис. 12, Б).



А



Б

Рис.12. Филогенетическое разнообразие прокариот в осадках озера Байкал (А – мелководные заливы, Б – фоновые участки)

Пиросеквенирование - это новая стратегия секвенирования ДНК, основанная на детекции пирофосфата, образующегося при синтезе ДНК. Данная технология демонстрирует значительные преимущества перед традиционными подходами, главными из которых является повышенная производительность и быстрота анализа. Применение пиросеквенирования ампликона гена 16S рРНК для изучения состава микробных сообществ

позволяет получить информацию о более полном разнообразии представителей всех таксонов микроорганизмов.

В результате пиросеквенирования ампликона с суммарной ДНК, выделенной из осадков залива Провал озера Байкал, определено 6987 нуклеотидных последовательностей, принадлежащих домену Bacteria и объединенных в 2614 операционные таксономические единицы (OTU), что показывает число как единичных последовательностей, так и групп последовательностей, принадлежащих к одному таксону. В исследуемой пробе OTU_s составило 2614 филотипа на видовом уровне, что характеризует большое бактериальное разнообразие, сопоставимое со сложностью микробного сообщества почв (Roesch et al., 2007) и горячего источника Камчатки (Гумеров и др., 2011). Тем не менее из кривой, выражающей зависимость числа филотипов от числа проанализированных последовательностей, представленной на рисунке 13 можно заключить, что проанализированное количество последовательностей недостаточно для полной оценки разнообразия микробного сообщества мелководных осадков озера Байкал, так как при увеличении числа анализируемых последовательностей кривая не выходит на плато. Это подтверждает большое разнообразие микробного сообщества в пресноводных байкальских осадках.

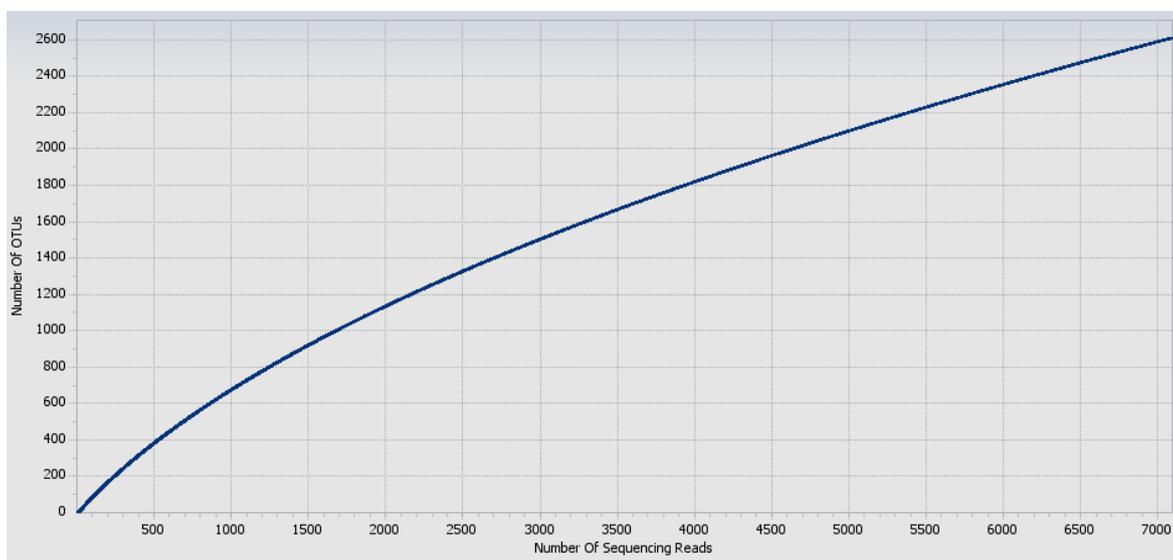


Рис. 13. Оценка видового разнообразия бактериального сообщества осадков залива Провал озера Байкал

Индекс разнообразия микробного сообщества, оцененный с помощью непараметрического критерия Chao1, характеризует общее число независимых флотипов в сообществе и составляет 5984,5 на уровне вида.

Всего в исследованном микробном сообществе обнаружен 41 крупный таксон. Наибольшая доля в сообществе принадлежит филуму Proteobacteria (45%), что согласуется с результатами клонирования и групп-специфичной ПЦР. Внутри филума Proteobacteria преобладает класс Betaproteobacteria (45% от числа всех протеобактерий). Доминирование этого класса в заливе Провал также было показано с помощью ПЦР в реальном времени. Доля остальных классов Alpha-, Gamma- и Deltaproteobacteria составила 17%, 26% и 12%, соответственно. Также весомую долю в сообществе имеют представители филумов Actinobacteria (14%), Acidobacteria (12%), Bacteroidetes (7%), Chloroflexi (7%), Planctomycetes (3%) и Nitrospirae (1%) (рис. 14). Другие, не столь многочисленные филумы, составили в сумме 11%.

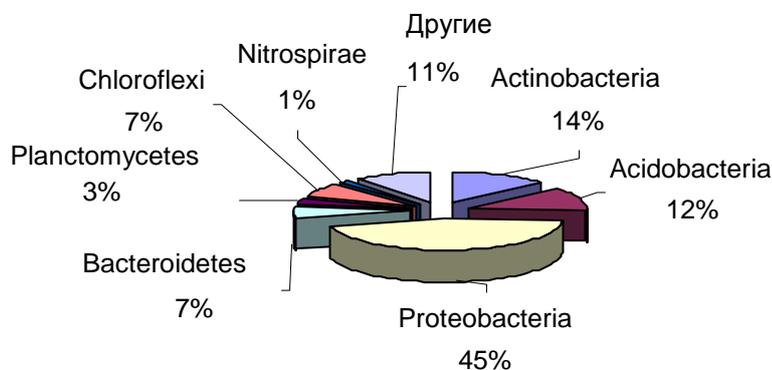


Рис. 14. Филогенетическое разнообразие прокариот в осадках залива Провал озера Байкал, полученное по результатам пиросеквенирования ампликона гена 16S рРНК

Следует отметить, что среди большого бактериального разнообразия на различных таксономических уровнях разными молекулярно-генетическими методами выявлена высокая доля последовательностей бактерий с таксономическим положением, относящихся к некультивируемым формам. Только на уровне основных филумов бактерий их фракция составила 45%. На уровне вида количество таких последовательностей было подавляющим.

Можно заключить, что на представительной выборке анализируемых последовательностей подтверждено, что среди байкальских микроорганизмов доминируют некультивируемые формы бактерий с низким процентом гомологии с ближайшими родственниками, что может предполагать их эндемичность. Это согласуется с нашими данными, полученными с помощью клонирования, а также с литературными данными (Белькова, 2004; Шубенкова и др., 2005; Земская, 2007; Черницына и др., 2007).

Таким образом, проведена оценка разнообразия микробного сообщества в прибрежных осадках мелководных заливов, а также фоновых участках, путем анализа ампликонов с гена малой субъединицы РНК различными методами – групп-специфичной амплификацией, клонированием и пиросеквенированием. Полученные результаты устанавливают доминирование в микробном сообществе 4 филумов бактерий: Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria и Acidobacteria. Среди них большая доля принадлежит филуму Proteobacteria, классу Betaproteobacteria. Дополнительно методом клонирования выявлены последовательности, относящиеся к филумам Verrucomicrobia, Firmicutes и домену Archaea, а анализ пиросеквенированием позволил установить значимую роль в разнообразии сообщества филумов Chloroflexi, Planctomycetes и Nitrospirae. Кроме того, детектированы последовательности, принадлежащие большому

Сравнение полученных результатов с литературными данными показало сопоставимость микробного разнообразия мелководных участков со структурой сообществ ранее изученных экотопов озера Байкал – водной толщи, глубоководных осадков, в том числе и из районов разгрузки газов, приустьевых участков дельты Селенги, биопленок (табл. 27), где также наиболее широко представлен филум Proteobacteria.

Филогенетическое разнообразие некультивируемых микробных сообществ
озера Байкал

Место отбора образцов для анализа	Метод	Группа	Источник
Водная толща, глубоководные районы	Молекулярное клонирование природных образцов	Cyanobacteria, Proteobacteria Flavobacteriia Actinobacteria Planctomycetes Holophaga Nitrospirae Verrucomicrobia	Белькова, 2004, Семенова, 2002
Верхний слой глубоководных осадков, включая районы газо- и нефтепроявлений	Молекулярное клонирование из природных образцов	Proteobacteria Nitrospirae Actinobacteria, Verrucomicrobia Acidobacteria Planctomycetes Chloroflexi	Земская, 2007
Приустьевые участки дельты р. Селенга	Флуоресцентная <i>in situ</i> гибридизация	Proteobacteria Flavobacteriia Archaea	Максименко и др., 2008
Биопленки	Молекулярное клонирование из природных образцов	Proteobacteria Sphingobacteriia Cyanobacteria Verrucomicrobia Bacilli Flavobacteriia	Мальник, 2010
Осадки мелководных заливов и прибрежных участков	Молекулярное клонирование, пиросеквенирование из природных образцов	Proteobacteria Bacteroidetes, Actinobacteria Acidobacteria Chloroflexi Planctomycetes Nitrospirae Verrucomicrobia Cyanobacteria,	Наши данные

		Firmicutes Archaea	
--	--	-----------------------	--

Молекулярно-генетическая идентификация культивируемых сапрофитных микроорганизмов

В водной экосистеме мелководных заливов озера Байкал важным компонентом являются сапрофитные бактерии. Из воды исследованных участков изолировали в чистую культуру численно доминировавшие при посеве природного образца на твердые питательные среды колонии. Всего получено 14 чистых культур сапрофитных бактерий. Морфологическое описание колоний и клеток представлено в таблице 4. Преимущественно были выделены грамположительные палочки и кокки, размер которых варьировал. Грамотрицательные бактерии представлены только палочками: короткими, почти овальными или длинными, тонкими (табл. 4).

Для анализа гена 16S рРНК было выбрано 8 морфологически различающихся культур. Нуклеотидные последовательности зарегистрированы в международном банке данных, проведен их сравнительный (табл. 5) и филогенетический анализ (рис. 6). Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей с ближайшими гомологами показал, что они являются представителями классов Actinobacteria и Gammaproteobacteria, доминирующими в некультивируемом микробном сообществе – не поняла, что имеется ввиду.... Возможны два варианта: 1. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей с ближайшими родственниками показал, что они являются представителями классов Actinobacteria и Gammaproteobacteria, преимущественно неидентифицированными до вида и изолированными из других пресноводных экосистем. Следует отметить, что представители этих классов доминируют в некультивируемом микробном сообществе озера Байкал по данным молекулярно-генетического анализа. Сравнительный анализ

нуклеотидных последовательностей с ближайшими гомологами показал, что они являются представителями классов Actinobacteria и Gammaproteobacteria, относящимся к широко распространенным видам, доминирующим в некультивируемом микробном сообществе других пресноводных экосистем. Исследуемые штаммы могут быть отнесены к родам *Brevibacterium* (4 штамма), *Pseudomonas* (2 штамма), *Aeromicrobium* (1 штамм) и *Agrococcus* (1 штамм). Грамотрицательные штаммы имеют среди ближайших родственников представителей вида *Pseudomonas fluorescens*. Следует отметить, что в настоящее время невозможно провести идентификацию псевдомонад только по фрагменту гена малой субъединицы рНК, для корректного анализа необходимо использовать дополнительно либо фрагмент 23S рНК, либо межгенный спейсер, поэтому эти штаммы корректно отнести к роду *Pseudomonas* sp. Высокий процент гомологии с ближайшими родственниками актинобактерий и филогенетический анализ типовыми штаммами соответствующих родов (рис. 6) позволяет идентифицировать штаммы (названия 4 штаммов) как *Brevibacterium casei*. Штамм ??? на основании филогенетического анализа попадает в один кластер с видами *Agrococcus jenensis* DSM 9580^T (X92492) и *Agrococcus citreus* IAM 15145^T (AB279547). Однако высокий процент гомологии только с последовательностями неидентифицированных штаммов, невысокая бутстреп поддержка кластеризации и наличие только двух зарегистрированных последовательностей этих видов не позволяют идентифицировать этот штамм до вида. Другой штамм ??? кластеризуется с видами *Aeromicrobium flavum* TYLN1^T (EF133690) и *Aeromicrobium tamlense* SSW1-57^T (DQ411541). Однако не смотря на невысокий процент гомологии с последовательностями ближайших родственников, филогенетический анализ выявил достаточно высокий уровень бутстреп поддержки кластеризации с типовым штаммом *Aeromicrobium flavum* TYLN1^T (EF133690), поэтому этот штамм может быть отнесен к виду *Aeromicrobium flavum*. Таким образом, анализ разнообразия культивируемых сапрофитных бактерий показал, что

среди гетеротрофов чаще всего культивируются представители широко распространенных родов.

Характеристика чистых культур сапрофитных бактерий, выделенных из воды мелководных заливов озера Байкал

Название культуры	Форма колоний	d, мм	Поверхность колонии	Профиль колонии	Цвет колонии	Край колонии	Форма клеток, размеры, окраска по Граму
LBPr25	округлая	4	гладкая	кратерообразный	кремовый	ровный	Палочки 2,10x0,80мкм, Гр+
LBPr24	округлая	4	гладкая	кратерообразный	кремовый	ровный	Палочки 1,44x0,69мкм, Гр+
Pr3	округлая с фестончатым краем	5	гладкая	конусовидный	кремовый	волнистый	Кокки 0,46мкм, Гр+
LBPr5	округлая	3	гладкая	кратерообразный	кремовый	ровный	Палочки 1,17x0,50мкм, Гр-
LBPr6	округлая	2	гладкая	каплевидный	кремовый	ровный	Палочки 1,53x0,45мкм, Гр+
Pr7	округлая	5	бороздчатая	бугристый	кремовый	волнистый	Палочки 1,08x0,35мкм, Гр-
Pr8	округлая с ризоидным краем	1	шероховатая	врастающий в субстрат	бело-розовый	бахромчатый	Палочки 2,48x0,57мкм, Гр+
PS1	округлая	1	гладкая	каплевидный	красный	ровный	Палочки 2,27x0,57мкм, Гр+
LBPS2	округлая с фестончатым краем	5	гладкая	плоский	бесцветная	волнистый	Палочки 0,80x0,88мкм, Гр-
PS3	округлая с фестончатым краем	5	гладкая	плоский	бесцветная	волнистый	Палочки 0,87x0,90мкм, Гр-
LBIst	округлая с фестончатым краем	4	гладкая	конусовидный	оранжевый	волнистый	Палочки 0,89x0,45мкм, Гр+
LBB2	округлая	4	гладкая	кратерообразный	желтый	ровный	Кокки 0,71мкм, Гр+
21	округлая	3	гладкая	кратерообразный	кремовый	ровный	Палочки 1,55x0,64мкм, Гр-
LBChiv 2	округлая	2	гладкая	каплевидный	кремовый	ровный	Палочки 1,69x0,54мкм, Гр+

Таблица 29.

Результаты сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей чистых культур сапрофитных бактерий, выделенных из мелководных заливов озера Байкал

№ (п.н.)	Номер в банке данных	Ближайший родственник, гомология	Филум/класс, семейство
LBPr24 (1090)	HE617663	<i>Brevibacterium</i> sp., 97%	Actinobacteria, Brevibacteriaceae
LBPr25 (1447)	HE617664	<i>Brevibacterium</i> sp., 99%	Actinobacteria, Brevibacteriaceae
LBB2 (1423)	HE617665	<i>Agrococcus</i> sp., 99%	Actinobacteria, Microbacteriaceae
LBChiv 2 (1441)	HE617666	<i>Brevibacterium</i> sp., 99%	Actinobacteria, Brevibacteriaceae
LB1st (1434)	HE617667	<i>Aeromicrobium</i> sp., 96%	Actinobacteria, Nocardioidaceae
LBPr5 (886)	HE617668	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , 95%	Gammaproteobacteria, Pseudomonadaceae
LBPr6 (1443)	HE617669	<i>Brevibacterium casei</i> , 99%	Actinobacteria, Brevibacteriaceae
LBPS2 (1451)	HE617670	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , 98%	Gammaproteobacteria, Pseudomonadaceae

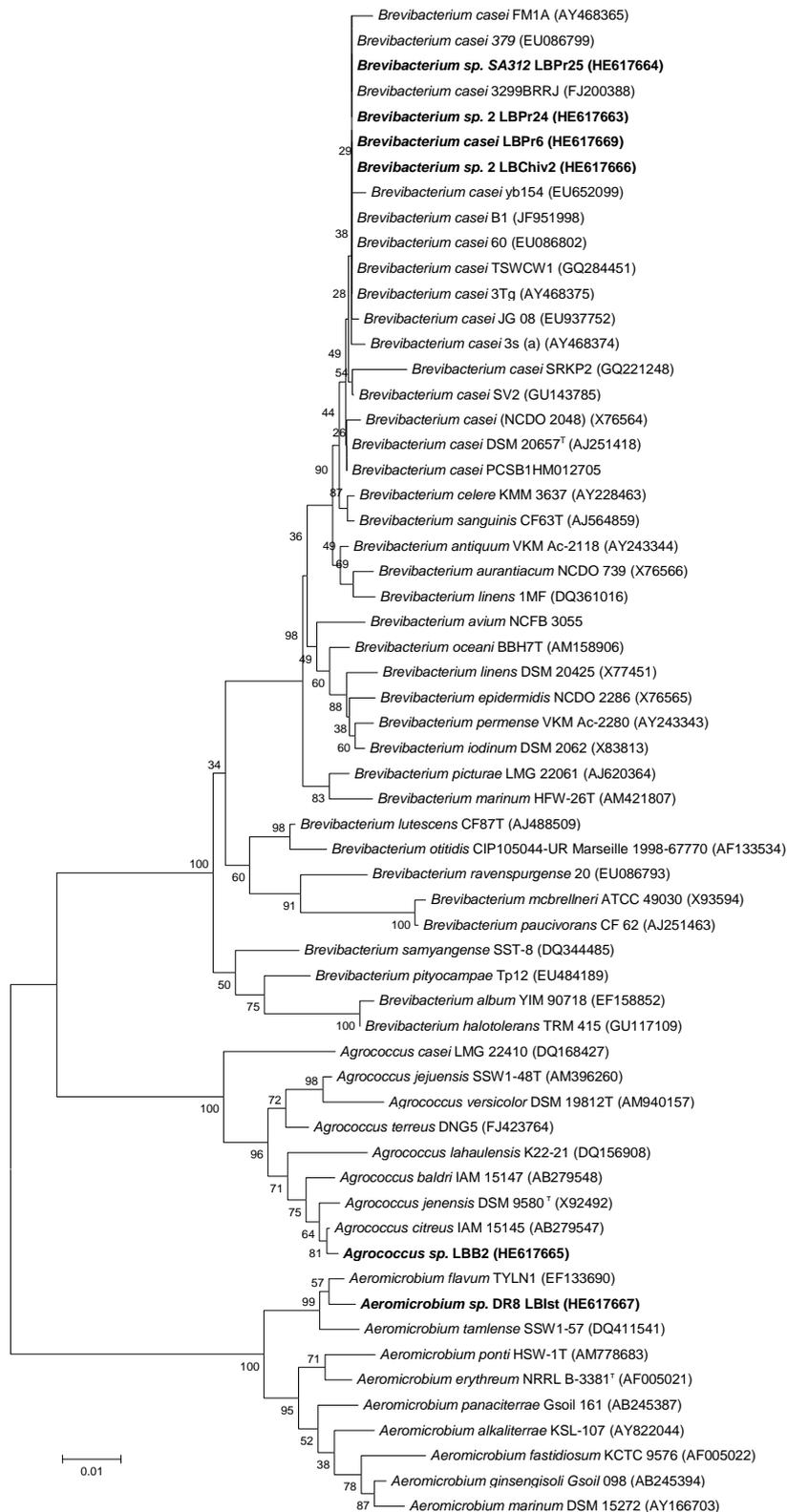


Рис. 15. Положение чистых культур сапрофитных микроорганизмов на филогенетическом древе. Для построения филогенетических взаимоотношений использованы полноразмерные последовательности гена 16S рибосомной РНК зарегистрированных в EMBL банке данных как типовые штаммы родов *Aeromicrobium*, *Agrococcus* и *Brevibacterium*. Древо построено методом объединения ближайших соседей, бутстреп анализ проведен для 1000 реплик. Масштаб соответствует 1 замене на 100 п. н.

3.10. Анализ массивов многомерных данных физико-химических и микробиологических показателей мелководных заливов озера Байкал

При анализе массивов многомерных данных, полученных в ходе мониторинговых исследований природных экосистем, чаще всего применяются классические статистические методы. Однако применение классических методов к анализу экологических наблюдений является достаточно проблематичным (Максимов и др., 2000). Хорошей альтернативой является применение современных методов обработки многомерных данных, а том числе метода главных компонент (PCA) (Geladi, 1989; Эсбенсен, 2005; Gorban, Zinovyev, 2010).

Методом главных компонент (PCA) были проанализированы данные по функциональной активности микробного сообщества воды и осадков мелководных заливов озера Байкал, что позволило выявить наиболее важные факторы, влияющие на функционирование микробного сообщества экосистемы.

1. Факторы, влияющие на функционирование водного микробного сообщества мелководных заливов

Для анализа экосистемы воды был создан массив данных по 48 точкам отбора. В качестве факторов, определяющих деятельность микробного сообщества, были выбраны следующие характеристики: глубина, горизонт, температура, pH, минерализация, концентрация кислорода и ионов гидрокарбонатов, общая численность микроорганизмов, численность сапрофитных бактерий, продукция и деструкция органического вещества. В итоге для анализа был подготовлен массив данных размерностью 48 строк и 11 столбцов.

Были построены графики счетов, которые показывают, как расположены образцы в проекционном пространстве главных компонент

(рис. 16). На графике счетов PC1-PC2 отдельных групп не выявлено, данные распределяются равномерно по осям, что свидетельствует о схожести функционирования микробных сообществ в воде заливов и контрольных участков озера Байкал, которые принадлежат одной экосистеме.

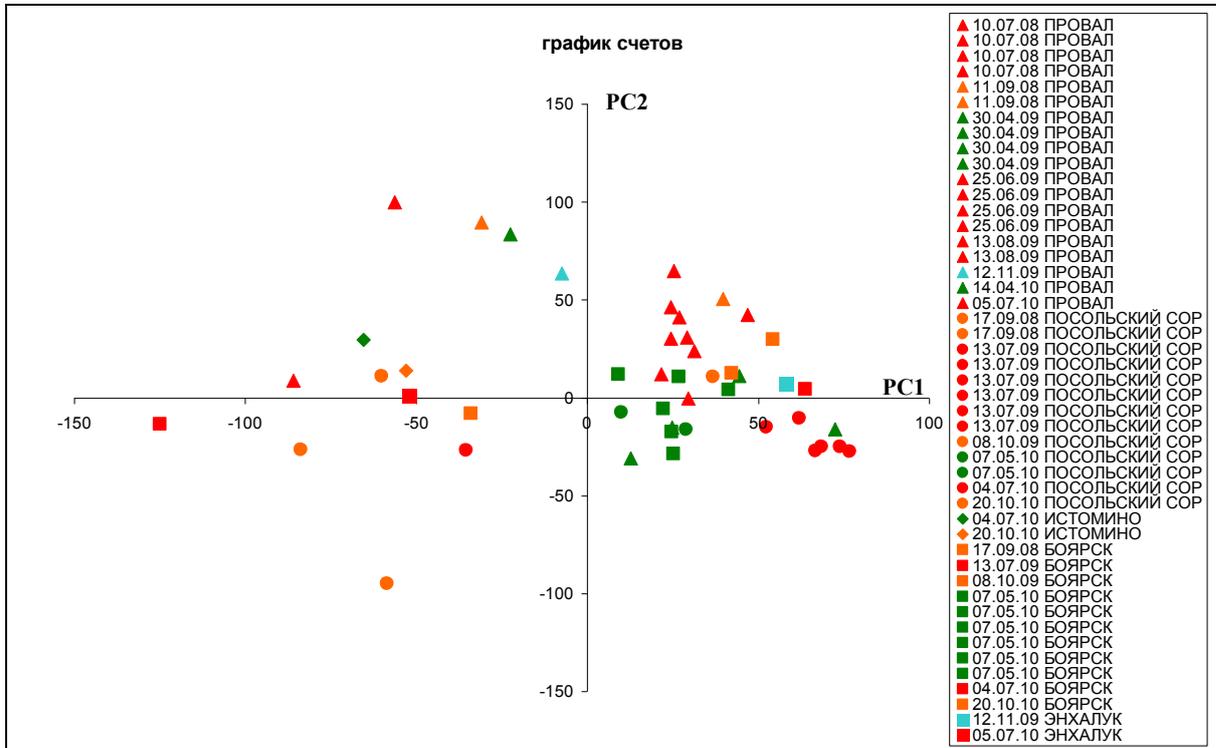


Рис.1. Распределение образцов воды в пространстве PC1-PC2 (график счетов)

В таблице 30 представлены качественные и количественные характеристики главных компонент, которые показывают, какие факторы имеют наибольшее влияние на каждую компоненту (PC) и в какой степени они определяют разнообразие в исследуемой системе.

Таблица 30

Характеристика главных компонент (PC) в воде мелководных заливов озера Байкал

Фактор	PC1	PC2	PC3	PC4
Глубина водной толщи	-	-	-	-
Горизонт	-	-	-	-
Температура	-	0,45	-	0,45
pH	-	-	-	-
Минерализация	-	0,67	-	0,67

Содержание O ₂	-	-	-	-
Содержание HCO ₃ ⁻	-0,52	0,58	-0,52	-
Общая численность микроорганизмов	-	-	-	-
Численность сапрофитов	-	-	-	-
Продукция	0,72	-	-	-
Деструкция	0,63	-	0,62	-
Объясненная дисперсия, %	41,2	27,8	21,5	8,3

«-» - нагрузки факторов были незначительны, составляя ≤ 0.4

Первая главная компонента (PC1) объясняет 41,2% наблюдаемых изменений и включает в себя процессы продукции, деструкции органического вещества и содержание гидрокарбонатов. Вторая по значимости компонента PC2 объясняет 27,8% изменений системы и зависит от минерализации, содержания гидрокарбонатов и, в меньшей степени, от температуры. Третья главная компонента также объясняет значительный процент изменений - 21,5% - и наполняется процессом деструкции и содержанием гидрокарбонатов. Четвертая компонента (включающая такие показатели, как температура и минерализация) имеет незначительное влияние на состояние системы.

На графике нагрузок (рис. 17) можно отметить тесную взаимосвязь факторов минерализации и содержания карбонатов.

Таким образом, установлено, что в воде мелководных заливов озера Байкал наибольшее значение для функционирования экосистемы имеют процессы продукции и деструкции органического вещества.

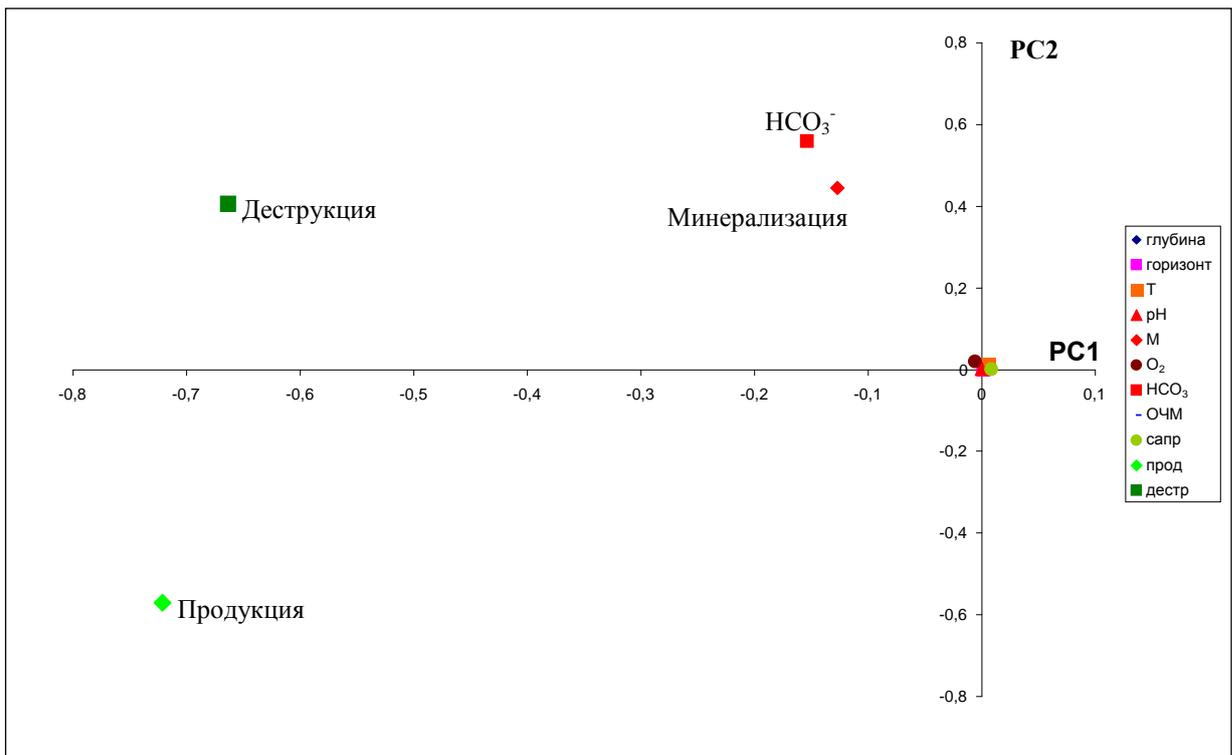


Рис.18. Распределение факторов, влияющих на экосистему микробного сообщества воды в пространстве PC1-PC2 (график нагрузок)

Дополнительно был создан массив, включающий данные основных составляющих продукции: фотосинтеза и темновой фиксации углекислоты, измеренных радиоизотопным методом.

Анализ этого массива подтвердил предыдущие результаты. Было показано, что наибольшее значение из анализируемых составляющих продукции имеет процесс фотосинтеза. Основными факторами среды обитания, влияющими на деятельность микробных сообществ, являются минерализация и содержание гидрокарбонатных ионов (табл.31).

Таблица 31

Характеристика главных компонент (PC) в воде мелководных заливов озера Байкал

Фактор	PC1	PC2	PC3	PC4
Глубина	-	-	-	-
Темновая фиксация CO ₂	-	-	-	-
Фотосинтез	0,45	0,89	-	-

Температура	-	-	-	-0,54
pH	-	-	-	-
Минерализация	0,49	-	-0,79	-
O ₂	-	-	-	-0,75
HCO ₃ ⁻	0,73	-	0,50	-
ОЧМ	-	-	-	-
Объясненная дисперсия, %	51	23	12	3

«-» - нагрузки факторов были незначительны, составляя ≤ 0.4

Оценка функционирования микробных сообществ водной толщи отдельных участков выявила незначительные отличия в характеристиках главных компонент (табл.32).

Таблица 32

Характеристика главных компонент (PC) в воде отдельных изученных участков озера Байкал

Участок	PC1	PC2	PC3	PC4
Залив Провал	Минерализация, HCO ₃ ⁻	Фотосинтез	Минерализация, HCO ₃ ⁻	Температура, O ₂
D (%)	40,5	15,6	4,9	1,9
Посольский сор	Фотосинтез, минерализация, HCO ₃ ⁻	Фотосинтез, HCO ₃ ⁻	O ₂	Температура
D (%)	59,3	29,4	2,5	0,73
Боярск	Фотосинтез, HCO ₃ ⁻	Фотосинтез	Минерализация, O ₂	Темновая фиксация CO ₂ , минерализация, O ₂
D (%)	55,3	16,7	12,0	2,7

D – объясненная дисперсия

Распределение факторов по первым двум компонентам в заливах Провал, Посольский Сор и в контрольном участке Боярск было схожим. Расхождения были выявлены для PC3 и PC4, которые не имели весомого влияние на состояние экосистем. По всем заливам первую компоненту формируют фотосинтез и минерализация, которые определяют 59,3% наблюдаемых изменений. Фотосинтез является одним из главных среди определяющих факторов. Влияние гетеротрофной составляющей продукции -

темновой фиксации углекислоты - заметно лишь в контрольном участке Боярск. Установлено, что влияние температуры, рН и общей численности микроорганизмов было незначительно.

Тем не менее, основные общие тенденции, выявленные в анализе данных по всем заливам, сохраняются. Фотосинтез входит в первые две компоненты во всех участках, и, в сочетании с минерализацией и содержанием гидрокарбонатов, определяет наибольшие изменения в состоянии экосистемы заливов. Меньшее значение имеют температурный фактор и содержание кислорода. Подобное распределение факторов было ранее показано для нескольких минерализованных озер, расположенных в Восточной Австрии (Eiler et al., 2003). Авторами было показано, что продукционные характеристики микробных сообществ (содержание хлорофилла, бактериальная продукция органического вещества, численность цианобактерий) входили в первые две компоненты, имеющие наибольшее влияние на состояние экосистемы, объясняя от 32,6 до 58,6% наблюдаемых изменений. Температура, рН и другие факторы не имели значимого влияния.

2. Факторы, влияющие на функционирование микробного сообщества осадков мелководных заливов

Для анализа факторов, влияющих на функционирование экосистемы осадков, был создан массив данных по 17 точкам отбора. Были проанализированы следующие характеристики: глубина, температура, рН, минерализация, содержание кислорода и гидрокарбонатов, общая численность микроорганизмов, численность сапрофитных бактерий, численность целлюлозоразлагающих бактерий, количество органического углерода, аэробная и анаэробная деструкция органического вещества, разложение белка и целлюлозы. В итоге для анализа был подготовлен массив данных размерностью 17 строк и 14 столбцов.

Рассмотрим графики счетов (рис. 19). На графике счетов РС1-РС2

данные распределяются равномерно, отдельных групп не выявлено, так же, как и на графике счетов, описывающем экосистему воды, что подчеркивает сходство физико-химических условий и направленности процессов в исследуемых осадках заливов и контрольных участков.

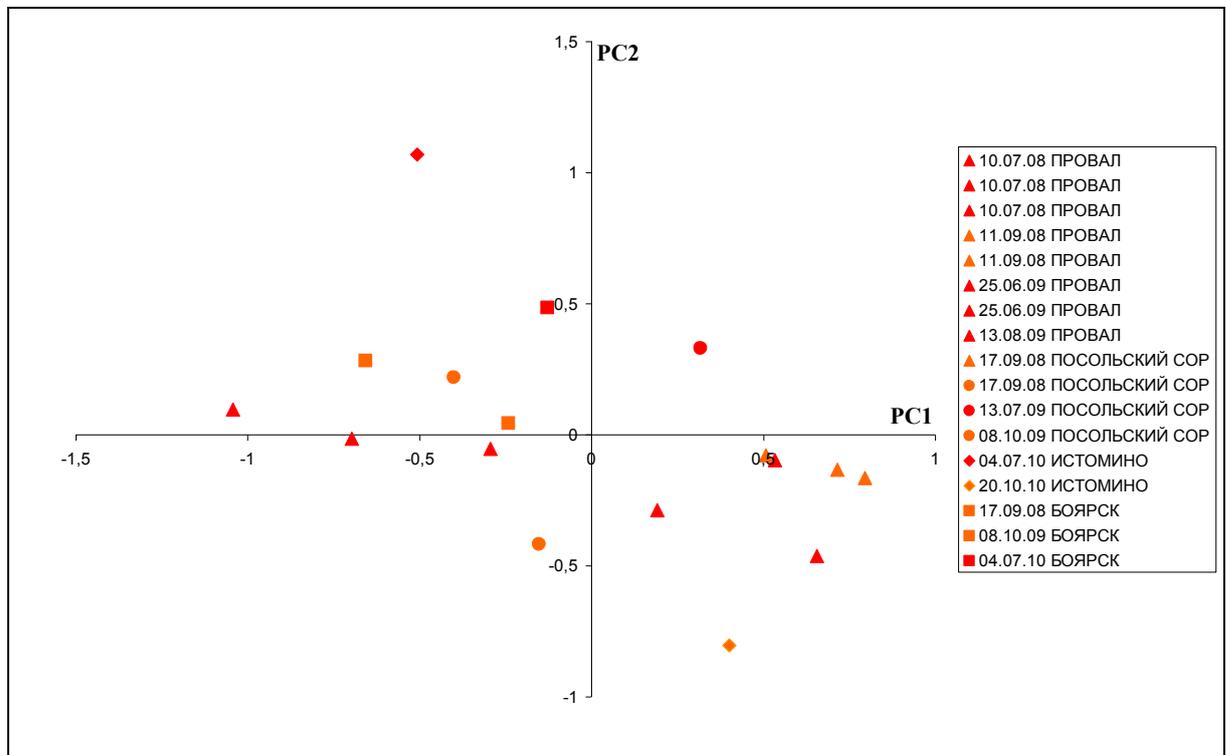


Рис.19. Распределение образцов осадков в пространстве PC1-PC2 (график счетов)

Первая главная компонента состоит из фактора общей численности микроорганизмов и объясняет 48% наблюдаемых изменений (табл. 3). Аэробная деструкция органического вещества входит во вторую компоненту и определяет 31% изменений. Минерализация и содержание гидрокарбонатов определяют третью главную компоненту, анаэробная деструкция – четвертую главную компоненту. Видно, что из четырех главных компонент первые три несут максимальную нагрузку.

Характеристика главных компонент (РС) в осадках мелководных заливов озера Байкал

Факторы	PC1	PC2	PC3	PC4
Глубина	-	-	-	-
Температура	-	-	-	-
pH	-	-	-	-
Минерализация	-	-	0,51	-
Концентрация O ₂	-	-	-	-
Концентрация HCO ₃ ⁻	-	-	0,76	-
Общая численность микроорганизмов	0,89	-	-	-
Численность сапрофитных бактерий	-	-	-	-
Численность целлюлолитических бактерий	-	-	-	-
C _{орг}	-	-	-	-
Аэробная деструкция	-	0,79	-	-
Анаэробная деструкция	-	-	-	-0,89
Разложение белка	-	-	-	-
Разложение целлюлозы	-	-	-	-
Объясненная дисперсия, %	48	31	17	2

«-» - нагрузки факторов были незначительны, составляя ≤ 0.4

На графике нагрузок (рис. 20) видно, что в осадках изученных участков озера общая численность микроорганизмов определяет экологическое состояние экосистемы, в зависимости от которой находятся все остальные исследованные факторы. В осадках параметр численности микроорганизмов играет важную роль в изменениях экосистемы, в отличие от численности микроорганизмов в воде заливов. Аэробная деструкция, превалирующая над анаэробной деструкцией, в наблюдаемых изменениях экосистем мелководных заливов также оказывает весомое влияние. В осадках

мелководных заливов микробное сообщество, осуществляющее деструкцию, выступает активным регулятором параметров экосистемы мелководных заливов озера Байкал.

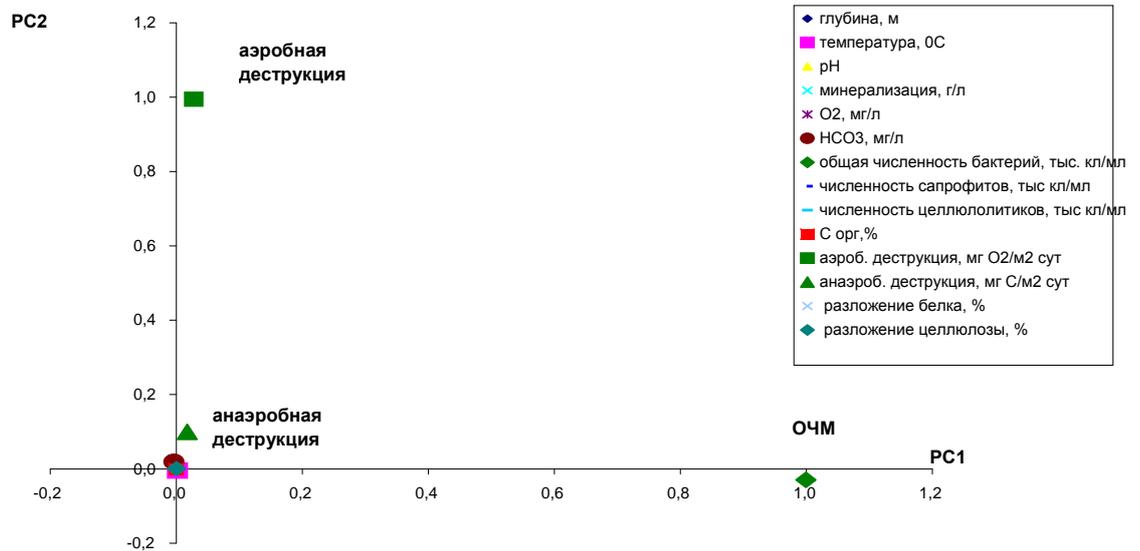


Рис. 20. Распределение факторов, влияющих на экосистему микробного сообщества осадков в пространстве PC1-PC2 (график нагрузок)

Таким образом, метод главных компонент позволил проанализировать значительный массив представленных данных и выявить главные компоненты, которые играют важную роль в исследованных участках озера Байкал. Результаты показали успешность применения этого метода для анализа большой выборки полученных данных с разными размерностями и установили его перспективность в обработке подобных массивов и наглядной оценке состояния экосистем. Главными факторами, влияющими на экосистему воды мелководья озера Байкал, являются процессы продукции и деструкции органического вещества, а также минерализация. В экосистеме осадков деструкционное звено микробного сообщества имеет определяющее значение – главными компонентами, влияющими на функционирование осадков, являются численность микроорганизмов и аэробная деструкция.

ВЫВОДЫ

1. Мелководные заливы характеризуются более высокой численностью микроорганизмов, чем фоновые прибрежные участки открытого Байкала. В воде заливов доминируют сапрофитные бактерии, что показывает их активную роль в трансформации автохтонных и аллохтонных веществ придельтовой территории реки Селенга.
2. Процессы продукции и деструкции в прибрежной воде заливов сбалансированы. Максимальные значения превышали аналогичные в фоновых участках. В осадках деструкция протекала как в аэробных, так и в анаэробных условиях, аэробная деструкция превалировала.
3. Сезонные колебания численности бактерий и в воде, и в осадках происходят в пределах одного порядка величин. Максимальные значения общей численности бактерий и сапрофитных бактерий были приурочены к летним месяцам. Пики деструкции, в целом, совпадали с пиками численности гетеротрофов.
4. Оценка разнообразия микроорганизмов мелководных заливов и фоновых участков различными методами показала, что бактериальное сообщество характеризуется большим разнообразием. В микробном сообществе доминируют представители филума Proteobacteria, субдоминантами являются представители филумов Bacteroidetes, Actinobacteria и Acidobacteria.
5. В осадках мелководных заливов озера Байкал доминируют микроорганизмы, имеющие наибольшее сходство с некультивируемыми формами с неопределенным таксономическим положением, что, возможно, предполагает их эндемичность.
6. Многофакторный анализ массивов данных показал, что главными факторами, влияющими на экосистему воды мелководья, являются процессы продукции и деструкции органического вещества, а также минерализация. В экосистеме осадков микробное сообщество имеет

определяющее значение – главными компонентами, влияющими на функционирование осадков, являются численность микроорганизмов и активность микроорганизмов деструкционного звена.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- А.Н. Афанасьев 1960. Водный баланс озера Байкал. Труды Байкальской лимнологической станции Академия наук СССР, Восточно-Сибирский филиал, т.18, с.155-241.
- Авдеев В.В., Дрюккер В.В., Моложавая О.А., Афанасьев В.А. Санитарно-микробиологическая оценка воды р. Селенги // Водные ресурсы. – 1992. - №5. – С. 122-129.
- Белькова Н.Л., Денисова Л.Я., Манакова Е.Н., Зайчиков Е.Ф., Грачев М.А. Видовое разнообразие глубоководных микроорганизмов озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК. // Докл. РАН. 1996. Т. 348. №5. С. 692-695.
- Белькова Н.Л., Денисова Л.Я., Манакова Е.Н., Зайчиков Е.Ф., Грачев М.А. Видовое разнообразие глубоководных микроорганизмов озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК. // Докл. РАН. – 1996. – Т. 348. №5. С.692-695.
- Белькова Н.Л., Парфенова В.В., Косторнова Т.Я., Денисова Л.Я., Зайчиков Е.Ф. Характеристика биоразнообразия микробного сообщества водной толщи озера Байкал. // Микробиология. 2003. Т. 72. №2. С. 239-249.
- Болдарева Е.Н., Турова Т.П., Т.В. Колганова, Москаленко А.А., Махнева З.К., Горленко В.М. Новая аэробная бактериохлорофилл а-содержащая бактерия *Roseococcus suduntuensis* sp.nov., выделенная из слабоминерализованного содового озера Восточной Сибири.
- В.В. Алешин Молекулярные методы учета биоразнообразия). (Разнообразие микробных сообществ внутренних водоемов России: учебно-методическое пособие. – Ярославль: Изд-во ООО «Принтхаус», 2009. 115 с. С. 5-39.
- Верболов В.И., Сокольников В.М., Шимараев М.Н. Гидрометеорологический режим и тепловой баланс Байкала. М. – Л. «Наука, 1965. 373 с.»
- Верещака А.Л. Глубоководная бентопелагиаль: жизнь у дна. –М.: Научный мир, 2000. – 240 с
- Вотинцев К.К. О роли фотосинтетической аэрации в круговороте органического вещества в озере Байкал // Докл. АН СССР. – 1961. - Т. 39. - №1. – С.211-213
- Вотинцев К.К., Поповская Г.И, Мазепова Г.Ф. Физико-химический режим и жизнь планктона Селенгинского района озера Байкал. М.: Изд-во АН СССР. 1963. 323 с.
- Выхристюк Л.А. Органическое вещество донных осадков Байкала. – Новосибирск: Наука, 1980. – 80 с.
- Гельцер Ю.Г. Биологическая диагностика почв. М.: Изд-во МГУ, 1986. 80 с.

Гидрохимия // Проблемы Байкала / Отв. ред. Г.И. Галазий, К.К. Вотинцев. – Новосибирск, 1978. – С. 124-144. – Тр. / АН СССР. Сиб. отд-ние, Т.16 (36).]

Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. – Москва. Мир, - 2002, - 589 с.

Гордеев В.В., Лисицын А.П. Средний химический состав взвеси рек мира и питание океанов речным осадочным материалом // Докл. АН СССР. 1978. Т. 238. № 1. С. 255–258.

Горленко В. М., Дубинина Г. А., Кузнецов С. И. 1977. Экология водных микроорганизмов. М, изд. «Наука», 288 с].

Гранина Л.З. Аномалии состава поровых вод донных осадков Байкала. Л.З. Гранина Е. Каллендер, И.С. Ломоносов, В.Д. Матц // Геология и геофизика. – 2001. – Вып 42. С. 362-372.

Грачев М.А., Кузнецова С.Ю., Щербакова Т.А. Метод выделения высокоочищенной ДНК для использования в полимеразной цепной реакции. // Молекулярная биология. 2006. Т. 40. № 1. С. 180–183.

Дагурова О.П., Козырева Л.П., Намсараев Б.Б. Влияние микроорганизмов мелководных осадков озера Байкал на качество воды // Фундаментальные проблемы воды и водных ресурсов на рубеже третьего тысячелетия: Материалы Международной научной конференции – Томск, 3-7 сентября 2000. - Томск, 2000. – С 508-511.

Денисова Л.Я., Белькова Н.Л., Тулохонов И.И., Зайчиков Е.В. Биоразнообразие бактерий на различных глубинах Южной котловины озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК // Микробиология. 1999. Т. 68. № 4. С. 475–483.

Денисова Л.Я., Белькова Н.Л., Тулохонов И.И., Зайчиков Е.Ф. Биоразнообразие бактерий на различных глубинах южной котловины озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК. // Микробиология. – 1999. – Т. 68, №4. – С. 547-556.).

Денисова Л.Я., Белькова Н.Л., Тулохонов И.И., Зайчиков Е.Ф. Биоразнообразие бактерий на различных глубинах южной котловины озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК. // Микробиология. 1999. Т. 68. №4. С. 475-483.

Дроздов В.Н., Сергеева В.Н., Максименко С.Ю., Земская Т.И. Компьютерная система учета изображений флуоресцентно-окрашенных бактерий // Микробиология. 2006. Т. 75. № 6. С. 751–754.

Емельянов Е.М. Барьерные зоны в океане. Калининград: Янтарный Сказ, 1998. 416 с.

Кияшко С.И., Козлова М.А., Ришар П. и др. Соотношение стабильных изотопов углерода выявляют автотрофов, поддерживающих разнообразие животных в озере Байкал// матер 2-й Верещагинской Байкальской конф. - Иркутск, 1995. С. 80-81

Князева Л.М. Осадкообразование в озерах влажной зоны СССР. Южный Байкал// Образование осадков в современных водоемах. - М, 1954. С. 180-236

Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. - М.: Наука, 1989. - 288 с.

Кузнецов С.И., Романенко В.И. Микробиологическое изучение внутренних водоемов. М - Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1963. С. 129.

Кузьмин М.И. Байкальский проект – основные результаты реализации // Вестник РАН. -2000. –Т.70. -№2. – С. 109-116

Лаптева Н.А., Афанасьев В.А. Микрофлора озера Байкал // Биология внутренних вод. – 1988. – Т. 80. – С. 5-13.).

Лисицын А.П. Маргинальный фильтр океанов // Океанология. 1994. Т. 34. № 5. С. 735–147.

Максименко С.Ю., Земская Т.И., Дроздов В.Н., Наумова Е.Ю. Анализ структуры бактериопланктона методом гибридизации *in situ* в районах оз. Байкал, разных по экологической обстановке // Молодежная школа-конференция “Актуальные аспекты современной микробиологии”. М.: Макс-Пресс, 2005. С. 30.

Максимов В.В., Щетинина Е.В., Крайкивская О.В., Максимов В.Н., Максимова Э.А. Структура микробиоценозов как основа классификации и мониторинга состояния речных и приустьевых локальных экосистем Байкала // Микробиология. 2002. Т. 71. № 5. С. 690–696.

Максимов В.Н., Булгаков Н.Г., Милованова Г.Ф., Левич А.П. Детерминационный анализ в экосистемах: сопряженности для биотических и абиотических компонентов // Известия АН. Серия биологическая. 2000. С. 482-491.

Максимова Э.А., Максимов В.В. Микробиология вод Байкала. Изд-во Иркутского университета, 1989. 156 с.

Максимова Э.А., Максимов В.Н. Микробиология вод Байкала. Иркутск: Издательство Иркутского университета, 1989. – 168 с.

Максимова Э.А., Максимов В.Н. Микробиология вод Байкала. Иркутск: Издательство Иркутского университета, 1989. – 168 с.

Маниатис Е., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир. 1984. 480 с.

Мицкевич И.Н., Намсараев Б.Б. Численность и распределение бактериопланктона в Карском море в сентябре 1993 г. // Морская биология. 1994. Т. 34. № 5. С. 704–708.

Н.М. Давиденко. Актуальные вопросы геоэкологии, Отв редактор А.Н. Дмитриевский, Москва ГЕОС 2003)

Намсараев Б.Б., Земская Т.И. Микробиологические процессы круговорота углерода в донных осадках озера Байкал. – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2000. – 160 с.

Намсараев Б.Б., Земская Т.И. Микробиологические процессы круговорота углерода в донных осадках озера Байкал. – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2000. – 160 с.

Намсараев Б.Б., Земская Т.И., Дагурова О.П., Гайнутдинова Е.А., Шубенкова О.В., Егоров А.В. Бактериальное окисление метана в озере Байкал // Труды Института микробиологии РАН им. С.Н. Виноградского. Вып. 13: К 100-летию открытия метанотрофии / [отв. ред. В.Ф. Гальченко] – М.: Наука, 2006. – С. 113-146

Поповская Г.И. О фитопланктоне пелагиали Байкала // Круговорот вещества и энергии в озерных водоемах. АН СССР: СО Лимнологический институт, 1975. С. 16–20.

Поповская Г.И., 1973, Богоявленский Б.А. 1974, Авдеев В.В., Дрюккер В.В., Моложавая О.А., Афанасьев В.А., 1992.

Проблемы Байкала / Отв. ред. Г.И. Галазий, К.К. Вотинцев. - Новосибирск: Наука, 1978. – 295 с

Продуктивность Байкала и антропогенное изменение его природы. – Иркутск: Иркутский ун-т, 1974. – 328 с..

Разнообразие микробных сообществ внутренних водоемов России: учебно-методическое пособие. – Ярославль: Изд-во ООО «Принтхаус», 2009. 115 с.

Ришар П. Кияшко С.И, Козлова Т.А. Анализ стабильных изотопов углерода и азота в планктонных и бентосных трофических цепях озера Байкал// Матер 2-й Верещагинской Байкальской конф. - Иркутск, 1995. С. 167-168.

Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов: лабораторное руководство. – Л.: Наука, 1974. - 194 с.

Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. М.: Наука, 1974. 194 с.

Россолимо Л.Л. Температурный режим озера Байкал. – «Тр. Байкальской лимнолог. Ст.», М. 1957, т 16. 551 с.

Семенова Е.А. Кузнецов К.Д. Изучение видового разнообразия пикопланктона озера Байкал путем сравнительного анализа 5' - концевых участков генов 16S рРНК // Молекулярная биология. – 1998. Т. 32. №5. – С. 895-901).

Сороковикова Л.М., Синюкович В.Н., Голобокова Л.П., Чубаров М.П.

Формирование ионного стока р. Селенги в современных условиях // *Вод. ресурсы*. 2000. Т. 27. С. 560–565.

Сороковикова Л.М., Синюкович В.Н., Дрюккер В.В. Экологические особенности реки Селенги в условиях аводнения // *География и природные ресурсы*. – 1995. - №2. – С. 64-71.

Тулохонов, Байкал: природа и люди: энц.справочник.2009.

Фуджи С., Накамура Т., Каваи Т., Сакаи Х. Скорости осадконакопления в озере Байкал // *Байкал – природная лаборатория для исследования изменений окружающей среды и кли* Выхристюк Л.А. О поступлении и распределении основных биогенных элементов в донных отложениях Байкала // *Литология и полезные ископаемые*. – 1977. - №1. – С.54-65матa: Тез. Докл. – Иркутск, 1994. – Вып.3.

Шерстянкин П.П. Динамика вод Селенгинского мелководья в начале лета по данным распределения оптических характеристик и температуры воды // *Элементы гидрометеорологического режима озера Байкал*. М.-Л.: Наука, 1964. С. 29–37.

Шимараев М.Н., Парфенова В.В., Косторнова Т.Я., Домышева В.М., Гнатовский Р.Ю., Жданов А.А., Цехановский В.В., Логачева Н.Ф., Левин Л.А. Процессы обмена и распределения микроорганизмов в глубинной зоне озера Байкал // *Докл. Академии наук*. 2000. Т. 372. № 1. С. 138–141.

Шубенкова О.В., Земская Т.И., Черницына С.М., Хлыстов О.М., Трибой Т.И. Первые результаты исследования филогенетического разнообразия микроорганизмов осадков Южного Байкала в районе приповерхностного залегания гидратов метана // *Микробиология*. – 2005. Т. 74. №3. – С. 370-377.

Amann R. I., Ludwig W., Schleifer K.H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation // *Microbiol. Rev.* 1995. V. 59. P. 143–169.

Bouvier T., Giorgio P.A. Factors influencing the detection of bacterial cells using fluorescence in situ hybridization (FISH): A quantitative review of published reports // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2003. V. 44. P. 3–15.

del Giorgio P.A., Bouvier T. Linking the physiologic and phylogenetic successions in free-living bacterial communities along an estuarine salinity gradient // *Limnol. Oceanogr.* 2002. V. 47. P. 471–486.

DeLong E.F., Wickham G.S., Pace N.R. Phylogenetic stains: ribosomal RNA-based probes for the identification of single cells // *Science*. 1989. № 243. P. 1360–1363.

Eiler A., Farnleitner A.H., Zechmeister T.C., Herzig A., Hurban C., Wesner W., Krachler R., Velimirov B., Kirschner A.K.T. Factors controlling extremely productive heterotrophic bacterial communities in shallow soda pools//*Microb. Ecol.* 2003. V.46. P. 43-54.

Eiler A., Farnleitner A.H., Zechmeister T.C., Herzig A., Hurban C., Wesner W., Krachler R., Velimirov B., Kirschner A.K.T. Factors controlling extremely productive heterotrophic bacterial communities in shallow soda pools//*Microb. Ecol.* 2003. V.46. P. 43-54.

Geladi P. Analysis of multiway (multimode) data// *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 1989.V.7. P.11-30.

Glockner F.O., Fuchs B.M., Amann R. Bacterioplankton compositions of lakes and oceans: a first comparison based on fluorescence in situ hybridization // *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. V. 65. P. 3721–3726.

Grant W.D., Jones B.E., Mwatha W.E. Alkaliphiles: ecology, diversity and applications//*FEMS Microbiol. Rev.* 1990. V.75. P.255-270.

Duckworth A.W., Grant W.D., Jones B.E., van Steenberg R. Phylogenetic diversity of soda lake alkaliphiles// *FEMS Microbiol. Ecol.* 1996. V.19. P.181-191.

Zavarzin G.A., Zhilina T.N., Kevbrin V.V. Alkaliphilic microbial community and its functional diversity// *Microbiology.* 1999. V.68. P.579-600.

Hakansson, S. (1985). A review of various factor influencing the stable carbon isotope ratio of organic lake sediments by the change from glacial to post glacial environmental conditions. *Quat. Sci. Rev.* 4, 135-146.

Hubert M., Engelen S. Robust PCA and classification in biosciences// *Bioinformatics.* 2004. V.20. P. 1728-1736.

Kenzaka T., Yamaguchi N., Tani K., Nasu M. rRNA-targeted fluorescent in situ hybridization analysis of bacterial community structure in river water // *Microbiology (UK).* 1998. V. 144. P. 2085–2093.

Llobet-Brossa E., Roselo-Mora R., Amann R. Microbial community composition of Wadden Sea sediments as revealed by fluorescence in situ hybridization // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. V. 64. P. 2691–2696.

Namsaraev B.B., Namsaraev Z.B. Microbial processes of carbon cycles in alkaline lakes of Transbaikalian region and Mongolia// *Proceedings of Winogradsky Institute of microbiology.* 2007.V.14. P.299-322.

Pernthaler A., Preston C.M., Pernthaler J., Delong E.F., Amann R. Comparison of fluorescently labeled oligonucleotide and polynucleotide probes for the detection of pelagic marine bacteria and archaea // *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. V. 68. P. 661–667.

Pernthaler J., Gloockner F.O., Unterholzner S., Alfreider A., Psenner R., Amann R.
Seasonal community and population dynamics of pelagic Bacteria and Archaea in a high
mountain lake // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. V. 64. P. 4299–4306.

Pfenning N., Lippert K.D. Über vitamin B₁₂-Bedürfnis phototropher Schwefelbakterien
// *Arch. Microbiol.* – 1996. – V.55. – 3. P. 245-266.

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular Cloning. A laboratory Manual* // Cold
Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. Vol. 1,2,3.

VanGuilder H.D., Vrana K.E., Freeman W.M. Twenty-five years of quantitative PCR for
gene expression analysis. *Biotechniques*, 44,2008,P. 619-626.

Winkler L.W. Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. // *Chem. Ber.*
1888, v. 21, pp. 2843-2855.

Zavarzin G.A. Development of soda environments as a global process// *Proceedings of*
Winogradsky Institute of microbiology. 2007.V.14. P.8-57.

Zavarzin G.A. Epicontinental soda lakes as probable relict biotopes of terrestrial biota
formation// *Microbiology.* 1993. V.62. P.473-479.