

РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМОГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В ШЕЛЬФЕ КАРСКОГО МОРЯ, ЗАЛИВЕ ГЫДАНСКАЯ ГУБА И БАССЕЙНЕ РЕКИ ЕНИСЕЙ

М.Ю. Сулова, В.В. Парфенова, О.Н. Павлова, Т.Я. Косторнова,
А.П. Федотов, Т.В. Ходжер

Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Россия

Введение. Одним из уникальных мест обитания экстремофильных микроорганизмов, является арктическая зона с присущей ей многолетней мерзлотой, куда входит шельф Карского моря. Арктические моря отличаются от остальных акваторий Мирового океана мощным влиянием абиотических факторов, важнейшим из которых является длительный ледовый режим и, как следствие, короткий (3-4 месяца) период вегетации фитопланктона [Леин и др., 1996]. Высокая специфичность процессов биосинтеза и биотрансформации органического вещества (ОВ) в полярных водоемах связана с низкой первичной продукцией фитопланктона, поступлением ОВ в составе мощных речных стоков, с густой заселенностью частиц взвеси бактериями и легким изотопным составом органического углерода (C_{org}) взвеси и поверхностного слоя донных осадков. Из-за суровых климатических условий и своей территориальной удаленности моря Восточной Арктики изучены слабо [Левитан и др., 2007].

В Карском море роль микробных сообществ в трансформации ОВ на границе водно-дно может быть весьма значительной. Накоплению высоких абсолютных масс C_{org} при сравнительно низкой продуктивности морей способствует значительное терригенное поступление ОВ и обусловленная низкими температурами малая скорость его деструкции [Романкевич, Ветров, 2001]. В Карском море в слое осадков 0-1 см изотопный состав углерода отличается от такового во взвеси, что указывает на активные бактериальные процессы, протекающие как на частицах взвеси, так и на геохимическом барьере вода - осадок [Леин и др., 1996].

Первая количественная оценка микробной биомассы в арктических морях, в том числе и в Карском, была сделана Буткевичем В.С. во время высокоширотной экспедиции в 1935 г. [Буткевич, 1958]. Автором отмечено невысокое содержание клеток бактерий в воде Карского моря, подавляющее большинство содержало от 103 до 104 кл/мл. В 1993 г. сотрудниками Института микробиологии РАН были проведены экспедиционные работы в район Карского моря, подверженный влиянию стока крупных рек - Оби и Енисея [Мицкевич, Намсараев, 1994]. В результате было установлено, что в морской части акватории содержание бактерий в воде колебалось от 2-3 тысяч до 250-280 тысяч клеток в 1 мл, что близко к данным других авторов [Теплинская, 1989; Байтаз, Байтаз, 1993].

Исследования, проведенные Ильинским В.В., показали, что численность евтрофных бактерий превышала численность бактерий двух других групп (олиготрофы и углеводородокисляющие) в два раза и более. Численность евтрофных бактерий - от 0 до 2140 КОЕ/л, в среднем 409 КОЕ/л - примерно на половине станций была на уровне значений 0-160 кл/л [Ильинский, 1995]. Количество углеводородокисляющих микроорганизмов (УВОМ) в поверхностных водах центральной Арктики в целом невелико (от 20 до 1000 кл/л.) [Ильинский и др., 1995].

Объекты и методы. В районе шельфа Карского моря отобраны пробы воды на 13 станциях (рис. 1): продольный разрез вдоль берега м. Кузнецовский - п. Диксон (W 1-6), полуразрез м. Ефремов Камень - о. Сибирякова (W 7-9), станция середина р. Левая Омулевая - о. Сибирякова (W 10), разрез о. Олений - о. Сибирякова (W 20-22), на пяти из перечисленных станций (W 7, 9, 10, 20, 22) взяты донные осадки. В заливе Гыданская губа отработаны образцы воды и донных осадков на 2 разрезах: м. Монгаталянг - м. Мамонта (W 11-15) и м. Отвесный - м. Няда-Сая (W 16-19). В бассейне реки Енисей исследован эстуарий с отбором проб водной толщи и донных осадков: м. Сопочная Карга - м. Нарзой (W 24-27) и

два разреза п. Кареповск - м. Дорофеевский (W 28-30), Байкаловское расширение (W 31-33), и центральная точка выше порта Дудинки (W 34), где анализировали только водные образцы.

Отбор проб. Пробы воды и донных осадков отбирали и обрабатывали по общепринятым методикам [Кузнецов, Дубинина, 1989].

Определение численности клеток микроорганизмов. Для исследования образцов донных осадков и воды использовали метод Коха [Практикум по микробиологии, 1976].

- Органотрофные микроорганизмы идентифицировали на рыбо-пептонном агаре (РПА), разбавленный в 10 раз с последующим инкубированием при комнатной температуре (22-24 °С) в течение 1-4 недель.

- Для выделения психрофильных микроорганизмов использовали питательную среду R-2A Agar (Fluka Analytical, code: 17209), разбавленную в 10 раз с последующим культивированием при 4-6 °С в течение 4-6 недель.

- Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* выделяли на молочном агаре с добавлением 10 мг $MnSO_4 \times H_2O$ на 1 л (DSMZ, <http://www.dsmz.de>).

- Также выделяли спорую форму бактерий рода *Bacillus*, используя метод пастеризации образца (10 мин при 70 °С) с последующим высеиванием на среду РПА: 10 с добавлением $MnSO_4$. Посевы инкубировали при 22-24 °С в течение месяца.

- УВОМ изолировали из воды и из полученных суспензий донных осадков методом фильтрации на мембранных фильтрах (Владисарт, нитроцеллюлозные, диаметр 47 мм, размер пор 0,45 мкм). После фильтрации 10 и 25 мл суспензии объема пробы, мембранный фильтр выкладывали на чашку Петри с питательной минеральной средой Раймонда [Raymond, 1961] с нанесенной на поверхность нефтью, в качестве единственного источника углерода. Фильтры инкубировали при 22-24 °С в течение месяца.

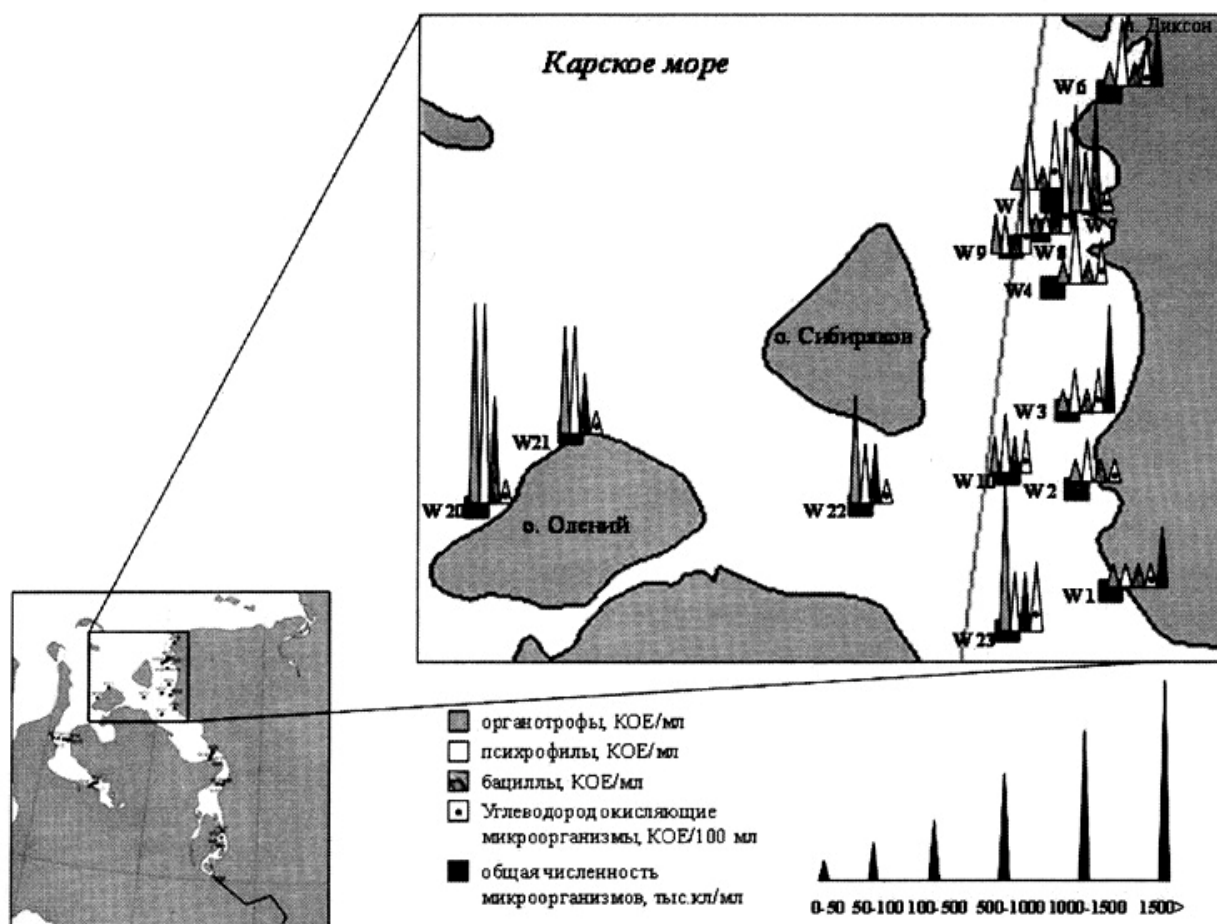


Рис. 1. Распределение групп микроорганизмов в шельфе Карского моря, в поверхностной водной толще

Результаты и обсуждения. В результате проведенных исследований установлено, что в районе шельфа Карского моря (рис. 1) на разрезе м. Кузнецовский - п. Диксон в культивируемом микробном сообществе доминируют психрофильные микроорганизмы, численность которых в среднем в четыре раза выше, чем органотрофных. Для шести исследуемых станций отмечено два типа распределения микроорганизмов. Так, на станциях профиля W 1-3, расположенного по направлению от Енисейского залива в Карское море, общая численность микроорганизмов (ОЧМ) была наибольшей в поверхностных слоях воды, прогретых до 10,8 °С 449-515 тыс. кл/мл. С глубиной отмечено снижение ОЧМ (до 23 тыс. кл/мл). В тоже же время отмечено повышение в придонных слоях воды по сравнению с поверхностными, где численность психрофильных микроорганизмов составила от 17 до 113 КОЕ/мл, хотя температура воды менялась незначительно.

На станциях W 4-6 (рис. 3), географически расположенных ближе к п. Диксон, в поверхностных слоях воды доминируют психрофильные микроорганизмы, количество которых снижается с глубиной (от 191 КОЕ/мл до 34 КОЕ/мл), что обусловлено понижением температуры до 1,5 °С и повышением солености до 26,3 ‰ в придонных слоях. Численность органотрофных микроорганизмов не превышает 45 КОЕ/мл. Численность как углеводородокисляющих микроорганизмов (УВОМ), так и бактерий р. *Bacillus*, в пробах воды, отобранных на ст. W 1-6 в целом незначительна и составляет от 23 до 600 КОЕ/100 мл для УВОМ и 3-33 КОЕ/мл для бактерий р. *Bacillus*, с преобладанием данных групп микроорганизмов в придонных слоях воды.

На станциях W 7, 8, 9, 20, 21, 22, отобранных в шельфе Карского моря и на станции W 23, расположенной на входе в Енисейский залив происходит смена микробного сообщества, за счет увеличения численности органотрофных микроорганизмов (до 2132 КОЕ/мл), в сравнении с другими исследуемыми группами микроорганизмов. В донных осадках численность микроорганизмов выше на 2 порядка и равна от 169 до 2206×10^2 КОЕ/гр (рис. 2). Наибольшая численность всех групп микроорганизмов была отмечена в поверхностных слоях воды, на станциях разреза о. Олений - о. Сибирякова: на станции W 10 (середина р. Левая Омудевая - о. Сибирякова) и на станции W 23. Максимальные значения численности микроорганизмов для исследуемого района выявлены на ст. W 20, где доминируют органотрофные и психрофильные микроорганизмы (2132-2304 КОЕ/мл, соответственно), а также бактерии рода *Bacillus* 686 (рис. 1).

Углеводородокисляющие микроорганизмы (УВОМ) на шельфе Карского моря были детектированы в большом количестве в пробах воды на станциях W 5, 7, 8, 9 с максимальным значением 1200 КОЕ/100мл в придонной пробе W 7.

Район залива Гыданская губа на разрезе м. Монгаталянг - м. Мамонта (W 11-15) характеризовался высоким содержанием психрофильных микроорганизмов в поверхностных слоях воды (от 98 до 530 КОЕ/мл). Исключение составляет правобережная станция W 15, где психрофилы составили 222 КОЕ/мл, что на треть меньше органотрофов. В придонных пробах воды психрофильные и органотрофные микроорганизмы представлены в одинаковых долях, в отличие от донных осадков, где численность психрофилов в 10 раз выше численности органотрофных бактерий (до 1287×10^2 КОЕ/гр) (рис. 2). Общая численность микроорганизмов в поверхностных пробах воды колеблется незначительно и составляет от 288 до 345 тыс. кл/мл, а в придонной воде центральной станции W 13 разреза м. Монгаталянг - м. Мамонта на глубине 8 метров ОЧМ равна 105 тыс. кл/мл, в то время как на правобережной станции W 15 на глубине 4 м ОЧМ составила 549 тыс. кл/мл. Возможно, это связано с тем, что из рядом протекающих рек и ручьев поступает питательное вещество с наносом по дну, а ближе к центру створа их концентрация снижается, что и объясняет понижение ОЧМ в данной пробе.

Разрез м. Отвесный - м. Няда-Саля характеризуется высокой численностью органотрофного сообщества с максимальным значением равным 1020 КОЕ/мл в поверхностном слое на ст. W 17. Установлено, что в донных осадках, как и на предыдущем разрезе, численность психрофильных микроорганизмов на порядок превышает органотрофные и составляет 850×10^2 КОЕ/гр. Увеличение численности на два порядка в

донных осадках отмечено и для углеводородокисляющих микроорганизмов, где их максимальная численность приходится на центральные станции разрезов залива Гыданская губа (W 12, W 17) (рис. 2). В водной толще, наибольшая численность УВОМ отмечена в поверхностном слое воды на ст. W 15 - 256 КОЕ/100 мл.

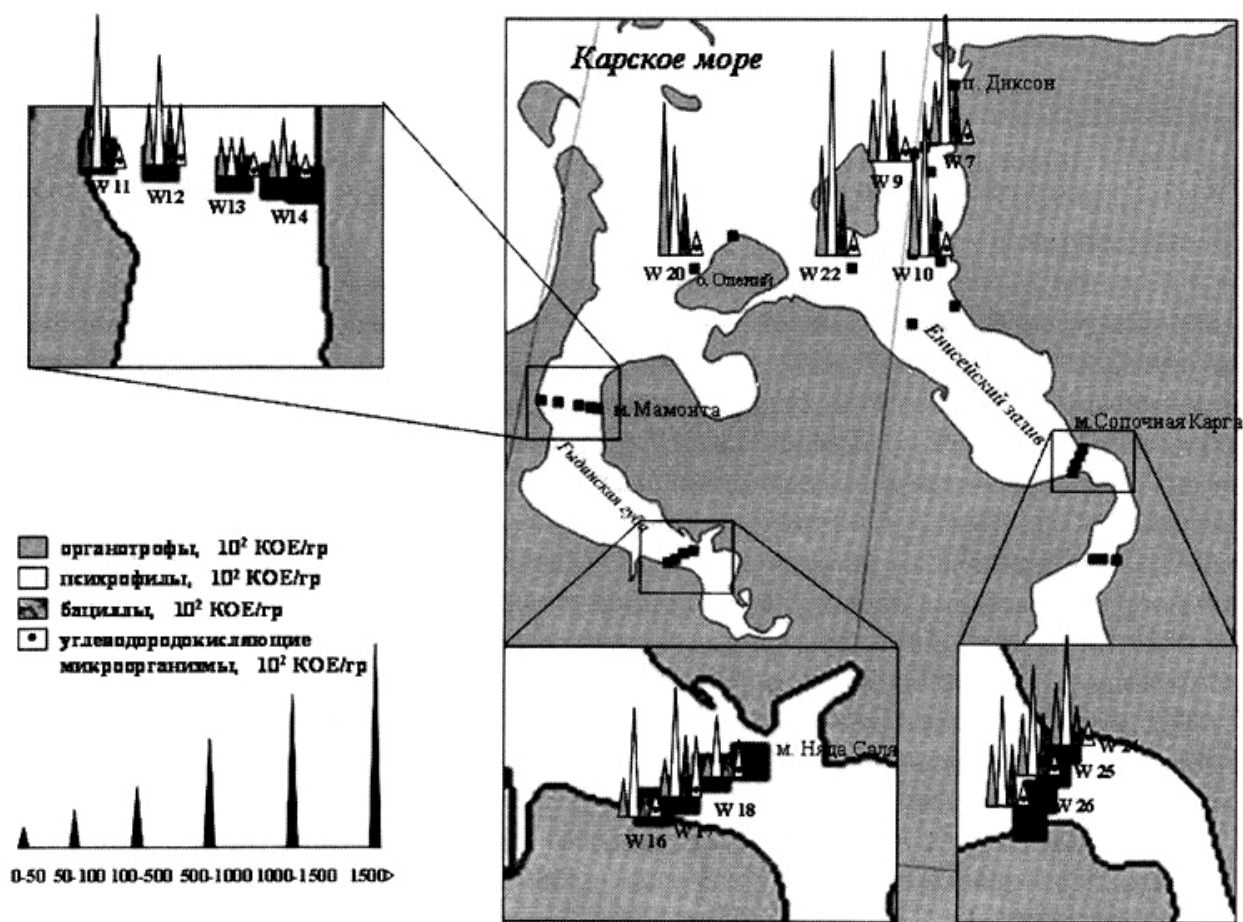


Рис. 2. Распределение групп микроорганизмов в поверхностном слое осадка шельфа Карского моря, Гыданской губы и р.Енисей

Таким образом, в результате проведенных исследований, в трех исследуемых районах арктической зоны, максимальные значения ОЧМ выявлены в поверхностных пробах станций W 1, 3 на шельфе Карского моря (до 515 тыс. кл/мл) и в придонном слое воды залива Гыданская губа на станции W 15, разреза м. Монгаталянг - м. Мамонта (549 тыс. кл/мл). Минимальные значения ОЧМ (4-23 тыс. кл/мл) установлены на шельфе Карского моря в придонных пробах станций W 1 и 6.

По результатам анализа численности культивируемого микробного сообщества отмечено, что самыми малочисленным оказались пробы воды, отобранные на разрезе от Енисейского залива до п. Диксон (W 1-7), где численность органотрофных, психрофильных микроорганизмов и бактерий р. *Bacillus*, не превышала 45, 191 и 33 КОЕ/мл, соответственно. Максимальные значения этих групп микроорганизмов выявлены в Карском море на разрезе о. Олений - о. Сибирякова.

Группа спорообразующих бактерии рода *Bacillus* в водной толще р. Енисей составляет 54%, в донных осадках 45,5% от органотрофного сообщества. На шельфе Карского моря 41,3% и 41,1%, в заливе Гыданская губа 38,1% и 80,5%. При определении споровой формы в исследуемых пробах показали, что в воде споры составляют в среднем 8%, в пробах донных осадков - 74%. Таким образом, донные осадки служат аккумулятивным субстратом для сохранения спорных форм.

Максимум численности УВОМ отмечен в пробах воды шельфа Карского моря на станциях разреза п. Диксон - о. Сибирякова - до 1200 КОЕ/100 мл, с постепенным снижением в пробах воды бассейна р. Енисей, где их численность не превышала 30 КОЕ/100 мл. Исключение составил разрез Байкаловское расширение, где выявлено до 300 КОЕ/100 мл УВОМ. Установлено, что максимальная численность УВОМ в пробах донных осадков выявлена на центральных станциях залива Гыданская губа 100-150 тыс. КОЕ/гр. Минимальные значения зарегистрированы в донных осадках бассейна р. Енисей на разрезе м. Сопочная Карга - м. Нарзой и составили в среднем 4,8 тыс. КОЕ/гр (рис. 2).

Выводы. В данном районе сформировано достаточно активное микробное сообщество, так как во всех проанализированных пробах обнаружены микроорганизмы всех исследованных групп. В целом установлено, что в изученных районах арктической зоны в культивируемом микробном сообществе доминируют психрофильные микроорганизмы, растущие при температуре 4-6 градусов. Такая закономерность отмечена при распределении микроорганизмов, как в водной толще, так и в донных осадках, что связано как с температурным режимом данного района, так и со значительным количеством органического вещества, поступающего с речными водами и в результате приливов и отливов морской воды. При этом создаются наиболее благоприятные условия для развития психрофильных и других микроорганизмов: формируется зона интенсивного перемешивания пресных и морских вод с высокой степенью аккумуляции и деструкции органического вещества. Об этом можно судить по количеству и наличию микроорганизмов, участвующих в деструкции легкоусвояемого (органотрофы и психрофиллы) и трудно-разлагаемого органического вещества (спорообразующие и углеводородокисляющие микроорганизмы). Последние группы микроорганизмов могут быть индикаторами поступления сложных соединений в водную толщу исследуемого района и показателями процесса самоочищения в экосистеме.

Работа выполнена в рамках интеграционного Проекта Президиума РАН 17.7 «Криолитозона и Арктический шельф в условиях меняющегося климата; стабильность экосистем и газовые гидраты, пути захоронения органического вещества» и поддержке «Фонда содействия отечественной науки».

Литература

Байтаз В.А., Байтаз О.Н. Микробиологические исследования. Общий бактериопланктон и бактериобентос // Гидробиологические исследования Байдарацкой губы Карского моря в 1990-1991 гг. Кольский научный центр РАН. ММБИ. Апатиты, 1993. С. 6-13.

Буткевич В.С. Бактериальное население арктических морей и его распределение в воде и грунтах // Избранные труды. Изд-во АН СССР, 1958. Т. II. С. 77-134.

Ильинский В.В. Бактериопланктон поверхностных вод Центральной Арктики в период календарной весны // Микробиология. 1995. Т. 64. № 5. С. 696-704.

Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов // АН СССР. Ин-т микробиологии, отв. ред. д-р биол. наук Ю.И. Сорокин. - М.: Наука, 1989. С. 267-282.

Левитан М.А., Лаврушин Ю.А., Штайн Р. Очерки истории седиментации в Северном Ледовитом океане и морях субарктики в течение последних 130 тыс. лет. М.: 2007. - 404 с.

Леин А.Ю., Русанов И.И., Саввичев А. С. и др. Биогеохимические процессы циклов серы и углерода в Карском море // Геохимия. 1996. № 11. С. 1027-1044.

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

Практикум по микробиологии: учеб. пособие / под ред. профессора Н.С. Егорова. - М.: Изд-во Мос. университета, 1976. С. 301-305.

Романкевич Е.А., Ветров А.А. Цикл углерода в арктических морях России. М.: Наука, 2001. - 302 с.

Теплинская Н.Г. Бактериопланктон и бактериобентос Карского моря. АН СССР. Апатиты, 1989. С. 29-37.

Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // Develop. Industry. Microbiology. - 1961.-V. 2, № 1.-P. 23-32.

Ссылка на статью:



Сулова М.Ю., Парфенова В.В., Павлова О.Н., Косторнова Т.Я., Федотов А.П., Ходжер Т.В.
Разнообразие культивируемого микробного сообщества в шельфе Карского моря, заливе Гыданская губа и бассейне реки Енисей. Природа шельфов и архипелагов Европейской Арктики. Вып. 10, М.: ГЕОС, 2010. С. 280-286.