

Сезонные и пространственные вариации численности аммонифицирующих и денитрифицирующих бактерий в сообществах планктона и эпилитона литорали оз. Байкал

Г. В. ПОДЛЕСНАЯ, М. Ю. СУСЛОВА, Ю. Р. ШТЫКОВА, И. В. ТОМБЕРГ, Е. В. ЕЛЕЦКАЯ,
О. А. ТИМОШКИН, О. И. БЕЛЫХ

*Лимнологический институт СО РАН
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3
E-mail: suslova@lin.irk.ru*

Статья поступила 05.02.2021

После доработки 27.04.2021

Принята к печати 29.04.2021

АННОТАЦИЯ

Представлены результаты исследования численности индикаторных групп бактерий круговорота азота в планктоне и эпилитоне литорали оз. Байкал в весенний и осенний периоды 2017–2019 гг. Показано, что численность аммонифицирующих бактерий (АБ) в водах озера колебалась от 25 до $6,0 \times 10^5$ кл/мл, в эпилитических биопленках – от $3,5 \times 10^3$ до $9,5 \times 10^6$ кл/см². Высокую численность АБ обнаруживали на станциях, подверженных антропогенному воздействию как свидетельство активного процесса минерализации азотсодержащего органического вещества. Максимальная численность АБ как в водной толще, так и в биопленках каменистых субстратов выявлена в июне 2017 г. в акватории г. Северобайкальска. Средняя численность АБ за трехлетний период исследований в водной толще в июне составила $(5,0 \pm 2,8) \times 10^2$ кл/мл, в сентябре – $(6,0 \pm 1,3) \times 10^2$ кл/мл, в эпилитических биопленках в июне была на порядок ниже, чем в сентябре, – $(3,4 \pm 1,2) \times 10^4$ кл/см² и $(2,6 \pm 1,4) \times 10^5$ кл/см² соответственно. Численность денитрифицирующих бактерий (ДБ) в воде изменялась от 0 до 60 кл/мл, в эпилитических биопленках – от 6 до $2,5 \times 10^3$ кл/см². Наиболее высокую численность ДБ в эпилитоне определяли в течение всего периода исследований в июне на станции в районе м. Елохин. Средняя численность ДБ за трехлетний период исследований в водной толще в июне составила 13 ± 4 кл/мл, в сентябре – 7 ± 6 кл/мл, в эпилитических биопленках – $(7,9 \pm 2,4) \times 10^2$ кл/см² и $(4,8 \pm 0,5) \times 10^2$ кл/см² соответственно. Установлено, что количество планктонных АБ положительно коррелирует с содержанием ионов аммония, количество ДБ прямо зависит от концентрации нитратов и обратно – от нитритов на некоторых станциях.

Ключевые слова: круговорот азота, аммонифицирующие бактерии, денитрифицирующие бактерии, метод НВЧ, качество воды, оз. Байкал.

Азот является одним из основных биогенных элементов, необходимых для функционирования всего живого. Он входит в структурный состав белков, аминокислот, ДНК и РНК, многих других простых и сложных молекул. Биогеохимический круговорот азота представляет собой ключевой механизм фор-

мирования качества воды – от количества азотсодержащих соединений зависит общая продуктивность водоема. Основные его формы в пресных водах включают растворенный молекулярный азот (N_2), ион аммония (NH_4^+), нитрит (NO_2^-), нитрат (NO_3^-) и большое количество органических соединений (амино-

кислоты, амины, нуклеотиды, белки и др.) [Кузнецов, 1985; Wetzel, 2001]. Избыточное поступление азота в водоемы приводит к их эвтрофированию, вызывая массовое развитие водорослей и цианобактерий, ухудшение качества воды, сокращение биоразнообразия [Paerl, 1997].

Трансформация азотсодержащих соединений в водных экосистемах осуществляется в результате деятельности аммонифицирующих (АБ), денитрифицирующих (ДБ) и нитрифицирующих бактерий, которые могут выступать в роли биоиндикаторов, реагируя на изменение качества водной среды. Микробиологические процессы, связанные с круговоротом азота в водоеме, как правило, разделяют на три основные группы: фиксация свободного азота, вследствие которой водоем обогащается связанным азотом; превращение одних форм азота в другие; процессы, приводящие к обеднению водоема связанным азотом. В озерах разного трофического статуса гидрохимические и гидрофизические условия среды обитания значительно различаются, что сказывается на распределении микроорганизмов по экологическим нишам и на интенсивности микробиологических процессов [Горленко и др., 1977]. В настоящее время в связи с усилением антропогенного воздействия на водоемы исследование бактерий круговорота азота является особенно актуальным. Так, например, проведено исследование сезонного и пространственного изменения количества АБ и ДБ в ряде озер на северо-востоке Китая. Установлено, что физико-химические параметры среды тесно связаны с распределением исследуемых групп бактерий, а на их численность значительно влияет концентрация азотсодержащих веществ [Zhao et al., 2015]. В озерах Архангельской области изучена пространственно-временная динамика неорганических и органических форм азота и микроорганизмов, участвующих в их круговороте. Показано, что наиболее активно протекают процессы аммонификации, менее интенсивно – нитрификации и денитрификации [Воробьева и др., 2012]. В озерах Камчатского края обнаружены нарушение круговорота азота и слабая самоочищающая способность водной среды. В исследуемых озерах полноценно протекает аммонификация, а стадии нитрификации и денитрификации наруше-

ны, как следствие, в водной среде преобладает аммонийная форма азота [Кузякина, Хурина, 2007; Голованева, Ступникова, 2020].

Озеро Байкал – крупнейший и древнейший пресный водоем в мире. Вдоль всего западного побережья озера на сотни километров тянется полоса каменистой литорали, охватывающая глубины до 15–20 м, за которыми далее следует крутой свал [Кожов, 1962]. По результатам многолетних наблюдений водные массы пелагиали Байкала относят к олиготрофному типу [Khodzher et al., 2017]. В прибрежных участках озера в последнее время наблюдаются крупномасштабные изменения: повышенное содержание биогенных веществ в воде, включая органический и минеральный азот, изменение структуры и поясности фитобентоса, массовая гибель эндемичных губок и моллюсков, интенсивное развитие нитчатых водорослей и цианобактерий, в том числе и токсин-продуцирующих [Kravtsova et al., 2014; Timoshkin et al., 2016; Белых и др., 2017; Khodzher et al., 2017; Timoshkin, 2018; Afonina, 2021]. По мнению исследователей, происходящие изменения обусловлены прежде всего поступлением неочищенных стоков, токсичных промышленных загрязнителей, ростом туристической активности.

Основные процессы круговорота веществ в мелководной части озера происходят с участием микробного сообщества биопленок, сформированных на каменистых субстратах, называемого эпилитомом. Первые сведения о бактериях, участвующих в превращениях азотсодержащих соединений в литорали Южного Байкала, представлены в работах А. Г. Родиной и А. П. Романовой [Родина, 1954; Романова, 1961]. В 80-х годах XX в. проведено изучение распределения микроорганизмов круговорота азота в водной толще по всей пелагиали озера. Установлено, что планктонные микроорганизмы, участвующие в цикле азота, сильно рассеяны в пространственном отношении, интенсивность всех процессов слабая [Верхозина, 1985]. В последние годы эколого-микробиологические исследования в литоральной зоне Южного Байкала показали, что микробные сообщества эпилитических биопленок реагируют на изменения условий среды обитания уменьшением или увеличением численности различных физиологических групп и являются хорошими индикаторами при изучении уровня

антропогенной нагрузки на экосистему озера. Выявлено, что в районах значительного антропогенного влияния число органотрофных микроорганизмов на порядок выше, чем в фоновом районе [Суслова и др., 2018].

Цель данной работы – оценить сезонные и пространственные вариации численности культивируемых физиологических групп бактерий круговорота азота в сообществах планктона и эпилимниона литорали озера Байкал в районах с различной антропогенной нагрузкой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили пробы воды и эпилимнических биопленок, отобранные в литоральной зоне оз. Байкал. Отбор проб осуществляли в ходе кругобайкальских экспедиций, проходивших в июне и сентябре 2017–2019 гг. Исследовали районы южной и северной котловин озера: напротив пос. Листвянка ($51^{\circ}50'41,92''$ с. ш., $104^{\circ}52'31,04''$ в. д.), напротив пос. Большое Голоустное ($52^{\circ}1'36,30''$ с. ш., $105^{\circ}24'16,20''$ в. д.), в бухте Пещерка ($53^{\circ}51'12,53''$ с. ш., $108^{\circ}39'40,68''$ в. д.), в районе м. Елохин ($54^{\circ}32'29,76''$ с. ш., $108^{\circ}39'39,42''$ в. д.), г. Северобайкальске, напротив городского пляжа ($55^{\circ}37'49,8''$ с. ш., $109^{\circ}21'1,7''$ в. д.). Бухта Пещерка расположена на Большом Ушканьем острове, который входит в состав Забайкальского национального парка, м. Елохин находится на территории самого крупного заповедника озера Байкал – Байкало-Ленского (рис. 1). Стоит отметить, что в июне 2015 г. наблюдался пожар на острове Большой Ушкань, а осенью 2016 г. масштабные пожары в районе м. Елохин практически уничтожили прибрежную тайгу.

На каждой станции пробы воды отбирали с лодки в поверхностном (0,1 м) и придонном (0,1 м от дна) горизонтах. Придонную воду отбирали с помощью специального устройства [Лухнев, Тимошкин, 2019], глубина в месте отбора варьировала от 1 до 1,5 м. Камни помещали в стерильные контейнеры, которые наполняли окружающей их водой с целью предотвращения высыхания. Все образцы отбирали в трех повторностях.

Химический анализ проводили по методикам, общепринятым в гидрохимии пресных вод [Wetzel, Likens, 2000; Руководство..., 2009]. Температуру измеряли электронным

термометром, величину pH определяли с помощью pH-метра «Эксперт-pH» («Эконик-эксперт», Россия). Для химического анализа пробы воды фильтровали через мембранные фильтры («Advantec», Япония) с диаметром пор 0,45 мкм. Содержание нитратов и нитритов измеряли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии («ЭкоНова», Россия) с УФ-детектированием на колонке с обращенной фазой, модифицированной октадецилтриметиламмония бромидом [Khodzher et al., 2016]. Определение концентрации ионов аммония проводили на спектрофотометре UNICO (США) с индофенолом.

Подготовку проб эпилимнических биопленок для микробиологического исследования проводили следующим образом: с поверхности камня площадью 1 см^2 стерильным скальпелем делали соскоб в пробирку с 10 мл стерильного физиологического раствора, закрывали резиновой пробкой и тщательно встряхивали ее в течение 10 мин. Полученную суспензию использовали для приготовления ряда последовательных десятикратных разведений, из которых производили высев на селективные среды.

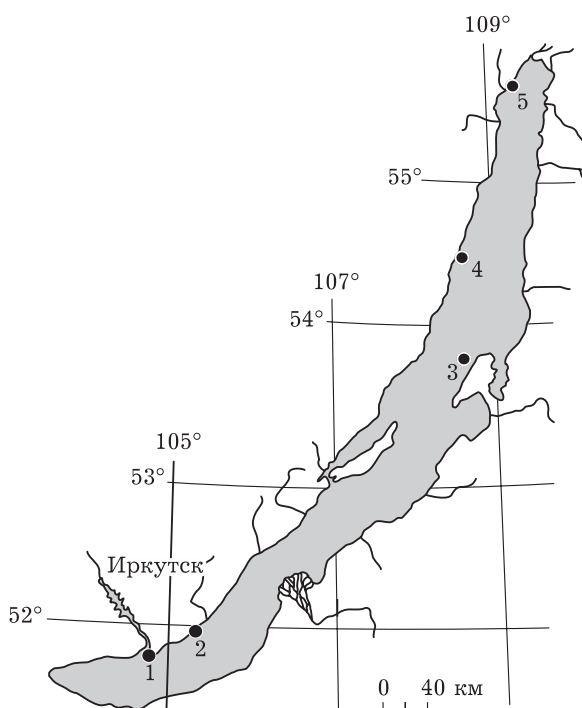


Рис. 1. Карта-схема станций отбора проб в прибрежной зоне оз. Байкал: 1 – напротив пос. Листвянка; 2 – напротив пос. Большое Голоустное; 3 – в бухте Пещерка; 4 – в районе м. Елохин; 5 – в г. Северобайкальске, напротив городского пляжа

Численность ДБ определяли методом предельных разведений в жидкой среде Гильтая. В пробирки со средой помещали стеклянный поплавок, запаянным концом кверху, по окончании опыта отмечали накопление газа в поплавке и изменение цвета среды с зеленого на синий как показателя увеличения рН в результате восстановления окисленных форм азота. Численность АБ определяли методом предельных разведений в пептонной воде. Накопление NH_3 в среде устанавливали при помощи реактива Несслера [Родина, 1965].

Статистический анализ данных. Для микробиологических данных рассчитывали такие статистические показатели, как среднее значение и стандартное отклонение. Для выявления зависимости между признаками применяли коэффициент корреляции Пирсона. Оценку различий между двумя независимыми выборками проводили с помощью критерия Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Температура, рН и минеральные формы азота. В прибрежных водах озера в период исследования величина рН изменялась в июне от 7,64 до 9,20, в сентябре – от 7,69 до 8,52. Температура воды в июне варьировала от 3,8 до 14,2 °С, в сентябре – от 6,9 до 13,4 °С. Для 80 % проб отмечено, что температура воды в сентябре в среднем на 4 °С выше, чем в июне. Нитриты в большинстве случаев либо не регистрировались, либо содержались в небольших количествах, до 1 мкг N/л. Высокая концентрация нитритов (5 мкг N/л) выявлена в июне 2017 г. на станции м. Елохин в придонной воде, в сентябре 2018 г. – на станциях м. Елохин и г. Северобайкальска в поверхностной (3 и 5 мкг N/л соответственно) и придонной (4 и 7 мкг N/л соответственно) воде. Концентрации аммонийного азота в основном были небольшие: в поверхностном горизонте – до 0,027 мг N/л, в придонном – до 0,032 мг N/л. Максимальную концентрацию аммония наблюдали в пробах придонной воды на станции м. Елохин в сентябре 2017 г. – 0,045 мг N/л. Нитратный азот в 2017 г. во всех пробах детектировали в небольших количествах – от 0,01 до 0,05 мг N/л. В 2018 г. концентрация нитратов составляла от 0,01 до 0,15 мг N/л, максимальные зна-

чения обнаружены в июне в пробах поверхностной воды на станциях зал. Лиственничный (0,10 мг N/л) и м. Елохин (0,15 мг N/л). В 2019 г. концентрация нитратов варьировала от 0,01 до 0,16 мг N/л, наиболее высокие значения регистрировали в июне в придонном слое воды на станциях зал. Лиственничный (0,16 мг N/л) и м. Елохин (0,13 мг N/л) и в сентябре в поверхностной и придонной воде на станции м. Елохин (0,10 и 0,11 мг N/л соответственно).

Наблюдаемое увеличение концентраций минеральных форм азота в прибрежных водах озера на отдельных участках литорали свидетельствует о загрязнении вод. Район м. Елохин – заповедная и малопосещаемая территория. Тот факт, что именно здесь обнаружены высокие концентрации нитритного азота (до 5 мкг N/л) и в июне, и в сентябре, свидетельствует о загрязнении. Причиной нитритного загрязнения могут быть как сами пожары – источники органического и неорганического азота, так и их последствия – интенсивное развитие водорослей *Spirogyra* и *Ulothrix*, ранее не свойственных для Байкала, и их активное разложение. Также нами отмечено увеличение значений нитритов, являющихся промежуточным продуктом минерализации, на станции вблизи г. Северобайкальска в осенний сезон. Вследствие сброса недостаточно очищенных сточных вод прибрежная зона Байкала в окрестностях города является районом массовой круглогодичной вегетации чужеродной спирогиры [Timoshkin et al., 2016; Timoshkin, 2018]. В период открытой воды огромное количество этой нитчатой водоросли выбрасывается на пляжи, перегнивает и смывается в Байкал осенними штормами. Этот фактор, очевидно, является ключевым при загрязнении данной акватории биогенными элементами, в частности нитритами. Более высокие концентрации нитратов, регистрируемые в прибрежных водах на станции зал. Лиственничный, могут быть обусловлены поступлением загрязненных подземных вод [Сутурин и др., 2016; Куликова и др., 2017], а также влиянием вод р. Большая Черемшанка, впадающей в озеро в непосредственной близости от места отбора проб. Другие исследователи отмечали, что состав вод на участках рек, пролегающих непосредственно в границах поселка, претерпевает значительные измене-

ния – концентрации минеральных форм азота и фосфора в воде рек ближе к устью увеличиваются в несколько раз по сравнению с их содержанием выше поселка и зачастую не соответствуют нормативам качества вод согласно требованиям СанПин [Мальник и др., 2019]. Общеизвестно, что пос. Листвянка является портом приписки для нескольких десятков кораблей и моторных лодок, что также способствует загрязнению акватории сточно-бытовыми отходами. Тем не менее следует отметить, что концентрации химических компонентов в озерной воде на всех исследуемых станциях не превышали нормативы.

Численность АБ. Микробиологические показатели наряду с гидрохимическими параметрами позволяют судить об интенсивности и эффективности самоочищения водоемов. Анализ количества АБ, разлагающих азотсодержащие органические вещества до аммиака, в пробах воды литоральной зоны оз. Байкал показал значимые различия ($p < 0,05$) между поверхностным и придонным слоями – в 67 % проб численность АБ в придонной воде выше, чем в поверхностной. При сравнении численности АБ в воде в разные сезоны (июнь и сентябрь) достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$), в разные годы значимо отличался сентябрь 2018 г. ($p < 0,05$). Так, на станциях напротив пос. Большое Голоустное и м. Елохин в поверхностной и придонной воде численность АБ на порядки выше в 2018 г. (рис. 3). Мы полагаем, что высокая численность АБ на этих станциях обусловлена сильным волнением во время отбора проб в прибрежье, которое привело к взмучиванию донных отложений и увеличению доступного органического вещества.

Сравнение численности АБ в водной толще на исследуемых станциях показало, что в июне их количество значимо выше на станциях в зал. Лиственничный ($p < 0,01$), около г. Северобайкальска ($p < 0,01$) и пос. Б. Голоустное ($p < 0,05$), в сентябре значимых различий не обнаружено ($p > 0,05$). Максимальные количества АБ (кл/мл) выявлены в июне 2017 г. на станции г. Северобайкальска в пробах поверхностной и придонной воды – $(2,5 \pm 0,5) \times 10^5$ и $(6,0 \pm 1,8) \times 10^5$ соответственно (см. рис. 3).

Известно, что столь высокая численность АБ в весенне-летний период (в пределах 10^5)

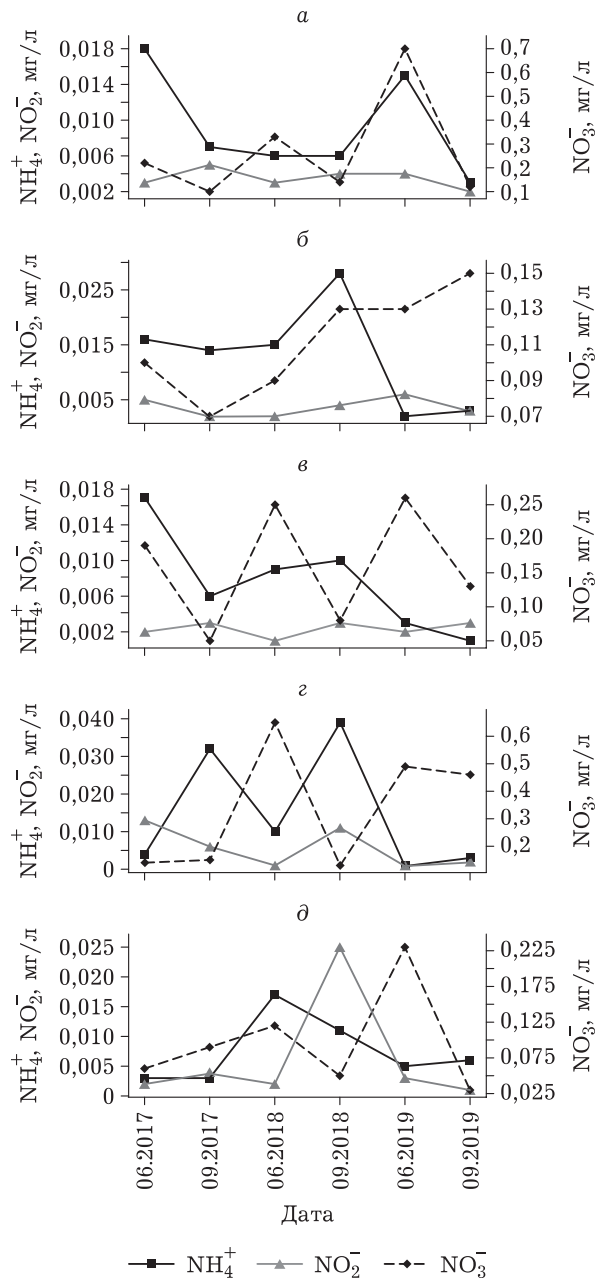


Рис. 2. Сезонная динамика концентраций минерального азота в прибрежных водах оз. Байкал, 2017–2019 гг. Станции: а – напротив пос. Листвянка, б – напротив пос. Большое Голоустное, в – в бухте Пещерка, г – в районе м. Елохин, д – г. Северобайкальск, напротив городского пляжа

характерна для эвтрофных озер [Zhao et al., 2015]. В целом количественные показатели АБ в прибрежных водах озера (10^1 – 10^3) сопоставимы с мезотрофными озерными экосистемами [Воробьева и др., 2012]. Средняя численность АБ (кл/мл) в водной толще литоральной зоны озера за трехлетний период исследова-

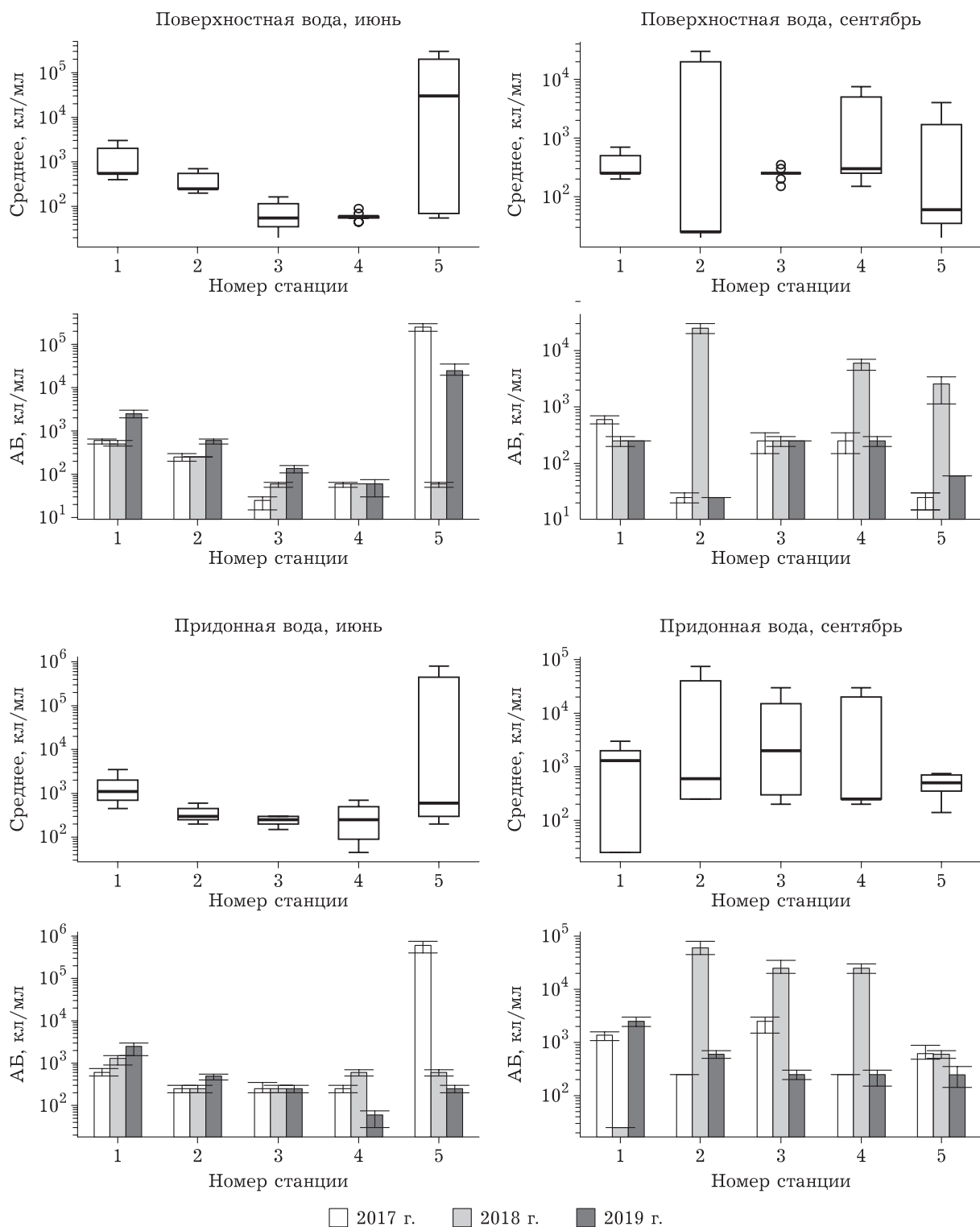


Рис. 3 (начало)

ний в июне составила $(5,0 \pm 2,8) \times 10^2$, в сентябре – $(6,0 \pm 1,3) \times 10^2$.

В эпилимноте высокую численность АБ отмечали на станциях, подверженных интен-

сивной антропогенной нагрузке: зал. Лиственничный, напротив пос. Б. Голоустное, г. Северобайкальск (см. рис. 3). Максимальные количества АБ (к/л/см²) выявлены на станции

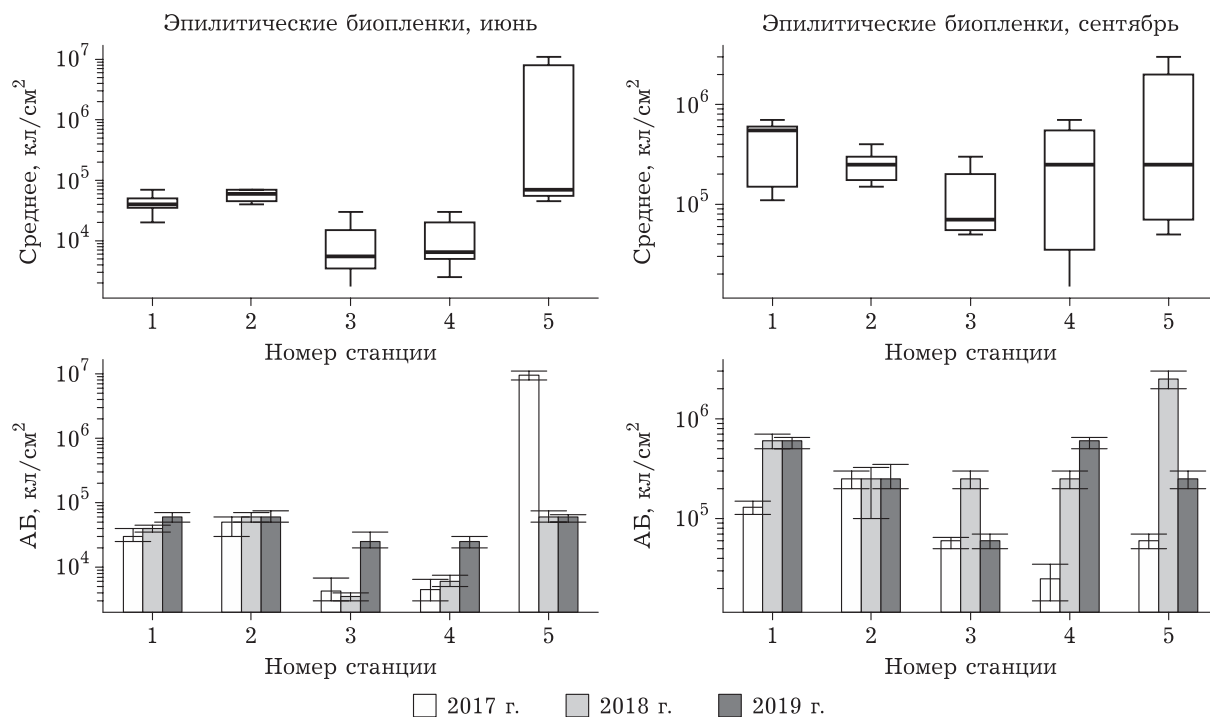


Рис. 3 (окончание). Численность АБ в сообществах планктона и эпилитона литорали оз. Байкал в июне и сентябре 2017–2019 гг. Станции: 1 – напротив пос. Листвянка, 2 – напротив пос. Большое Голоустное, 3 – в бухте Пещерка, 4 – в районе м. Елохин, 5 – г. Северобайкальск, напротив городского пляжа

вблизи г. Северобайкальска – $(9,5 \pm 1,5) \times 10^6$ (июнь 2017 г.), $(2,5 \pm 0,5) \times 10^6$ (сентябрь 2018 г.), минимальные – на станции в бухте Пещерка – $(4,3 \pm 2,2) \times 10^3$ (июнь 2017 г.), $(3,5 \pm 0,5) \times 10^3$ (июнь 2018 г.). Средняя численность АБ (кл/см²) в эпилитических биопленках за трехлетний период исследований в июне была на порядок ниже, чем в сентябре, и составляла $(3,4 \pm 1,2) \times 10^4$ кл/см² и $(2,6 \pm 1,4) \times 10^5$ соответственно. К сожалению, не представляется возможным провести сравнительный анализ количества культивируемых аммонификаторов в эпилитоне оз. Байкал с другими водоемами озерного типа из-за отсутствия опубликованных данных.

Численность ДБ. Благодаря тому, что водная толща оз. Байкал хорошо аэрирована, численность ДБ, восстанавливающих нитраты и нитриты до газообразного азота, здесь была невысокой на всех станциях – от единиц до десятков кл/мл (рис. 4). Сравнение количества ДБ в поверхностной и придонной воде показало отсутствие значимых различий ($p < 0,05$). В разные сезоны (июнь и сентябрь) различия обнаружены в 2019 г. ($p < 0,05$) – в июне количество ДБ в несколько раз выше,

чем в сентябре. В межгодовой динамике ДБ значимых различий не выявлено ($p > 0,05$). Максимальную численность ДБ (кл/мл) определяли на станции в районе пос. Большое Голоустное – 60 ± 18 (июнь 2017 г.), 60 ± 9 (июнь 2018 г.), 60 ± 18 (сентябрь 2018 г.).

В сентябре 2019 г. на станции вблизи г. Северобайкальска денитрификаторы в пробах воды не обнаружены. Средняя численность ДБ (кл/мл) в водной толще литоральной зоны озера за трехлетний период исследований в июне составила 13 ± 4 , в сентябре – 7 ± 6 .

Вследствие присутствия бескислородных зон и доступного органического вещества в эпилитических биопленках численность ДБ здесь была достаточно высокой, а газообразование интенсивным. Количество ДБ варьировало в зависимости от географической приуроченности как в сезонном, так и в межгодовом аспекте (см. рис. 4). В июне максимальную численность ДБ (кл/см²) в эпилитоне определяли на станциях вблизи г. Северобайкальска – $(2,5 \pm 0,9) \times 10^3$ (2017 г.) и в районе м. Елохин – $(2,0 \pm 0,5) \times 10^3$ (2017 г.), $(1,6 \pm 0,2) \times 10^3$ (2018 г.), $(2,5 \pm 0,5) \times 10^3$ (2019 г.). Особо следует рассмотреть район м. Елохин,

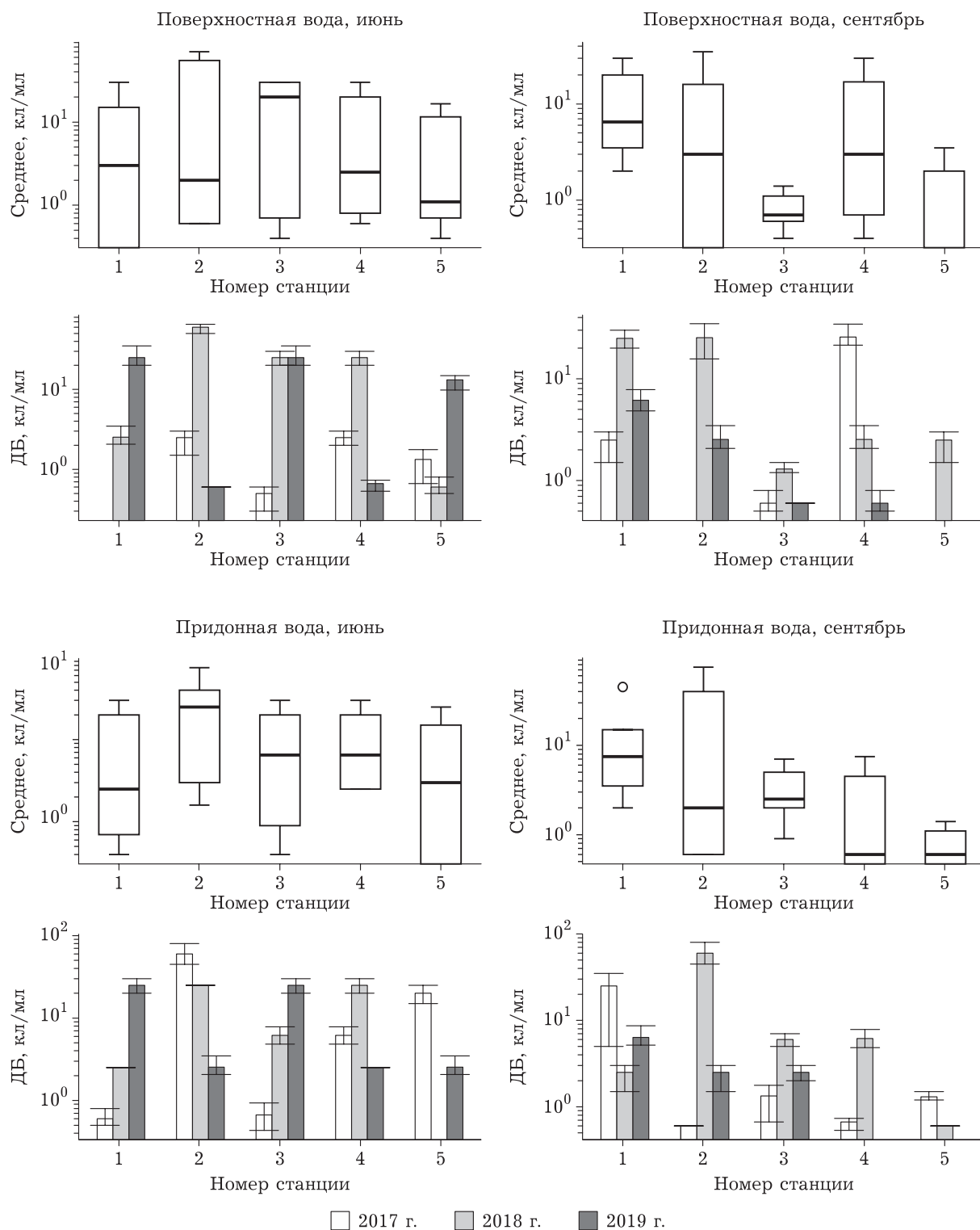


Рис. 4 (начало)

где численность денитрификаторов в эпилимнотоне весной оставалась высокой на протяжении всего периода исследований. Субстраты с биопленками на данной станции отбирали в прибрежной зоне, расположенной в таеж-

ной местности, где происходили крупные пожары (см. выше). Образовавшиеся в результате пожара уголь, зола и другие твердые частицы, содержащие фосфор, неорганический и органический азот [Liao et al., 2013],

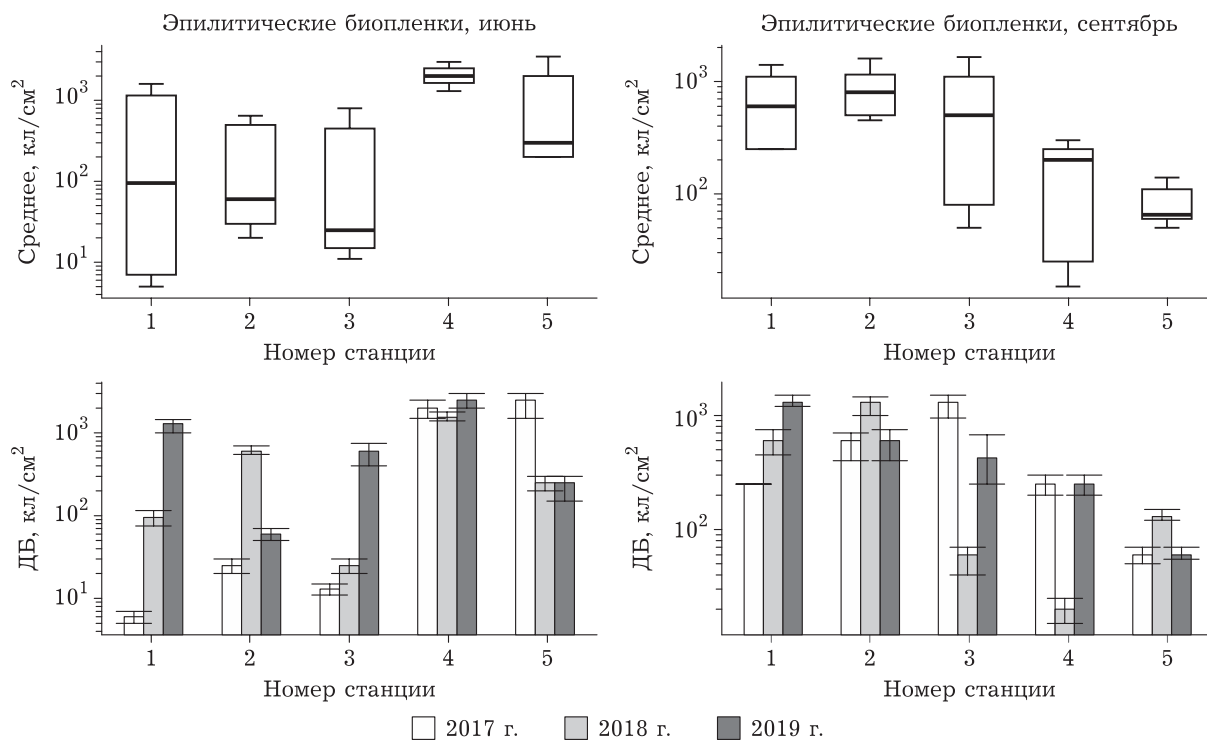


Рис. 4 (окончание). Численность ДБ в сообществах планктона и эпилимниона литорали оз. Байкал в июне и сентябре 2017–2019 гг. Станции: 1 – напротив пос. Листвянка, 2 – напротив пос. Большое Голоустное, 3 – в бухте Пещерка, 4 – в районе м. Елохин, 5 – г. Северобайкальск, напротив городского пляжа

поступали в озеро весной с талыми водами и после обильных дождей. Древесный уголь с его большой адсорбционной поверхностью может усиливать нитрификацию, приводящую к повышению уровня нитратов [Zackrisson et al., 1996; Wardle et al., 1998; DeLuca et al., 2006]. Как известно, увеличение концентрации нитратов способствует росту численности ДБ и их метаболической активности [Liao et al., 2013]. Также следует отметить, что в биопленочных обрастаниях на станции напротив м. Елохин в июне 2017 г. нами обнаружены не свойственные для экосистемы Байкала бактерии кандидатного рода *Nitrotoga* [Podlesnaya et al., 2020]. К настоящему моменту известно, что бактерии данного рода могут адаптироваться к низкой температуре, а увеличение концентрации нитрита в среде стимулирует их рост и преобладание над родом *Nitrospira* [Kinnunen et al., 2017], что в очередной раз свидетельствует о повышенной нитритной нагрузке на данном участке литорали озера.

В сентябре максимальную численность ДБ (кл/см²) в эпилимнионе обнаруживали на станции

ях в бухте Пещерка – $(1,3 \pm 0,3) \times 10^3$ (2017 г.), напротив пос. Большое Голоустное – $(1,3 \pm 0,3) \times 10^3$ (2018 г.) и в зал. Лиственничный – $(1,3 \pm 0,2) \times 10^3$ (2019 г.), минимальную – на станции в районе м. Елохин – 20 ± 5 (2018 г.), как показано на рис. 4. Средняя численность ДБ (кл/см²) за период 2017–2019 гг. в пробах эпилиитических биопленок в июне составила $(7,9 \pm 2,4) \times 10^2$, в сентябре – $(4,8 \pm 0,5) \times 10^2$.

Корреляционный анализ микробиологических и гидрохимических параметров. Методом корреляционного анализа выявлена высокая зависимость между численностью АБ и концентрацией аммония ($R = 0,77$) в пробах воды на станции м. Елохин (рис. 5, а). Положительная корреляция численности АБ с аммонием, вероятно, обусловлена поступлением в водоем большого количества азотсодержащего органического вещества – субстрата для АБ, продуктом минерализации которого является аммонийный азот. Наблюдаемая корреляция также может быть связана со стимуляцией скорости роста АБ непосредственно высокой концентрацией NH_4^+ [Yang et al., 2007; Zhao et al., 2015].

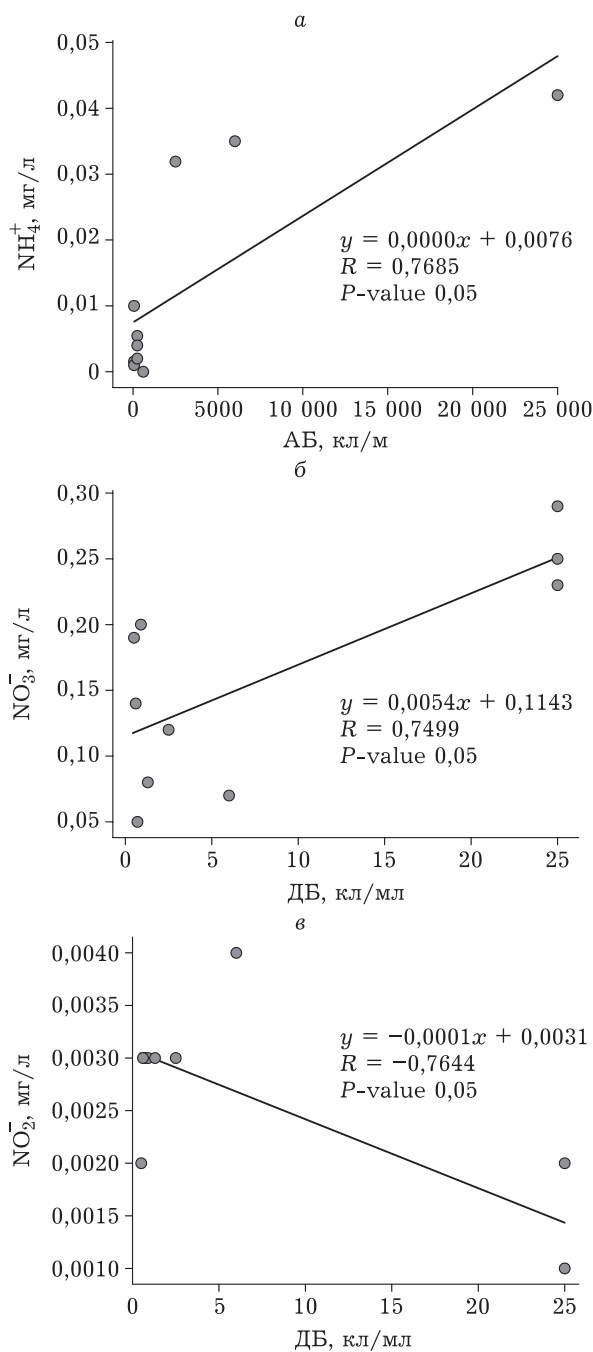


Рис. 5. Корреляционные зависимости численности АБ и концентрации аммонийного азота в водной толще на ст. в районе м. Елохин (а), численности ДБ и концентрации нитратного (б) и нитритного (в) азота в водной толще на ст. в бухте Пещерка

Корреляционный анализ показал наличие высокой прямой зависимости количества ДБ с нитратами ($R = 0,75$), а также высокой обратной зависимости с нитритами ($R = -0,76$) в пробах воды на станции в бухте Пещерка (рис. 5, б, в). Как известно, денитрифициру-

ющие бактерии используют нитраты и нитриты, восстанавливая их до газообразного азота, что объясняет обратную связь между этими параметрами. Положительная корреляция, очевидно, обусловлена поступлением дополнительного количества нитратов, стимулирующих рост и метаболическую активность ДБ [King, Nedwell, 1985]. В исследовании сезонных и пространственных изменений количества АБ, ДБ и физико-химических параметров среды в ряде озер и водохранилищ северо-востока Китая также показано, что количество исследуемых групп бактерий тесно связано с уровнем азотсодержащих веществ. Авторы отмечали сильную корреляционную связь между численностью ДБ и NO_3^- или NO_2^- как прямого, так и обратного характера [Zhao et al., 2015].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализ данных по содержанию различных минеральных форм азота и по количеству бактерий, участвующих в их превращении в оз. Байкал, показал, что процессы аммонификации и денитрификации, способствующие самоочищению озера от неорганических и органических азотсодержащих соединений, наиболее активно протекают на станциях, подверженных антропогенному влиянию. Следует отметить, что в водной толще озера концентрация аммонийного азота остается невысокой за счет потребления его фитопланктоном и окисления в процессе бактериальной нитрификации через нитриты в нитраты. Нитратный азот также детектируется в небольших количествах, так как восстанавливается ДБ до газообразных форм азота. Установлено, что в большинстве случаев численность АБ и ДБ в прибрежных водах оз. Байкал определялась в диапазоне значений, характерных для мезотрофных водоемов. По нашему мнению, необходимо регулярно проводить такие исследования в рамках мониторинга состояния экосистемы Байкала с целью оценки чистоты вод озера и прогноза происходящих изменений.

Работа выполнена в рамках бюджетных тем № 0279-2021-0015 (121032300269-9) «Исследования вирусных и бактериальных сообществ как основы стабильного функционирования пресноводных экосистем и эффективного ответа в условиях ан-

тропогенного воздействия”, № 0279-2021-0007 (121032300180-7), “Комплексные исследования прибрежной зоны озера Байкал: многолетняя динамика сообществ под воздействием различных экологических факторов и биоразнообразия; причины и последствия негативных экологических процессов”.

ЛИТЕРАТУРА

- Белых О. И., Федорова Г. А., Кузьмин А. В., Тихонова И. В., Тимошкин О. А., Сороковикова Е. Г. Обнаружение микроцистинов в цианобактериальных обрастаниях различных субстратов прибрежной зоны озера Байкал // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 2017. Т. 72, № 4. С. 262–269 [Belykh O. I., Fedorova G. A., Kuzmin A. V., Tikhonova I. V., Timoshkin O. A., Sorokovikova E. G. Microcystins in Cyanobacterial Biofilms from the Littoral Zone of Lake Baikal // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2017. Vol. 72. P. 225–231].
- Верхозина В. А. Микробиальные процессы круговорота азота в Байкале // Микроорганизмы в экосистемах озер и водохранилищ / ред. В. В. Дрюккер, Т. А. Никитина. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1985. С. 33–42.
- Воробьева Т. Я., Ершова А. А., Морева О. Ю., Чупаков А. В., Забелина С. А., Климов С. И. Микробиологические и гидрохимические аспекты круговорота азота в озерах Кенозерского национального парка // Вест. Сев. Аркт. фед. ун-та. Естест. науки. 2012, № 4. С. 13–22.
- Голованева А. Е., Ступникова Н. А. Микробиологическая трансформация азота в озере Халактырском (Камчатский край) // МНИЖ. 2020. № 6. С. 38–44.
- Горленко В. М., Дубинина Г. А., Кузнецов С. И. Экология водных микроорганизмов. М.: Наука, 1977. 289 с.
- Кожов М. М. Биология озера Байкал. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 315 с.
- Кузнецов С. И., Саралов А. И., Назина Т. Н. Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. М.: Наука. Сиб. отд-ние, 1985. 213 с.
- Кузякина Т. И., Хурина О. В. Участие микроорганизмов в превращениях соединений азота в антропогенном водоеме (оз. Култужное, Камчатка) // Успехи современного естествознания. 2007. № 9. С. 94–95.
- Куликова Н. Н., Чебыкин Е. П., Волкова Е. А., Бондаренко Н. А., Воднева Е. Н., Сутурин А. Н. Определение элементного состава бентосных макроводорослей для индикации качества воды мелководной зоны залива Лиственничный (Южный Байкал) // МНИЖ. 2017. Т. 66, № 12. С. 166–176.
- Лухнев А. Г., Тимошкин О. А. Новый пробоотборник для придонной воды прибрежной зоны водоемов // Изв. ИГУ. Сер. Биология. Экология. 2019. Т. 28. С. 101–107.
- Мальник В. В., Тимошкин О. А., Сутурин А. Н., Онищук Н. А., Сакирко М. В., Томберг И. В., Горшкова А. С., Забанова Н. С. Антропогенные изменения гидрохимических и санитарно-микробиологических показателей качества воды в притоках южного Байкала (зал. Лиственничный) // Вод. ресурсы. 2019. Т. 46, № 5. С. 533–543 [Malnik V. V., Timoshkin O. A., Suturen A. N., Onishchuk N. A., Sakirko M. V., Tomberg I. V., Gorshkova A. S., Zabanova N. S. Anthropogenic Changes in the Hydrochemical and Sanitary-Microbiological Characteristics of Water Quality in Southern Baikal Tributaries: Listvennichnyi Bay // Water Res. 2019. Vol. 46, N 5. P. 748–758].
- Родина А. Г. Бактерии в продуктивности каменистой литорали оз. Байкал // Тр. проблемных и тематических совещаний Зоол. ин-та АН СССР. 1954. Т. 2. С. 172–201.
- Родина А. Г. Методы водной микробиологии: практическое руководство. М.; Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1965. 361 с.
- Романова А. П. К микробиологии озера Байкал. Сезонная динамика численности бактерий и процессов круговорота азота в водной толще и грунтах Южного Байкала: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск: Лимнологический ин-т, 1961. 22 с.
- Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши. Л.: Гидрометеиздат, 2009. 1032 с.
- Суслова М. Ю., Пестунова О. С., Суханова Е. В., Штыкова Ю. Р., Косторнова Т. Я., Ханаев И. В., Сакирко М. В., Парфенова В. В. Роль культивируемых микроорганизмов биопленок каменистых субстратов в системе самоочищения озера Байкал // Микробиология. 2018. Т. 87, № 6. С. 718–726 [Suslova M. Yu., Pestunova O. S., Sukhanova E. V., Shtykova Yu. R., Kostornova T. Ya., Khanaev I. V., Sakirko M. V., Parfenova V. V. Role of cultured microorganisms from biofilms formed on rocky substrates in the Lake Baikal self-purification system // Microbiology. 2018. Vol. 87, N 6. P. 788–795].
- Сутурин А. Н., Чебыкин Е. П., Мальник В. В., Ханаев И. В., Минаев А. В., Минаев В. В. Роль антропогенных факторов в развитии экологического стресса в литорали оз. Байкал (акватория пос. Листвянка) // География и природ. ресурсы. 2016. № 6. С. 34–53 [Suturen A. N., Chebykin E. P., Mal'nik V. V., Khanaev I. V., Minaev A. V., Minaev V. V. The role of anthropogenic factors in ecological stress development in the littoral zone of Lake Baikal (water area near Listvyanka Settl.) // Geogr. Prir. Res. 2016. N 6. P. 43–54].
- Afonina T. E. Dynamics of biogens to estimate ecological state of coastal waters of Southern Baikal // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 2021. Vol. 666. 042017.
- DeLuca T. H., Sala A. Frequent fire alters nitrogen transformations in ponderosa pine stands of the inland northwest // Ecology. 2006. Vol. 87, N 10. P. 2511–2522.
- Khodzher T. V., Domysheva V. M., Sorokovikova L. M., Golobokova L. P. Methods for monitoring the chemical composition of Lake Baikal water // Novel Methods for Monitoring and Managing Land and Water Res. in Siberia / Eds. L. Mueller, A. K. Sheudshen, Eulenstein F. Cham: Springer, 2016. P. 113–132.
- Khodzher T. V., Domysheva V. M., Sorokovikova L. M., Sakirko M. V., Tomberg I. V. Current chemical composition of Lake Baikal water // Island Waters. 2017. Vol. 7, N 3. P. 250–258.
- King D., Nedwell D. B. The influence of nitrate concentration upon the end-products of nitrate dissimilation by bacteria in anaerobic salt marsh sediment // FEMS Microbiol. Lett. 1985. Vol. 31. P. 23–28.
- Kinnunen M., Gülay A., Albrechtsen H. J., Dechesne A., Smets B. F. *Nitrotoga* is selected over *Nitrospira* in newly assembled biofilm communities from a tap water source community at increased nitrite loading // Environ. Microbiol. 2017. Vol. 19, N 7. P. 2785–2793.

- Kravtsova L. C., Izhboldina L. A., Khanaev I. V., Pomazkina G. V., Rodionova E. V., Domysheva V. M., Sakirko M. V., Tomberg I. V., Kostornova T. Ya., Kravchenko O. S., Kupchinsky A. B. Nearshore benthic blooms of filamentous green algae in Lake Baikal // *J. Great Lakes Res.* 2014. Vol. 40, N 2. P. 441–448.
- Liao X., Inglett P. W., Inglett K. S. Fire effects on nitrogen cycling in native and restored calcareous Wetlands // *Fire Ecology*. 2013. Vol. 9, N 1. P. 6–20.
- Paerl H. W. Coastal eutrophication and harmful algal blooms: importance of atmospheric deposition and groundwater as “new” nitrogen and other nutrient sources // *Limnol. Oceanogr.* 1997. Vol. 42, N 5. P. 1154–1165.
- Podlesnaya G. V., Krasnopeev A. Yu., Potapov S. A., Tikhonova I. V., Shtykova Yu. R., Suslova M. Yu., Timoshkin O. A., Belykh O. I. Diversity of nitrifying bacteria in microbial communities from water and epilithic biofilms of the Lake Baikal littoral zone // *Limnol. Freshwater Biol.* 2020. N 4. P. 1008–1010.
- Timoshkin O. A. Coastal zone of the world's great lakes as a target field for interdisciplinary research and ecosystem monitoring: Lake Baikal (East Siberia) // *Limnol. Freshwater Biol.* 2018. N 1. P. 81–97.
- Timoshkin O. A., Samsonov D. P., Yamamuro M., Moore M. V., Belykh O. I., Malnik V. V., Sakirko M. V., Shirokaya A. A., Bondarenko N. A., Domysheva V. M., Fedorova G. A., Kochetkov A. I., Kuzmin A. V., Lukhnev A. G., Medvezhonkova O. V., Nepokrytykh A. V., Pasyunkova E. M., Poberezhnaya A. E., Potapovskaya N. V., Rozhkova N. A., Sheveleva N. G., Tikhonova I. V., Timoshkina E. M., Tomberg I. V., Volkova E. A., Zaitseva E. P., Zvereva Yu. M., Kupchinsky A. B., Bukshuk N. A. Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world's greatest freshwater biodiversity in danger? // *JGLR*. 2016. N 42. P. 487–497.
- Wardle D. A., Zackrisson O., Nilsson M. C. The charcoal effect in boreal forest: mechanisms and ecological consequences // *Oecologia*. 1998. Vol. 115. P. 419–426.
- Wetzel R. G., Likens G. E. *Limnological Analyses*. New York: Springer, 2000. 430 p.
- Wetzel R. G. *Limnology: Lake and River Ecosystems*. Academic Press, 2001. 1006 p.
- Yang H., Shen Z., Zhang J., Wang W. Water quality characteristics along the course of the Huangpu River (China) // *J. Environ. Sci.* 2007. Vol. 19. P. 1193–1198.
- Zackrisson O., Nilsson M. C., Wardle D. A. Key ecological function of charcoal from wildfire in the boreal forest // *Oikos*. 1996. Vol. 77. P. 10–19.
- Zhao X. Y., Wei Z., Zhao Y., Xi B., Wang X., Zhao T., Zhang X., We Y. Environmental factors influencing the distribution of ammonifying and denitrifying bacteria and water qualities in 10 lakes and reservoirs of the North-east, China // *Microbial. Biotechnol.* 2015. Vol. 8, N 3. P. 541–548.

Seasonal and spatial variations in the number of ammonifying and denitrifying bacteria in communities of plankton and epilithon from the littoral zone Lake Baikal

G. V. PODLESNAYA, M. Yu. SUSLOVA, Yu. R. SHTYKOVA, I. V. TOMBERG, E. V. ELETSKAYA,
O. A. TIMOSHKIN, O. I. BELYKH

Limnological Institute of SB RAS
664033, Irkutsk, Ulan-Batorskaya str., 3
E-mail: suslova@lin.irk.ru

We present the results of study on the number of indicator bacterial groups of the nitrogen cycle in plankton and epilithon of the littoral zone Lake Baikal in the spring and autumn periods from 2017 to 2019. The number of ammonifying bacteria (AB) in the lake waters varied from 25 to 6.0×10^5 cells/ml; in epilithic biofilms – from 3.5×10^3 to 9.5×10^6 cells/cm². The stations subject to anthropogenic impact showed a high number of AB as evidence of active mineralization of nitrogen-containing organic compounds. The maximum number of AB in the water column and the biofilms from stony substrates was detected in June 2017 in the water area of the Severobaikalsk town. The average annual number of AB in the water column was $(5.0 \pm 2.8) \times 10^2$ cells/ml in June and $(6.0 \pm 1.3) \times 10^2$ cells/ml in September. In epilithic biofilms, it was an order of magnitude lower in June than in September, $(3.4 \pm 1.2) \times 10^4$ cells/cm² and $(2.6 \pm 1.4) \times 10^5$ cells/cm², respectively. The number of denitrifying bacteria (DB) in water varied from 0 to 60 cells/ml; in epilithic biofilms – from 6 to 2.5×10^3 cells/cm². Throughout the study period, the highest number of DB in epilithon was detected in June at the station near Elokhin Cape. The average annual number of DB in the water column was 13 ± 4 cells/ml in June and 7 ± 6 cells/ml in September; in epilithic biofilms – $(7.9 \pm 2.4) \times 10^2$ cells/cm² in June and $(4.8 \pm 0.5) \times 10^2$ cells/cm² in September. The number of planktonic AMB positively correlates with the concentration of ammonium ions; the number of DB directly depends on the nitrate concentration and inversely depends on nitrites at some stations.

Key words: nitrogen cycle, ammonifying bacteria, denitrifying bacteria, most probable number (MPN) method, water quality, Lake Baikal.