ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

НАУКИ

Институт биофизики Сибирского отделения

Российской академии наук

На правах рукописи

02 qu

РОГОЗИН Денис Юрьевич

ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРАТИФИКАЦИИ И ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ДИНАМИКА ФОТОТРОФНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В МЕРОМИКТИЧЕСКИХ ОЗЕРАХ ХАКАСИИ

03.02.10 - гидробиология

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук

> Научный консультант: Академик РАН, доктор физико-математических наук Дегерменджи А.Г.

> > Красноярск 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ7
Глава 1. ЭКОЛОГИЯ ФОТОТРОФНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ И ЕЕ СВЯЗЬ
СО СТРАТИФИКАЦИЕЙ ВОДОЕМОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)20
1.1 Закономерности стратификации водоемов и меромиксия озер20
1.2 Прогноз стратификации озер: математическое моделирование27
1.3 Экофизиология фототрофных серных бактерий
в стратифицированных водоемах
1.4 Стратификация фототрофных серных бактерий
в меромиктических озерах
1.5 Роль фототрофных серных бактерий в природных экосистемах41
1.6 Экспериментальное и математическое моделирование
стратифицированных популяций фототрофных серных бактерий 44
1.7 Стратификация водной толщи и фототрофные серные бактерии озер
Шира и Шунет48
1.8 Плотностно-зависимые факторы, контролирующие рост микробных
популяций в лабораторных культурах и природных экосистемах50
1.9 Молекулярные останки фототрофных серных бактерий как
индикаторы для палео-рекострукций54
1.10 Заключение к Главе 159
Глава 2. ЛИМНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И
ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРАТИФИКАЦИИ ОЗЕР ШИРА И ШУНЕТ61
2.1 Общая характеристика озера Шира61
2.2 Общая характеристика озера Шунет63
2.3 Материалы и методы64
2.4 Сезонная динамика вертикальной структуры и режим перемешивания

озера Шира: натурные данные75
2.5 Многолетняя динамика вертикальной структуры
озера Шира: натурные данные
2.6 Зимняя стратификация озера Шира85
2.7 Роль ледового покрова и изменений уровня озера
в поддержании меромиксии: правило подледного объема
2.8 Роль ледового покрова и изменений уровня озера Шира
в поддержании меромиксии: натурные данные
2.9 Летняя стратификация озера Шира98
2.10 Положение редокс-зоны в озере Шира106
2.11 Моделирование вертикальной структуры оз. Шира108
2.12 Сезонная динамика вертикальной структуры и режим
перемешивания озера Шунет: натурные данные
2.13 Многолетняя динамика вертикальной структуры
озера Шунет: натурные данные120
2.14 Сравнение характера стратификации озера Шунет:
натурные данные123
2.15 Лимнологическая история и причины меромиктического
состояния озер Шира и Шунет125
2.16 Расчеты стратификации озера Шира при различных
уровнях поверхности134
2.17 Мировые аналоги меромиктических озер Хакасии
2.18 Основные результаты и выводы Главы 2141
2.19 Заключение к Главе 2143
Глава 3. МИКРОСТРАТИФИКАЦИЯ ФОТОТРОФНЫХ
СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В ОЗЕРАХ ШИРА И ШУНЕТ145
3.1 Введение145
3.2 Материалы и методы145
3.3 Характеристика пурпурных серных бактерий, доминирующих
в озерах Шира и Шунет160

3.4 Многошприцевой пробоотборник с гидравлическим
управлением: описание и принцип действия165
3.5 Микростратификация фототрофных серных бактерий в
озере Шунет171
3.6 Анализ структуры микробного сообщества в хемоклине озера
Шунет в летний период178
3.7 Микростратификация пурпурных серных бактерий в
оз. Шира193
3.8 Зеленые серные бактерии в озере Шира198
3.9 Микростратификация пурпурных и зеленых серных
бактерий в математической модели199
3.10 Основные результаты и выводы Главы 3
3.11 Заключение к Главе 3
Глава 4. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ДИНАМИКА ФОТОТРОФНЫХ СЕРНЫХ
БАКТЕРИЙ В ОЗЕРАХ ШИРА И ШУНЕТ И ЕЕ СВЯЗЬ С ВНЕШНИМИ
УСЛОВИЯМИ
УСЛОВИЯМИ
 УСЛОВИЯМИ
УСЛОВИЯМИ. 202 4.1 Материалы и методы 202 4.2 Пространственная динамика численности пурпурных серных бактерий в оз. Шира 209 4.3 Динамика численностей фототрофных серных бактерий 209 в оз. Шунет: натурные данные 228 4.4 Условия обитания фототрофных серных бактерий 228 в озерах Шира и Шунет: сравнительный анализ 234
УСЛОВИЯМИ. 202 4.1 Материалы и методы 202 4.2 Пространственная динамика численности пурпурных серных 209 4.3 Динамика численностей фототрофных серных бактерий 209 4.3 Динамика численностей фототрофных серных бактерий 228 4.4 Условия обитания фототрофных серных бактерий 228 4.5 Оценка доли подледной продукции аноксигенного фотосинтеза 234
УСЛОВИЯМИ. 202 4.1 Материалы и методы 202 4.2 Пространственная динамика численности пурпурных серных бактерий в оз. Шира 209 4.3 Динамика численностей фототрофных серных бактерий в оз. Шунет: натурные данные 228 4.4 Условия обитания фототрофных серных бактерий в озерах Шира и Шунет: сравнительный анализ 234 4.5 Оценка доли подледной продукции аноксигенного фотосинтеза в обоих озерах 241
 УСЛОВИЯМИ
 УСЛОВИЯМИ
УСЛОВИЯМИ. 202 4.1 Материалы и методы 202 4.2 Пространственная динамика численности пурпурных серных бактерий в оз. Шира 209 4.3 Динамика численностей фототрофных серных бактерий в оз. Шунет: натурные данные 228 4.4 Условия обитания фототрофных серных бактерий в озерах Шира и Шунет: сравнительный анализ 234 4.5 Оценка доли подледной продукции аноксигенного фотосинтеза в обоих озерах 241 4.6 Оценка скорости седиментации пурпурных серных бактерий 245 4.7 Плотностно-зависимый эффект самозатенения ПСБ 209
 УСЛОВИЯМИ

серных бактерий в озере Шунет	248
4.9 Основные результаты и выводы Главы 4	252
4.10 Заключение к Главе 4	254
Глава 5. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНЫХ	
ПРОЦЕССОВ КРУГОВОРОТА СЕРЫ И УГЛЕРОДА В ОЗЕРАХ	
ШИРА И ШУНЕТ	256
5.1 Введение	256
5.2 Материалы и методы	257
5.3 Изотопный состав серы в озерах Шира и Шунет	263
5.4 Скорости микробных процессов в озере Шира	266
5.5 Скорости микробных процессов в озере Шунет	291
5.6 Основные результаты и выводы Главы 5	299
5.7 Заключение к Главе 5	300
Глава 6. ПЛОТНОСТНО-ЗАВИСИМЫЕ ФАКТОРЫ, КОНТРОЛИРУЮ	ЭЩИЕ
РОСТ МИКРОБНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ П	ОИСКА
В ХЕМОСТАТЕ И ПРИРОДНЫХ ВОДОЕМАХ	302
6.1 Введение	302
6.2 Свойство плотностно-зависимых факторов в модели хемостата	
– эффект «квантования» фоновых уровней	304
6.3 Доказательство свойства «квантования» коэффициентов	
чувствительности для системы с произвольным числом	
видов и ПКРФ	308
6.4 Универсальный метод определения коэффициентов	
чувствительности в хемостате: теоретические основы	314
6.5 Тенденция к аутостабилизации освещенности в	
стратифицированных популяциях фототрофных серных бактерий	324
6.6 Основные результаты и выводы Главы 6	329
6.7 Заключение к Главе 6	330

6	
Глава 7. КАРОТИНОИДЫ ФОТОТРОФНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ Н	ζАК
ПАЛЕО-ИНДИКАТОР СТРАТИФИКАЦИИ МЕРОМИКТИЧЕСКОГ	С
ОЗЕРА ШИРА	331
7.1 Введение	331
7.2 Материалы и методы	332
7.3 Структура донных отложений озера Шира	341
7.4 Определение возраста донных отложений и скорости	
осадконакопления в оз. Шира	347
7.5 Качественный состав каротиноидов, идентифицированных	
в озерах Шира и Шунет: общая характеристика	352
7.6 Каротиноиды в водной толще озер Шира и Шунет:	
состав и вертикальное распределение	354
7.7 Анализ верхней части донных	
отложений озера Шира	356
7.8 Каротиноиды в древних донных отложениях озера Шира	366
7.9 Основные результаты и выводы Главы 7	371
7.10 Заключение к Главе 7	372
ВЫВОДЫ	374
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	377
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	380
ПРИЛОЖЕНИЕ Вертикальные распределения	
физико-химических характеристик и фототрофных серных бактерий	
в озерах Шира и Шунет в период 2002 – 2014 гг.	414

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Прогноз последствий климатических и антропогенных изменений в природных экосистемах является одним из важнейших направлений современного естествознания. Поскольку озера являются важными народнохозяйственными и рекреационными объектами, прогноз изменений качества воды и состава биоты в них представляет собой актуальную фундаментальную задачу. С другой стороны, реконструкция прошлых состояний озер, их уровня, состава биоты, минерализации и пр., позволяет оценить вариации климата либо антропогенной деятельности в водосборном бассейне. Знание об изменениях климата, происходивших в прошлом - одно из необходимых условий прогноза будущих климатических изменений. Несмотря на сильный антропогенный вклад в современные климатические тренды, многие циклические закономерности, обусловленные факторами неантропогенной природы, такими как циклы солнечной активности, океанские термогалинные осцилляции, колебания орбитальных параметров и пр., задают периодические фоновые изменения климата, которые необходимо учитывать при прогнозировании. Выявить наличие вышеописанных циклических процессов можно только через реконструкцию по природным «архивам». Одним из лучших природных «архивов» климата являются донные отложения озер.

Для решения вышеупомянутых проблем необходимо представлять основные факторы и процессы, управляющие динамикой биомасс, химического состава воды, и как следствие – составом донных отложений в природном водоеме. В глубоких водоемах формируются устойчивые вертикальные неоднородности плотности воды, разделяющие водную толщу на относительно гидродинамически изолированные зоны (стратификация) (Boehrer, Schultze, 2008). Данное разделение существенным образом определяет условия существования планктонных популяций.

В некоторых водоемах существует многолетняя устойчивая стратификация (меромиксия), водной толщи которая приводит К формированию особых условий в глубинных водах, что принципиально характер биоты, осадочных процессов, в ряде случаев изменяет обусловливает бальнеологические свойства, и даже иногда создает угрозу для окружающей территории (см. далее).

Несмотря на ΤО, ЧТО меромиктические водоемы относительно встречаются немногочисленны, ОНИ по всему миру В различных климатических зонах (Hammer, 1994). По имеющимся оценкам, в мире описано около 200 меромиктических озер, что составляет менее 1% всех известных озер (Gugliandolo et al., 2011). Самым крупным меромиктическим водоемом мира является Черное море (Overmann, Manske, 2006).

Явление меромиксии водоемов интересно как с фундаментальной, так и с прикладной сторон. Во-первых, большой интерес представляет прогноз переходов состояний озер из голомиктических в меромиктические и обратно. В меромиктическом состоянии монимолимнион не участвует в ежегодной циркуляции водной толщи, что порождает отсутствие в нем кислорода и накопление сероводорода, а также других газов, что в свою очередь, принципиально изменяет круговорот биогенных элементов в экосистеме. А именно – монимолимнион является своего рода «ловушкой» для биогенов, поскольку попадающие туда с потоком оседающей органики биогенные элементы становятся недоступными для основных продуцентов - аэробных фототрофных микроорганизмов, т.е. выводятся из биотического круговорота. Таким образом, в монимолимнионе происходит накопление биогенных элементов. При нарушении меромиксии, т.е. при частичном или полном перемешивании, происходит выброс биогенов из монимолимниона, что приводит к вспышкам цветения фитопланктона, т.е. к ухудшению качества воды и изменениям видового состава планктонных организмов (MacIntyre, Jellison, 2001). Данное явление было продемонстрировано в озере Моно, когда данное озеро меняло режим циркуляции с меромиктического на

голомиктический и обратно (Melack, Jellison, 1998). Аналогично, в меромиктическом озере Исео (Lake Iseo, Италия) было показано, что в годы, когда озеро полностью перемешивалось, т.е. становилось голомиктическим, регистрировалось увеличение содержания биогенов и общего объема фитопланктона в эпилимнионе, а также наблюдались изменения в составе зоопланктона (Leoni et al., 2014). В озере Лугано (Lake Lugano) аномально глубокое перемешивание привело к более чем десятикратному увеличению биомассы фитопланктона и изменило трофический статус в результате обильного поступления биогенов в фотическую зону (Simona, 2003).

случаях перемешивании В некоторых при возможен выброс растворенных в монимолимнионе газов в атмосферу, что может представлять угрозу для жителей близлежащих территорий. Такие явления могут происходить при наличии дополнительного источника токсичных газов на дне озера, каковым могут быть вулканические выходы. Широко известным примером является выброс углекислого газа из озера Ньос (Nyos, Камерун), вследствие которого погибли около 1700 местных жителей (Kling et al., 1987; Schmid et al., 2004). Таким образом, прогноз эпизодов перемешивания и выхода растворенных газов монимолимниона на поверхность является актуальной проблемой, и для ее решения необходимо представлять, как формируется неоднородность распределения плотности.

Во-вторых, изучению интерес меромиктических водоемов К обусловлен тем, формируются устойчивые вертикальные ЧТО В НИХ неоднородности планктонных организмов, занимающих различные экологические ниши вдоль вертикальных градиентов на границе раздела (редокс-зона). Следовательно миксолимниона И монимолимниона меромиктические озера являются хорошими естественными лабораториями для изучения экологии водных микроорганизмов (Tonolla et al., 2003). Наиболее специфическим именно для таких озер объектом, своего рода фототрофные «визитной карточкой», являются аноксигенные микроорганизмы, которые формируют устойчивые скопления на границе

раздела монимолимниона и миксолимниона. Было показано, что устойчивое различных фототрофных вертикальное распределение групп серных бактерий обусловлено свойств различиями поглощающих ИХ светособирающих пигментов, а также различиями по отношению к рН и редокс-потенциалу (Горленко и др., 1977; Montesinos et al., 1983). Несмотря на то, что скопления фототрофных серных бактерий были давно описаны во множестве работ (см. например обзор Van Gemerden, Mas, 1995), до сих пор недостаточно информации о роли фототрофных серных бактерий в пищевой цепи (Overmann et al., 1996; Camacho et al., 2001; Oikonomou et al., 2014). Кроме того, очевидно, что физиологическая активность данной группы бактерий непосредственным образом влияет на окисление сероводорода, следовательно – расчет активности и биомассы фототрофных серных бактерий необходим в прогнозных моделях качества воды.

Как результат устойчивой стратификации, в придонных слоях воды меромиктических озер отсутствуют турбулентные процессы, приводящие к пере-отложению оседающих на ДНО частиц. Кроме того, наличие сероводорода и анаэробные условия ингибируют активность бентосных организмов, следовательно – в донных отложениях отсутствует биотурбация (Overmann et al., 1993). Поэтому в меромиктических озерах хорошо сохраняется хронологическая последовательность осадочных слоев и их органического содержимого (Coolen, Gibson, 2009), а значит - донные отложения меромиктических озер являются удобными объектами для палеоклиматических реконструкций.

Таким образом, изучение меромиксии озер как физического явления, и ее биологических следствий, является вполне обоснованным и актуальным как с точки зрения рационального природопользования, так и с точки зрения получения фундаментальных знаний о климате и экологии планктонных популяций.

На обширной территории Сибири до сих пор известно лишь три меромиктических водоема: оз. Доронинское в Забайкальском крае (Zamana,

Вогzenko, 2007), озера Шира и Шунет в Хакасии (Degermendzhy et al., 2002; Природные воды...., 2003; Рогозин и др., 2005), что, возможно, обусловлено слабой изученностью данного региона. Озера Шира и Шунет расположены в непосредственной близости други от друга в Северной части Минусинской котловины (Республика Хакасия, Ширинский раойн). Оба водоема схожи по химическому составу воды, однако различаются по морфологическим свойствам. Интерес к изучению этих водоемов продиктован в основном следующими причинами.

Во-первых, в обоих озерах в настоящее время градиенты плотности существенно различны: очень резкий градиент солености (и как следствие – устойчивая стратификация) в относительно мелководном Шунете и слабый градиент солености (менее устойчивая стратификация) – в более глубоком оз. Шира. Вышеуказанные различия позволяют рассматривать данные водоемы как «природную лабораторию», В которой поставлен своего рода «эксперимент» по влиянию гетерогенности системы (стратификации и сопутствующих ей физико-химических характеристик) на планктонные популяции при геохимических, климатических сходных И метеорологических условиях. Следует отметить, что при изучении деятельности микроорганизмов в природе необходимо принимать BO внимание именно ландшафтно-географические аспекты, и здесь большое значение имеет наблюдение и сравнительный анализ в противоположность лабораторному эксперименту. Именно наблюдение нового явления служит первоначальным импульсом исследования, a не запланированный эксперимент, представляющий разработку на основе комбинаций известных (Заварзин, 2004). Другим аспектом, проистекающим положений ИЗ наблюдения, служит история событий, необходимая для их реконструкции, поскольку время нельзя моделировать в лаборатории (Заварзин, 2004).

Во-вторых, бессточные водоемы, расположенные в аридном климате, как оз. Шира и Шунет, являются ценными объектами для реконструкции палеоклимата, поскольку чутко реагируют изменением уровня воды на изменения баланса осадков и испарения в данной местности (Last, Ginn, 2005). При значительных колебаниях уровня могут меняться режимы стратификации, что, в свою очередь, порождает изменения в составе донных отложений. Чутким палео-индикатором меромиктических режимов в донных отложениях служат останки фототрофных серных бактерий. Таким образом, знания о закономерностях стратификации и ее влиянии на условия обитания фототрофных серных бактерий в конкретном водоеме могут помочь в решении фундаментальной задачи - реконструкции палео-климата целого региона Южной Сибири.

В-третьих, оба озера являются важными рекреационными объектами и обладают бальнеологическими свойствами. На берегу оз. Шира более ста лет функционирует известный курорт «Озеро Шира» (Кривошеев, Хасанов, 1990). Поэтому прогноз качества воды и содержания сероводорода в нем в зависимости от метеорологических условий и антропогенных воздействий является актуальной прикладной задачей, которая может быть решена с помощью математических моделей (Degermendzhy et al., 2002). Для настройки моделей требуются натурные данные о сезонной динамике и физико-химических характеристиках планктонных популяций, скоростях и потоках микробных процессов. Эти данные и были получены в настоящей работе.

Исследование динамики популяций в природных водоемах является существенно мультидисциплинарным направлением, и требует системного подхода. В рамках данного исследования методы природоведческой микробиологии сочетались с методами физической лимнологии, седиментологии и математического моделирования.

<u>Цель работы</u> Выявление закономерностей пространственно-временной динамики фототрофных серных бактерий и ее связи со стратификацией водной толщи в озерах Шира и Шунет (Южная Сибирь, Хакасия), а также оценка возможности использования данной группы микроорганизмов в

качестве индикаторов для палеолимнологических реконструкций по донным отложениям вышеуказанных водоемов.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- На основе многолетнего мониторинга и математического моделирования выявить закономерности вертикальной структуры и режим циркуляции водной толщи в озерах Шира и Шунет, оценить причины стратификации и сопоставить с известными мировыми аналогами.
- 2. Охарактеризовать видовой состав и выявить пространственную динамику популяций фототрофных серных бактерий в озерах Шира и Шунет и сопоставить полученные данные с закономерностями стратификации озер и вариациями внешних факторов.
- Количественно оценить скорости фотосинтеза и сульфатредукции, и оценить вклад фототрофных серных бактерий в круговорот углерода в исследуемых озерах.
- 4. Для математической модели сообщества микробных популяций в хемостате разработать методику поиска плотностно-зависимых факторов, и оценить наличие вышеуказанных факторов в природных популяциях фототрофных серных бактерий.
- 5. Выявить распределение пигментов фототрофных серных бактерий в донных отложениях озера Шира, оценить возможность их применения для палео-лимнологических реконструкций и оценить возможные изменения уровня и режима циркуляции озера в прошлом.

Положения, выносимые на защиту:

- 1. Озера Шира и Шунет являются меромиктическими водоемами эктогенного происхождения: на поверхность бессточных озер, обладающих повышенной соленостью за счет испарительного концентрирования, поступила пресная вода. Многолетний подъем уровня воды и процессы образования и таяния ледового покрова обеспечивают поддержание меромиксии в данных водоемах.
- 2. В относительно слабо стратифицированном озере Шира глубина миксолимниона характеризуется межгодовыми вариациями, которые вызваны метеорологическими факторами. Вышеуказанные вариации могут быть описаны с помощью одномерной математической модели на основе уравнений турбулентной диффузии в сочетании с расчетами динамики ледового покрова.
- 3. В озерах Шира и Шунет популяции фототрофных серных бактерий стратифицированы и формируют массовые скопления в редокс-зонах и монимолимнионах. Микростратификация пурпурных и зеленых серных бактерий озерах Шира и Шунет В является типичной ДЛЯ меромиктических озер, и обусловлена наличием И динамикой стратификации водной толщи.
- 4. В озере Шира из-за глубокого расположения редокс-зоны интенсивность света и температура остаются на низком уровне в течение года, а их сезонные колебания выражены слабо, что обусловливает низкую численность и отсутствие выраженной сезонной динамики пурпурных серных бактерий. Противоположная ситуация наблюдается в оз. Шунет, где сезонные колебания температуры и света

существенны из-за неглубокого расположения редокс-зоны, что обусловливает сильные амплитуды сезонных колебаний численности пурпурных серных бактерий. Сильная плотностная стратификация в сочетании с неглубоким расположением редокс-зоны обусловливает высокую численность и плотное скопление пурпурных серных бактерий в редокс-зоне озера Шунет.

фототрофных 5. Распределение пигментов серных бактерий В датированных слоях донных отложений указывает на изменения режима циркуляции озера Шира в прошлом. Анализ состава донных отложений свидетельствует, что в начале 20-го века временное снижение уровня воды вызывало переход озера Шира В голомиктический режим.

Научная новизна работы Получен большой массив новых натурных данных, характеризующих физико-химические условия, динамику перемешивания водных масс, пространственную и сезонную динамику популяций фототрофных серных бактерий в озерах Шира и Шунет. На основе данных многолетнего мониторинга впервые дана характеристика режима стратификации бессточных соленых озер Шира и Шунет и ее причин, показана ее аналогия с озерами, расположенными в сходных климатических условиях. Данные многолетнего мониторинга послужили основой для выдвижения гипотезы о связи биомассы пурпурных серных бактерий с изменениями уровня озер.

C помощью запатентованного многошприцевого пробоотборного устройства собственной конструкции впервые выявлена микростратификация фототрофных бактерий, a также процессов аноксигенного фотосинтеза и сульфатредукции в хемоклине озера Шунет, тем самым открыт уникальный объект, имеющий общенаучное значение как природная лаборатория – пример ярко выраженной вертикальной стратификации планктонных популяций.

Впервые дана сравнительная характеристика двух водоемов с точки зрения закономерностей плотностной стратификации, экологии фототрофных серных бактерий и их пространственной динамики.

Несмотря на то, что палеолимнологические исследования донных отложений проведены с помощью стандартных методов, для региона Хакасии такие исследования проведены впервые. Впервые на основе анализа донных отложений и натурных данных сформулирована гипотеза об увеличении продукции пурпурных серных бактерий в периоды подъема разработано уровня озера. Тем самым впервые обоснование ЛЛЯ использования захороненных пигментов фототрофных серных бактерий в качестве индикатора на только стратификации, но и направления изменения уровня меромиктических озер.

<u>Практическая значимость</u> Полученные натурные данные могут быть использованы при разработке моделей качества воды. В частности, расчет динамики сероводородной зоны необходим для прогноза бальнеологических свойств озера. Основными моделируемыми показателями являются вертикальная стратификация водной толщи и активность фототрофных серных бактерий. Натурные данные по этим показателям, полученные в настоящей работе, могут быть использованы для настройки и верификации прогнозных моделей, В том числе И глубины распространения сероводородной зоны.

Показано, что озеро Шира обладает относительно редким сочетанием свойств, делающих его подходящим объектом для высокоразрешающих палео-лимнологических реконструкций. К числу таких свойств относится варвная структура донных отложений, а также наличие документированной динамики уровня за период последних более ста лет. Тем самым открыта возможность детальной реконструкции баланса осадков и испарения в

период позднего голоцена на территории Южной Сибири. Данная реконструкция необходима для выявления возможных природных циклических закономерностей, которые должны учитываться при прогнозах климатических сценариев будущего.

Апробация работы и публикации Результаты диссертации докладывались международной конференции «Фундаментальные на И прикладные проблемы охраны окружающей среды» (Томск, 1995), Международном симпозиуме «Окружающая среда и взаимодействие» (г. Порто, Португалия, Международной конференции по 1996). 8-й соленым озерам (п. Жемчужный, Хакасия, 2002), 1-м Европейском конгрессе микробиологов (г. Любляна, Словения, 2003), 1-м, 2-м 3-м Байкальских на И микробиологических симпозиумах с международным участием (г. Иркутск, 2003, 2007, 2011), 10-м Международном симпозиуме «Экология Мексика, 2004), Канкун, 4-й микроорганизмов» (г. Верешагинской Байкальской конференции (г. Иркутск, 2005), 11-м Международном симпозиуме «Экология микроорганизмов» (г. Вена, Австрия, 2006), 1-м Международном симпозиуме по зимней лимнологии (г. Килпис-Ярви, Финляндия, 2008), 10-м съезде Гидробиологического общества при РАН (г. Владивосток, 2009), 31-м Конгрессе Международного Лимнологического Общества (г. Кейптаун, ЮАР, 2010), на Международной школе по физической лимнологии (г. Хайдельберг, Германия, 2014), на семинарах по Интеграционным проектам Сибирского отделения РАН (г. Новосибирск, 2007; г. Красноярск, 2012; п. Жемчужный, Хакасия, 2012), а также на семинарах Института биофизики СО РАН и конференциях молодых ученых.

Результаты работы представлены в 85 печатных работах, из которых 1 патент на изобретение, 8 глав в монографиях, 30 статей в рецензируемых журналах, 2 статьи в сборниках и 44 тезиса конференций.

Личный вклад автора Соискателю принадлежит решающая роль в выборе исследований, направлений получении теоретических, натурных И экспериментальных данных, обобщении полученных результатов. Автор являлся организатором и непосредственным участником всех полевых экспедиций, результаты которых вошли в диссертацию. В работах, выполненных В соавторстве, вклад соискателя заключался в непосредственном участии во всех этапах исследования – от постановки задач и проведения теоретических, экспериментальных и полевых работ, до обсуждения полученных результатов и их литературного оформления.

Место проведения работы Основные результаты были получены во время исследований, проводимых автором в лаборатории биофизики экосистем Института биофизики Сибирского отделения РАН (г. Красноярск). Все натурные наблюдения, измерения И отборы проб на водоемах осуществлялись на базе полевого стационара Института биофизики СО РАН (Республика Хакасия, Ширинский район, п. Жемчужный). Изотопные Институте микробиологии исследования проводились В ИМ. С.Н.Виноградского РАН (г. Москва) и в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (п. Борок Ярославской области). Элементный состав и датировка донных отложений осуществлялись в Институте геологии и минералогии им. Соболева СО РАН (г. Новосибирск). Расчеты вертикальных структур озер осуществлялись в Институте вычислительного моделирования СО РАН (г. Красноярск). Нуклеотидные последовательности фрагментов ДНК микроорганизмов определялись в ЦКП «Секвенирование ДНК» СО РАН (г. Новосибирск).

Благодарности Автор приносит искреннюю благодарность своему научному консультанту академику А.Г. Дегерменджи за научное руководство и добрые советы на всех этапах работы. Автор благодарен коллегам по лаборатории и постоянным участникам экспедиций Толомееву А.П., Задерееву Е.С., Зыкову В.В., Бархатову Ю.В., Дроботову А.В. За плодотворное сотрудничество и творческую дружескую атмосферу автор

выражает глубокую признательность своим коллегам и соавторам из других учреждений: Пименову Н.В., Русанову И.И., Саввичеву А.С., Луниной О.Н., Захаровой Е.Е (Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского РАН), Косолапову Д.Б. (Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН), Калугину И.А. и Дарьину А.В. (Институт геологии и минералогии им. Соболева СО РАН), Белолипецкому В.М. и Геновой С.Н. (Институт вычислительного моделирования СО РАН), Гаевскому Н.А. (Сибирский Федеральный Университет). Особая благодарность сотрудникам Института биофизики СО РАН Сатарову М.М. за изготовление высококлассного специального оборудования, без которого данная работа была бы невозможна, Козлову Ф.Ф. за неоценимую помощь в экспедициях, М.Ю. Трусовой за помощь и соавторство в анализе ДНК микроорганизмов, Калачевой Г.С. за химический анализ и ценные советы на различных этапах, М.И.Гладышеву за ценные критические замечания при обсуждении работы.

<u>Структура и объем работы</u> Диссертационная работа изложена на 425 страницах и включает 109 рисунков и 28 таблиц. Работа состоит из введения, семи глав, выводов, заключения, приложения и списка литературы. Первая глава представляет собой обзор литературы. Описания методов, используемых при получении тех или иных результатов, приведены в соответствующих главах. Список литературы содержит 306 источников, из них – 221 на английском языке.

ГЛАВА 1. ЭКОЛОГИЯ ФОТОТРОФНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ И ЕЕ СВЯЗЬ СО СТРАТИФИКАЦИЕЙ ВОДОЕМОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Закономерности стратификации водоемов и меромиксия озер

1.1.1 Термический цикл водоемов

ДЛЯ большинства Типичный глубоких пресноводных водоемов сезонный цикл стратификации водной толщи в описан во множестве классических работ и учебников (Hutchinson, 1957; Кузнецов, 1970; Тихомиров, 1982; Boehrer, Schulze, 2008). Ниже мы приводим его краткое описание в качестве основы для рассмотрения причин возникновения перманентной стратификации (меромиксии). В теплое время года при постепенном повышении температуры воздуха начинает повышаться температура поверхностной воды, и эта вода, более теплая и легкая, остается При на поверхности. ЭТОМ возрастает сопротивление ветровому перемешиванию поверхностной воды с глубинной водой, более холодной и тяжелой. Когда разность температур поверхностных и глубинных слоев достигает заметной величины, ветровая циркуляция начинает захватывать только поверхностный слой. Наступает период летней температурной стратификации, или летней стагнации. На основании вертикального распределения температуры в это время в озерах можно выделить: 1) поверхностный слой воды, называемый эпилимнион, имеющий почти одинаковую температуру по глубине; 2) тотчас под ним лежащий слой, называемый слоем температурного скачка, или термоклином, в котором наблюдается очень резкое падение температуры с глубиной; 3) нижележащие слои, называемые гиполимнионом, в которых понижение температуры с глубиной очень незначительно, а сама температура низка и соответствует температуре всей толщи воды к концу весенней циркуляции. С наступлением осени и понижением температуры воздуха охлаждаются и поверхностные слои озера. При этом вода становится тяжелее и опускается, возникает конвекция, и постепенно происходит охлаждение всего эпилимниона. Снижение температуры продолжается и дальше, И перемешивание постепенно захватывает все более глубокие слои сначала термоклина, а затем и гиполимниона. Этому в большой мере способствуют ветры. Наконец, вода озера принимает одинаковую температуру и плотность. Наступает осенняя гомотермия: вода свободно перемешивается от поверхности до самого дна, и свойства ее выравниваются во всей толще. Если температура гиполимниона летом была выше +4° C, то при этой температуре и начинается полная осенняя циркуляция. Заканчивается она незадолго перед ледоставом. Осенняя циркуляция в значительной степени повторяет весеннюю, с той лишь разницей, что вызывается снижением температуры. Аналогично весенней циркуляции, осеннее перемешивание может идти в течение длительного периода и зависит от условий погоды и срока наступления ледостава. Отсрочка появления ледового покрова обычно удлиняет период осенней циркуляции.

Понижение температуры воздуха в начале зимы ведет к снижению температуры воды до +4° С. При дальнейшем охлаждении плотность воды начинает снижаться, и при отсутствии ветровых циркуляций более легкая и холодная вода остается на поверхности. По сравнению с периодом летней стратификации, температурные условия получаются как раз обратными – зимой более теплая вода находится у дна, а более холодная - у поверхности, но что касается плотности воды, то закономерность сохраняется - более находится у поверхности. Наконец, образование льда легкая вода окончательно изолирует озеро от атмосферного воздействия и ветровых перемешиваний, и все озеро в целом становится похожим на гиполимнион в период летней стратификации. Тонкий подледный слой имеет температуру около 0° С. Затем идет быстрое повышение до $+3^{\circ}$ С, а еще глубже идет постепенное повышение до +4° C, однако в средних широтах при затяжной осенней циркуляции температура воды во всем озере зачастую падает до +1°

°C ... +2° C. После замерзания водоема начинается прогрев глубинных слоев воды за счет теплоотдачи донных отложений (ила), и уже только с этого момента термическая стратификация приближается к вышеописанному идеальному случаю.

1.1.2 Меромиктические водоемы: краткая характеристика и причины возникновения

Озера, в которых полная циркуляция всей водной толщи происходит хотя бы один раз в год, называются голомиктическими по классификации Хатчинсона (Hutchinson, 1957). Большинство озер мира относятся к этому типу. В противоположность голомиктическим, существуют озера, в которых только поверхностная часть водной толщи подвергается весенней и осенней циркуляции, аналогично описанной выше, в то время как глубинные слои воды, обладающие большей плотностью, в циркуляции не участвуют. Такие озера называются «меромиктическими», что в переводе с латинского означает «полу-перемешиваемые». В меромиктических озерах верхняя часть водной толщи, которая подвергается полной сезонной циркуляции хотя бы раз в год, называется миксолимнионом, тогда как глубинная часть воды, выключенная из процесса перемешивания, называется монимолимнионом (Hutchinson, 1957; Boehrer, Schulze, 2008). Явление меромиксии встречается среди озер во всем мире, от тропических до полярных регионов (Gibson, 1999), однако везде озера этого класса достаточно редки (Hammer, 1994). Причиной возникновения меромиксии является повышенное содержание растворенных веществ в глубинных водах по сравнению с поверхностными. Т.е. в меромиктических водоемах разность плотностей за счет растворенных веществ достаточна для того, чтобы противостоять полной сезонной циркуляции, описанной выше (п. 1.1.1).

Меромиктические озера классифицируются по причинам, приводящим к повышенному количеству растворенных веществ в монимолинионе. Согласно общепринятой классификации, предложенной Хатчинсоном,

меромиктические водоемы можно разделить на эктогенные, креногенные и эндогенные (биогенные) (Hutchinson, 1957).

Эктогенная меромиксия возникает в результате поступления в озеро значительных количеств воды другой солености, чем изначальная.

Эктогенная меромиксия возникает двумя путями. Один путь - когда в изначально пресное озеро попадает соленая вода. Например, в озерах, отделенных от морского побережья узкой полосой суши, меромиксия возникает при эпизодических поступлениях морской воды. Более соленая (следовательно – более тяжелая) морская вода опускается на дно водоема, и остается там в течение нескольких лет. Примером такого водоема является озеро Фидлер (Lake Fidler, о. Тасмания), в которое периодически поступали воды из солоноватого речного эстуария, поддерживая меромиктическое состояние. После постройки дамбы поступление солоноватой воды прекратилось, и озеро перестало быть меромиктическим (Hodgson et al., 1996). Предположительно, аналогичным образом Черное море превратилось в меромиктический водоем после того, как около 9000 лет назад в результате послеледникового подъема уровня океана соленые воды Средиземного моря проникли через пролив Босфор в изначально пресный водоем, о чем свидетельствует состав донных отложений (Sinninghe Damste et al., 1993; Canfield et al., 1996).

Второй путь возникновения эктогенной меромиксии – когда в изначально соленое озеро поступает пресная вода и остается на поверхности, образуя распресненный миксолимнион. Такой тип водоемов также характерен для морских побережий. В частности, на побережье Антарктиды описаны многочисленные реликтовые озера, бывшие ранее заливами моря. По мере отступления ледника от побережья и поднятия берега, они отделились от моря, оставаясь солеными. Пресная вода, поступая в результате таяния снега и льда, а также с атмосферными осадками, сформировала в этих озерах распресненный миксолимнион (Gibson, 1999). Аналогично происхождение меромиксии в реликтовом озере Могильное

(о.Кильдин, Баренцево море) (Иванов и др., 2001), а также многих небольших озерах на побережье Белого моря (Краснова Е.Д., Пантюлин, 2013; Savvichev et al., 2014). Меромиксия такого типа описана и для озер, никогда не имевших связи с морем. В частности, для бессточных соленых степных озер провинции Саскачеван (Канада) (Hammer, 1994; Last, Ginn, 2005), в которых пресная вода в годы обильных выпадений снега инициирует меромиксию (Hammer et al., 1994). Показано, что в засушливые и малоснежные годы уровень этих озер снижается, что приводит к перемешиванию водной толщи и переходу озер в голомиктический режим (Hammer et al., 1994).

Меромиксия эктогенного типа может быть вызвана искусственно. Во многих регионах мира существуют искусственные озера, появившиеся в результате затопления заброшенных шахт и карьеров. Часто такие озера являются меромиктическими, поскольку в придонной части вода имеет повышенную соленость, тогда как поверхностные воды являются пресными. Таковы, например, меромиктические озера Воллендорфер Зее (Wallendorfer See) и Расснитцер Зее (Rassnitzer See) в Германии (Boehrer et al., 2014). Аналогично, соленое озеро Моно (Mono Lake, California), долгое время лишенное естественного притока пресной воды, стало меромиктическим после того, как был восстановлен этот приток (Jellison, Melack, 1993; Romero et al., 1996; Jellison et al., 1998). В озере Big Soda Lake (Невада, США) меромиктический режим установился, когда его уровень поднялся на 18 м из - за развития ирригации в окрестностях (Melack, Jellison, 1998). Аналогично, (Victoria) в В небольшом озере Виктория Австралии меромиксия установилась в результате резкого поступления большого количества дождевой воды, после длительного предшествующего периода постепенного многолетнего усыхания и концентрирования растворенных солей (Timms 1972). Примером обратного перехода является Мертвое Море (Израиль): после сильного испарения воды озеро из меромиктического превратилось в голомиктический водоем (Jelisson, Melack, 1993).

Креногенная меромиксия возникает за счет поступления минерализованных подземных вод в глубинные слои изначально пресного озера. К таковым относятся многие карстовые озера, например озера Большой и Черный Кичиер, Кононъер (Республика Марий Эл) (Горленко и др., 1977). Одно из наиболее изученных меромиктичских озер мира – Каданьо (Cadagno, Швейцария) (Del Don et al., 2001) - также относится к этому типу. В таких водоемах, как правило, разность солености между монимолимнионом и миксолимнионом невелика, хотя и достаточна для поддержания перманентной стратификации.

Эндогенная меромиксия. Помимо внешних причин, описанных выше, градиент плотности может возникать и поддерживаться за счет внутренних механизмов, как геохимических, так и биологических. Так, показано, что деструкция органики в придонных водах может вносить вклад в повышение их плотности, причем, чем более продуктивно озеро, тем больший вклад вносят биологические процессы в его стратификацию (Wetzel, 2001; Schlesinger, 2005).

Некоторые соли могут выпадать в осадок из раствора в верхней части озера, и растворяться в – нижней, тем самым увеличивая минерализацию придонных слоев. Например, в водах, обогащенных растворенными карбонатами, в верхней фотической зоне в результате активного фотосинтеза повышается pH, что приводит к выпадению в осадок и оседанию в глубинные слои карбоната кальция (кальцита). В глубине, при низкой температуре и меньшем pH кальцит вновь растворяется, тем самым увеличивается минерализация глубинных вод. Данный механизм, в частности, был описан для озера Ла Круз (La Cruz, Испания) (Rodrigo et al., 2001).

В значительном количестве озер было показано, что процессы выпадения в осадок и последующего растворения солей железа могут поддерживать меромиксию: двухвалентное железо, попадая в водоем с питающими водами, окисляется до трехвалентного и оседает в виде гидроксида. В глубинных слоях трехвалентное железо вновь частично восстанавливается, и растворяясь, увеличивает плотность глубинных вод. Оба процесса – и окисление, и восстановление - проходят с участием специализированных групп микроорганизмов (Kjensmo,1967, 1968; Schimmele et al., 2000; Karakas et al., 2003).

К числу эндогенных процессов, поддерживающих стратификацию, относится и выпадение в осадок сульфата натрия (мирабилита). Данный процесс протекает при соленостях выше 30 г л⁻¹ в водоемах, обогащенных растворенными сульфатами, и расположенными в умеренных широтах. В холодное время года мирабилит выпадает в форме кристаллов на дно, где может вновь растворяться при повышении температуры в летнее время (Rawson, Moore, 1944; Hammer, 1994). Выпадению сульфата натрия способствует увеличение концентрации соли в растворе за счет образования льда. Данный процесс был описан для озер провинции Саскачеван (Канада) (Hammer, 1994) (см. также Главу 2).

Процесс образования и последующего таяния ледового покрова сам по себе может вызывать меромиксию, поскольку распресненный верхний слой талой воды препятствует весеннему перемешиванию. При благоприятных условиях, в частности, при повышении уровня воды, данное расслоение может сохраниться и в годовом цикле (Hammer, 1994; Gibson, 1999) (см. также Главу 2). Аналогично, в слабосоленом димиктическом озере Онондага (Onondaga Lake, США) дважды за 19 лет наблюдений не происходило весеннее перемешивание из-за совместного влияния длительного ледостава, поступления соленой воды и обильных дождей (O'Donnell et al., 2010).

Кроме вышеперечисленных основных причин меромиксии, было выявлено, что морфология озерной котловины также может обусловливать затрудненную циркуляцию воды, что приводит к так называемой морфогенной меромиксии. Данное явление наблюдается в резко выраженных понижениях дна, в которых водные массы не полностью захватываются общей циркуляцией. Кроме того, показано, что большая относительная глубина также способствуют поддержанию меромиксии (Boehrer, Schulze, 2008).

В Бёрером был недавнее время предложен еще ОДИН ТИП стратификации, приводящий меромиксии термобарическая к стратификация. Данное явление наблюдается в очень глубоких водоемах. В них плотность глубинных слоев воды повышена за счет высокого гидростатического давления, повышения которого достаточно ДЛЯ возникновения перманентной стратификации (Boehrer, Schulze, 2008).

В целом, классификация меромиктических водоемов и их многочисленные примеры приведены в ряде обзорных работ, например, в работах Уолкера и Ликенса (Walker, Likens, 1975), Hakala (2004), а также в наиболее полном последнем обзоре Бёрера и Шульце (Boehrer, Schulze, 2008). Поэтому мы не ставим задачу подробного описания разнообразия меромиктических водоемов, а останавливаемся лишь на основных причинах, приводящих к меромиксии, а также далее рассматриваем основные проблемы, порождающие интерес к изучению данного явления.

1.2 Прогноз стратификации озер: математическое моделирование

Принимая во внимание невозможность постановки экспериментов с природными водоемами, математическое моделирование представляется единственным возможным методом прогноза их стратификации. Поскольку горизонтальный перенос и обмен водных масс происходит значительно быстрее, чем вертикальный, в первом приближении горизонтальными неоднородностями характеристик воды в озерах можно пренебречь, считая, что на всех глубинах слои воды равномерно перемешаны по всей площади озера (Imberger, Patterson, 1981). В этом случае распределение плотности воды по глубине озера достаточно хорошо рассчитывается одномерными моделями. Наиболее часто используемая одномерная модель DYRESM (Imberger, Patterson, 1981) успешно применяется для моделирования

вертикальной структуры пресных озер, однако недостаточно хорошо стратификацию соленого озера, как было выявлено описывала при моделировании озера Моно (Romero, Melack, 1996). Было выявлено, что демонстрировала более устойчивую стратификацию, модель чем наблюдаемая. Данная модель была модифицирована введением в формулу для коэффициента турбулентной диффузии дополнительного параметра, включающего расчет так называемого «озерного числа» (Lake Number), характеризующего степень перемешивания водной толщи ниже пикноклина (Imberger, Patterson, 1990). В результате обильного поступления пресной воды, вызванного аномальным выпадением снега в 1983 г., уровень озера поднялся на 2.6 м, и в нем возник устойчивый хемоклин, который существовал в течение пяти лет. Разность солености между миксолимнионом и монимолимнионом из года в год уменьшалась благодаря испарительному концентрированию, снижению притока пресной воды и перемешиванию слоев. В 1986 г. очередное большое поступление пресной воды вызвало поднятие уровня озера на 0.7 м, и в озере сформировался второй хемоклин выше первого. Затем с 1986 по 1988 гг. меромиксия ослаблялась, и озеро перешло в голомиктический (мономиктический режим). Вышеописанная наблюдений была картина адекватно смоделирована с помощью модифицированной модели DYRESM, тем самым было доказано, что основной причиной поддержания меромиксии являются эпизодические обильные поступления пресной воды с поверхностным стоком (Romero, Melack, 1996). Верифицированная по вышеописанным натурным данным модель была применена для прогноза установления, разрушения и степени устойчивости меромиксии для различных гипотетических сценариев поступления и испарения воды. Было показано, что эпизоды меромиксии инициируются резким поступлением большого количества воды, т.е. наблюдаются после относительно влажных лет, и соответственно – разрушение меромиксии наблюдается в более засушливые годы (Romero, Melack, 1996). Однако, озеро Моно в зимний период не замерзало, и модель DYRESM не учитывает процессы образования льда в зимний период.

В мире разработан еще ряд одномерных моделей, описывающих вертикальные распределения температуры воды и стратификацию водоемов, а также рассчитывающих потоки тепла через границу «поверхностьатмосфера». Например, модели Hostetler (Hostetler et al., 1993); CLM4-LISSS (Subin et al., 2012); LAKEoneD (Joehnk, 2001); SimStrat (Goudsmit et al., 2002), LAKE (Stepanenko and Lykosov, 2005); MINLAKE96 (Fang and Stefan, 1996), FLake (Mironov, 2008), и ряд других. Вышеперечисленные модели успешно применялись к расчетам вертикальных режимов перемешивания И теплообмена «атмосфера-вода» в различных пресных водоемах умеренных широт, в том числе и замерзающих. Например, к Женевскому озеру (Perroud et al., 2009), небольшому озеру Lake Sparkling (Stepanenko et al., 2010), a также к тропическому меромиктическому озеру Киву (Кіvu, Камерун) (Thiery et al., 2014). Необходимость расчетов тепловых потоков продиктована тем, что в регионах с большим количеством озер существенно проявляется их влияние на теплообмен между поверхностью земли и атмосферой (Bonan, 1995). Следовательно - модели озер являются необходимым компонентом для интегрирования в климатические модели для территорий, на которых поверхность озер составляет значительную долю от общей поверхности. Например, Канада, Финляндия и т.п. Ряд вышеперечисленных моделей позволяет рассчитывать толщину льда в пресноводных водоемах (Pour et al., 2012). В частности, на больших пресноводных озерах Канады (Большое Невольничье и Большое Медвежье озера) были проведены сравнения расчетных, натурных и спутниковых данных по температуре поверхности и толщине льда. Было показано, что характеристики снегового покрова достаточно хорошо оцениваются дистанционно с помощью данных космического спектрорадиометра MODIS (Pour et al., 2012).

В озерах Шира и Шунет, исследуемых в настоящей работе, существенный вклад в перераспределение солей и формирование

стратификации вносит таяние толстого ледового покрова. Очевидно, что для прогноза стратификации замерзающих соленых озер необходима модель, учитывающая процессы замерзания и таяния льда, а также количество снега на поверхности льда (см. Главу 2). Модели вертикальной стратификации применялись к соленым либо солоноватым водоемам умеренных широт, например к слабо-соленому (около 1 г π^{-1}) озеру Онондага (Onondaga Lake, США) (O'Donnell et al., 2010). Однако, в этом озере, расположенном на широте 43°СШ, ледовый покров значительно тоньше, а период ледостава менее длительный (два месяца), и не оказывает существенного влияния на перераспределение солей. Поэтому В данной модели процессы формирования-таяния льда не рассчитывались.

Нам неизвестны работы, где в расчетах стратификации соленых водоемов применялись бы модели формирования ледового покрова, кроме озера Шира. Для озера Шира была разработана модель, позволяющая адекватно рассчитывать толщину льда, глубину термогалинной конвекции в подледный период, и формирование неоднородности концентрации солей, приводящее к блокированию весенней циркуляции водной толщи (Белолипецкий, Генова, 2008; Genova et al., 2010; Белолипецкий и др., 2012).

В целом, анализ работ позволяет заключить, что одномерные модели могут применяться к расчетам вертикальной стратификации, но возможен недоучет таких процессов, как внутренние волны и перемещения водных масс на склонах дна. Вышеуказанные процессы ослабляют стратификацию водной толщи и приводят к более глубокому ее перемешиванию (Romero, Melack, 1996). Несмотря на то, что вертикальный перенос водных масс в меромиктических озерах достаточно медленный, монимолимнион, как правило, не бывает полностью выключен из обмена с миксолимнионом. Процесс медленного водообмена между двумя зонами все же идет. Например, возраст монимолимниона в вулканическом озере, оцененный по содержанию гелия, составил около 70 лет (Aeschbach-Hertig et al., 1999). Однако, знаний о вертикальном переносе и обмене водных масс

недостаточно, поэтому надежное численное моделирование меромиктических водоемов до настоящего времени остается актуальной и в общем случае нерешенной задачей (Stevens, Lawrence, 1997, 1998; Jellison et al., 1998; Boehrer et al., 1998; Castendik, Webster-Brown, 2007a, b; Moreira et al., 2011; Boehrer et al., 2014).

1.3Экофизиология фототрофных серных бактерий в стратифицированных водоемах

Фототрофные серные бактерии - специфическая группа микроорганизмов, осуществляющая аноксигенный фотосинтез и использующая в качестве донора электронов восстановленные соединения серы (Кузнецов, 1970; Горленко и др., 1977; Pfennig, Truper, 1989). Соответственно, необходимыми факторами развития данной группы в природе являются свет и наличие вышеуказанных соединений. Именно такие условия формируются в глубине стратифицированных водоемов, если солнечный свет достигает анаэробной зоны (Overmann, 1997). Наиболее благоприятная экологическая ниша планктонных фототрофных серных бактерий в озерах – верхняя граница распространения сероводорода, т.е. именно редокс-зона и непосредственно к ней прилегающие слои воды. Здесь данные бактерии часто формируют плотные скопления в виде взвешенных слоев, окрашенных в красный, зеленый, бурый и др. цвета, благодаря наличию светопоглощающих пигментов. Данное явление многократно описано в научной литературе, и является хрестоматийным примером пространственной неоднородности распределения микроорганизмов в водных экосистемах (Sigee, 2005). Впервые описание данного явления и характеристика видового состава были даны еще в XIX веке (Winogradsky, 1888).

Фототрофные серные бактерии относятся к двум большим группам: *Chromatiaceae* (пурпурные серные бактерии, ПСБ) и *Chlorobiaceae* (зеленые серные бактерии, ЗСБ). Пурпурные серные бактерии – анаэробные микроорганизмы, осуществляющие аноксигенный фотосинтез, содержат в качестве основного светопоглощающего пигмента бактериохлорофилл а и каротиноиды спириллоксантин и окенон (последний характерен только для этого семейства) (Pfennig, Truper, 1989; Takaichi, 1999). Все ПСБ используют восстановленные соединения серы в качестве доноров электрона, в первую очередь сульфид (сероводород) и элементную серу, а также тиосульфат. Окисление сероводорода происходит в два этапа: сначала до элементной серы, которая трансформируется в полисульфиды и откладывается в виде глобул внутри клеток, а затем до сульфата (Pfennig, Truper, 1989). Показано, что некоторые виды ПСБ могут существовать в присутствии малых концентраций кислорода (de Wit, van Gemerden, 1990), и даже переходить в микроаэрофильных условиях на хемосинтез (Overmann, Pfennig, 1992б). Клетки некоторых видов подвижны, обладают жгутиками, другие – неподвижны. Многие виды ПСБ производят и запасают внутриклеточные полигидроксиалконоаты в качестве запасов углерода для фотосинтеза (Jordi et al., 1995). ПСБ фиксируют углекислоту в рибулозо-бифосфатном цикле (Шлегель, 1987).

Зеленые серные бактерии (Chlorobiaceae) являются схожей по экологическим требованиям (свет+сероводород), основным однако микроорганизмов. филогенетически не родственной с ПСБ группой Главными фотосинтетическими пигментами y них являются бактериохлорофиллы c, d и e, каротиноиды хлоробактин и изорениератин (Takaichi, 1999). Данное семейство подразделяется на так называемые «зеленые» ЗСБ, содержащие хлоробактин, и «коричневые» ЗСБ, содержащие изорениератин. В отличие от ПСБ, ЗСБ окисляют сероводород только до элементной серы, которую откладывают не внутри клеток, а снаружи. ЗСБ не способны фиксировать углекислоту в рибулозо-бифосфатном цикле, для этого они используют восстановительный цикл трикарбоновых кислот (Шлегель, 1987). ЗСБ – строгие анаэробы, и не переносят присутствия кислорода. Клетки ЗСБ неподвижны, поэтому в природе часто встречаются консорциумы, состоящие из подвижной гетеротрофной бактерии и прикрепленных к ней эпибионтных клеток ЗСБ (Горленко, 1977; Frostl, Overmann, 1998; Glaeser, Overmann, 2003).

Зеленые серные бактерии являются наиболее теневыносливыми фототрофными организмами на Земле. Они обладают наиболее развитой светособирающей антенной, состоящей из специальных внутриклеточных (Overmann, Garsia-Pichel, 2000). структур _ хлоросом Наиболее экстремальный случай адаптации к низким освещенностям на сегодняшний день зарегистрирован в хемоклине Черного моря на глубинах около 60-150 м. Здесь обитает уникальная популяция коричнево-окрашенных ЗСБ. представленная практически одним видом, филогенетически близким к видам Chlorobium phaeovibrioides и Prosthecochloris aestuarii (Overmann, Manske, 2006), содержащим Бхл е и каротиноид изорениератин. Освещенности в хемоклине Черного моря на глубинах 90-110 м составляют порядка 0.001 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹, что составляет 0.0007 % ОТ поверхностной освещенности. Несмотря на то, что прямые измерения ¹⁴CO₂ в хемоклине Черного световой ассимиляции моря не дали положительных результатов (Sorokin, 1982; Jorgensen et al., 1991), косвенные данные свидетельствуют, что популяция ЗСБ является фотосинтетически активной. В частности, показано, что концентрация Бхл е и численности ЗСБ в Черном море заметно уменьшаются с увеличением глубины хемоклина (Overmann, Manske, 2006; Repeta et al., 1989), что свидетельствует о световом лимитировании ЗСБ в хемоклине Черного моря. Кроме того, в лабораторных условиях при очень слабом освещении (< 1 мкмоль фотонов м⁻² c^{-1}) штамм ЗСБ из Черного моря был способен расти значительно быстрее, чем контрольные штаммы из других водоемов, и наоборот – при насыщающих освещенностях данный штамм рос медленнее контрольных (Overmann, Manske, 2006).

Фототрофные серные бактерии являются одной из хорошо изученных групп микроорганизмов, их видовое разнообразие, морфология и физиология

описаны во многих классических пособиях (Кондратьева, 1963; Kondratyeva, 1965; Клейтон, 1984; Шлегель, 1987; Pfennig, Truper, 1981), поэтому мы не останавливаемся на подробном рассмотрении этих вопросов.

Научный интерес аноксигенным фототрофным к бактериям обусловлен, во-первых, особенностями их фотосистем, что делает их удобными модельными организмами для изучения биохимических и биофизических механизмов фотосинтеза; во-вторых, их биоразнообразием, которое способствует выявлению и реконструкции эволюции фотосинтеза; и в-третьих – их ролью в биогеохимическом круговороте тех экосистем, где организмов. Кроме формируются плотные скопления ЭТИХ τογο, меромиктические водоемы являются наиболее изученными аналогами древних стратифицированных сульфидных океанов. В большом количестве публикаций показано, что аноксигенные фототрофы были важными первичными продуцентами в истории Земли и играли существенную роль в эволюции океанов и химического состава атмосферы (Brocks et al., 2005). Компоненты липидных мембран АФБ, такие как каротиноиды и гопаноиды (hopanoids) являются долгоживущими, и сохраняются на временах порядка миллиардов лет (Maresca et al., 2012).

1.4 Стратификация фототрофных серных бактерий в меромиктических озерах

Как правило, пурпурные и зеленые серные бактерии сосуществуют в стратифицированных водоемах одновременно, однако долгое время не было объяснения, почему в одних водоемах доминируют зеленые серные бактерии, в других озерах ЗСБ и ПСБ существуют в смешанной популяции, в третьих – ПСБ и ЗСБ развиваются в разных слоях, в четвертых – доминируют пурпурные (Pfennig, Truper, 1981). При этом в водоемах, где сосуществуют обе группы, они занимают разное положение по вертикали: ЗСБ, как правило, расположены ниже ПСБ. Такое распределение зарегистрировано во

множестве водоемов, в частности, в олиготрофном меромиктическом озере Марал-Гёль (Горленко и др., 1977), озере Ciso (Lake Ciso, Испания) (Guerrero et al., 1985), озере Дэдмус (Deadmoose Lake, Канада) (Parker et al., 1983), в карстовых озерах Поволжья (Горбунов, Уманская, 2003) и многих других (Vila et al., 1998). В меромиктическом озере Каданьо (Cadagno, Швейцария) данное распределение было зарегистрировано в конце лета и осенью (августоктябрь), тогда как в марте и июне в хемоклине распределение различных видов фототрофных серных бактерий в зоне хемоклина было достаточно равномерным (Tonolla et al., 2003).

Объяснению стратификации фототрофных серных бактерий посвящено множество работ, в них достаточно убедительно выявлены основные причины, приводящие к расположению ЗСБ ниже ПСБ.

Одним из наиболее значимых факторов является отношение к кислороду. Многие ПСБ толерантны к кислороду и могут развиваться в микроаэрофильной зоне (Горленко и др., 1977). Для некоторых видов ПСБ в лабораторных условиях было показано, ЧТО эти бактерии хорошо адаптированы к периодической смене условий со световых аэробных на темновые анаэробные (de Wit, van Gemerden, 1990). Вероятно, это обеспечивает им преимущество в конкуренции за свет именно на верхней границе распространения сероводорода, т.е. в хемоклине озер и на поверхности циано-бактериальных матов. ЗСБ, являясь строгими анаэробами, глубинную вынуждены более занимать нишу, часто непосредственно под слоем ПСБ, который, возможно, служит «прикрытием» от ингибирующего действия кислорода. Кроме того, ПСБ обладают большей подвижностью за счет наличия жгутиков либо газовых вакуолей, и они способны активно перемещаться в наиболее благоприятную зону вслед за изменениями ее положения, тогда как неподвижные ЗСБ к этому неспособны (Tonolla et al., 2003). Однако, и среди ЗСБ есть виды, обладающие газовыми вакуолями (Горленко и др., 1977).

Более гибкий метаболизм также способствуют доминированию ПСБ на верхней границе редокс-зоны. Так, возможность создавать внутриклеточный запас полисульфидов позволяет ПСБ некоторое время не зависеть от притока сероводорода, что позволяет им находиться на самой верхней границе анаэробной зоны, где освещенность наибольшая, в отличие от ЗСБ (van Gemerden, 1985). Как уже отмечалось выше, многие ПСБ способны к хемолитотрофному росту в присутствии кислорода (Schaub, van Gemerden, 1994). Кроме того, некоторые виды ПСБ способны и к миксотрофному росту, утилизируя органические субстраты, производимые в хемоклине другими микроорганизмами (Eichler, Pfennig, 1988), тогда как ЗСБ являются облигатными фототрофами.

Сосуществование ПСБ и ЗСБ в градиенте физико-химических факторов становится возможным благодаря различию их фотосистем. Во-первых, было показано, что ПСБ требуется более интенсивный свет, тогда как ЗСБ, обладая значительно более мощной светособирающей антенной, способны расти с теми же скоростями при меньших интенсивностях. Кроме того, показано, что ЗСБ требуется в 8 раз меньше энергии на поддержание, чем ПСБ (van Gemerden, 1980).

Помимо интенсивности света, различия в спектрах поглощения бактерий также объясняют их стратификацию. В ряде работ было показано, что спектры поглощения ПСБ и ЗСБ комплементарны, что, очевидно, ослабляет конкуренцию за свет между двумя этими группами. В работе Монтесиноса с соавторами показано на основе сравнения собственных и литературных данных, что если в озерах «пурпурный слой», состоящий из ПСБ, расположен на глубине 2-4 м, то под ним доминируют зеленые *Chlorobium* (например *Chlorobium limicola*). При глубине «розового слоя» 4-9 м наблюдается смешанное разнообразие видов *Chlorobiaceae*, при более глубоком расположении «пурпурного слоя» доминируют коричневые *Chlorobium* (например, *Chlorobium phaeobacteroides*) (Montesinos et al., 1983).
При насыщающих интенсивностях света скорости роста ЗСБ и ПСБ одинаковы, но при малых интенсивностях 15 – 45 люкс ПСБ расти не могут, а ЗСБ растут. Это объясняется следующими причинами: 1) более высокой эффективностью свето-собирающей антенны у *Chlorobiaceae* за счет более высокого содержания пигментов и расположения хлоросом на периферии цитоплазмы; 2) значительно меньшими затратами энергии на поддержание метаболизма (константа «на поддержание» в 8 раз меньше, чем у *Chromatiaceae*) (Biebl, Pfennig, 1978).

Таким образом, типичное вертикальное распределение, при котором Chromatium занимает самый верхний слой, где больше световой энергии, а неподвижные *Chlorobiaceae* остаются ниже, может быть объяснено с учетом следующих обстоятельств: 1) свет ослабляется водной толщей по мере проникновения вглубь; 2) энергетические потребности у ПСБ и ЗСБ различны; 3) ПСБ способны находить оптимальные условия при помощи При таких условиях активного перемещения. световая энергия И спектральный состав света, доходящего до ЗСБ, регулируются в первую очередь ПСБ. Эта гипотеза подтверждается тем фактом, что биомасса Chlorobium отрицательно коррелировала c количеством пигментов *Chromatium* в озере Lake Ciso в 1978 г (Pedros-Alio et al., 1983). В этих условиях спектральный состав света, прошедшего сквозь слой ПСБ, способствует развитию зеленых ЗСБ. Лабораторные эксперименты со смешанными популяциями зеленых и коричневых ЗСБ и светофильтрами, имитирующими поглощение света слоем ПСБ И столбом воды, подтверждают эту гипотезу. То же самое подтверждается корреляционным анализом. Для восьми испанских озер корреляция между концентрацией пурпурных бактерий и отношением R⁴²⁸₄₆₈, отражающим отношение бактериохлорофиллов с и d зеленых Chlorobium к бактериохлорофиллу е коричневых, была положительной, а между глубиной позиционирования «пурпурного слоя» же показателем отрицательной. И этим Бактериохлорофиллы c и d имеют пик поглощения на 428 нм, a Bchl e на 468 нм. Вода поглощает в основном ультрафиолетовый и инфракрасный свет, а ПСБ имеют пики поглощения на 370 нм, в интервале 510-530, и на 830 нм. Таким образом, слой ПСБ порождает два пика пропускания: на 450 и 650 нм. *Chlorobium* не могут поглощать свет на 650 нм, в то время как пик 450 нм почти совпадает с пиком поглощения *C. limicola* на 445 нм. В то же время *C. phaeobacteroides* являются полностью затененными в интервале 500 – 550 нм.

В работе Монтесиноса с соавторами на основе сравнения натурных данных ПО многим стратифицированным озерам И лабораторных экспериментов был сделан вывод, что при наличии слоя пурпурных серных бактерий под ними развиваются «зеленые» ЗСБ, содержащие хлоробактин, тогда как «коричневые» виды ЗСБ получают преимущество лишь в самых темновых услових, т.е. на больших глубинах либо под плотным слоем фитопланктона (Montesinos et al., 1983). В целом, из вышесказанного следует, что развитие ПСБ в озерах определяется в основном внешними условиями – светом и сульфидом, в то время как развитие ЗСБ существенно контролируется развитием ПСБ (Guerrero Mas-Castella, 1995).

Таким образом, можно утверждать, что к настоящему времени стратифицированное вертикальное распределение на уровне семейств *Chromatiaceae* и *Chlorobiaceae* изучено достаточно хорошо. В озерах Шира и Шунет, исследуемых в настоящей работе, стратификация фототрофных серных бактерий объясняется теми же причинами (Рогозин и др., 2010а, см. Главы 3, 4). Однако, не исключено, что применение новейших молекулярногенетических методов приведет к более сложной картине распределений. Так, при анализе вертикальных распределений гена диссимиляторной сульфит-редуктазы в меромиктическом озере Сугетсу (Suigetsu, Япония) было выявлено, что в хемоклине доминируют гены ЗСБ трех видов, тогда как ниже хемоклина были обнаружены и гены ПСБ (Mori et al., 2013).

Однако, причины, по которым в одних озерах доминируют ПСБ, в других ЗСБ, в третьих - имеет место сосуществование, не так ясны.

В работе Паркера С соавторами В рядом расположенных меромиктических озерах Дэдмус (Deadmoose) и Вальдси (Waldsea), Канада, описано распределение, не укладывающееся в вышеописанную схему. А именно, в оз. Дэдмус наблюдалась классическая картина: в хемоклине на глубине около 9 м доминировали ПСБ вида Lamprocystis roseopersicina, ниже располагались ЗСБ, причем концентрации Бхл а и Бхл d были одного порядка. Напротив, в оз. Вальдси в хемоклине на глубине около 7.8 м доминировали ЗСБ, а пигменты ПСБ вообще не обнаруживались (Parker et al., 1983). Авторы объяснили данное различие тем, что ПСБ вида Lamprocystis roseopersicina являются более тене- и холодо-любивы, чем ЗСБ, присутствующие в более освещенном и теплом хемоклине оз. Вальдси. Кроме того, в качестве факторов, способствующих доминированию ПСБ указывается более высокий оптимуму по рН (что совпадает с большинством свидетельств других авторов). Однако, авторы приводят собственные данные по зависимости скорости роста Lamprocystis roseopersicina от интенсивности света и температуры, но при этом ссылаются на экспериментальные данные других авторов по аналогичным зависимостям для ЗСБ. Отсутствие собственного эксперимента с обеими группами делает вывод о большей «тенелюбивости» и «холодолюбивости» ПСБ Lamprocystis roseopersicina недостоверным. Однако, в июле 1988 г. в обоих озерах наблюдалось присутствие Бхл а и доминирование ПСБ над ЗСБ, которое затем вновь прекратилось (Hammer, 1994). ПСБ в обоих озерах появлялись тогда, когда хемоклин был расположен глубже, т.е. снижались свет и температура. Таким образом, в вышеописанных озерах Канады, возможно, низкая температура является одним из факторов, определяющих доминирование ПСБ над ЗСБ, и наоборот (Parker et al., 1983; Hammer, 1994).

В озерах Шира и Шунет картина аналогичная – в «холодном» (+1.5 °C) хемоклине доминируют ПСБ, причем родственного с *Lamprocystis roseopersicina* вида, тогда как в «теплом» (+7°C...+12°C) хемоклине Шунета в большом количестве представлены ЗСБ, хотя численности ПСБ все же

выше (Rogozin et al., 2009; Рогозин и др., 2012). Более подробно вопросы доминирования в озерах Шира и Шунет обсуждены в Главах 3, 4. В теплом субтропическом озере Киннерет (Израиль) на глубине свыше 15 м при освешенностях развиваются только зеленые Chlorobium низких phaeobactreroides. При анализе причин доминирования следует учитывать такие факторы, как соленость и рН. По отношению к рН ЗСБ являются, как правило, нейтрофилами (оптимум около 6.5-7), тогда как ПСБ предпочитают более щелочные значения (ближе к 8) (Pfennig, Truper, 1989). При сравнении вышеописанных близкорасположенных водоемов Канады и Хакасии данное правило не нарушается (Parker et al., 1983; Рогозин и др., 2012). В целом, состав сообщества серных бактерий зависит от типа водоема и суммы физико-химических факторов (Горленко и др., 1977).

Меньше изучены многолетние сукцессии, a также смены доминирующих видов внутри одной группы. Для этого требуются существенно более длительные и трудоемкие исследования, поэтому такого достаточно редки. Имеются работы по озеру Каданьо рода работы (Швейцария), где преобладания ПСБ показана сукцессия ОТ К доминированию ЗСБ за 10 лет, предположительно как результат перемешивания и заглубления миксолимниона, вызванного ураганным ветром (Tonolla et al., 2005). В данной работе для распознавания видов при микроскопировании применялся наиболее адекватный метод флуоресцентной *in-situ* гибридизации (FISH). Было показано, что на протяжении десяти лет наблюдались флуктуации между видами ПСБ, принадлежащими к родам Lamprocystis, Chromatium и Thiocystis. При этом ЗСБ первоначально составляли минорную группу, в которой преобладал вид Chlorobium phaeobacteroides. Начиная с 2001 г. в озере стали доминировать ЗСБ вида *Chlorobium clathratiforme*, а ПСБ стали минорной группой. Авторы предполагают, что в результате сильного урагана, приведшего к нарушению стратификации и заглублению миксолимниона, в фотическую зону попало много биогенных элементов, что вызвало цветение фитопланктона,

увеличение мутности воды и снижение количества света в редокс-зоне, и как следствие – наблюдаемые сукцессии (Tonolla et al., 2005).

Таким образом, причины долговременных сукцессий фототрофных серных бактерий требуют дальнейшего исследования и могут служить ключом к выявлению изменений в озерных экосистемах при палеолимнологических реконструкциях.

1.5 Роль фототрофных серных бактерий в природных экосистемах

Ha сеголняшний лень значимость аноксигенных фототрофных бактерий для глобального цикла углерода невелика. Во-первых, автотрофные серные бактерии формируют достаточно плотные скопления биомассы только в определенных местах, а именно – в озерах и мелководных прибрежных участках, т.е. местах, которые относительно редки на нашей планете. Среди этих экосистем доля содержащих таких, в которых обитают фототрофные серные бактерии неизвестна, но общий вклад этих экосистем в первичную продукцию Земли составляет только 4 % (Whittaker and Likens, 1975). Показано, что в озерах, содержащих фототрофные серные бактерии, вклад аноксигенного фотосинтеза в первичную продукцию составляет в среднем 28.7 % (Overmann, 1997). Соответственно, количество углерода, фиксируемого в процессах аноксигенного фотосинтеза, должно составлять меньше 1% от глобальной первичной продукции. К тому же аноксигенный фотосинтез зависит от восстановленных серных соединений, которые являются продуктами анаэробного разложения органического углерода, уже произведенного в процессах оксигенного фотосинтеза. Следовательно, сам по себе аноксигенный фотосинтез не может приводить к накоплению углерода. Поэтому фиксация углекислоты в процессе органического аноксигенного фотосинтеза получила название «вторичной первичной продукции» (secondary primary production) (Pfennig, 1978). Таким образом, захват световой энергии аноксигенными фототрофами только компенсирует деградацию органического углерода в анаэробной трофической цепи (Overmann, Garcia-Pichel, 2000). Единственным исключением из этого являются геотермальные источники, поскольку в них сероводород имеет абиогенное происхождение. Но поскольку серные источники достаточно редки, фиксация углерода в них также незначительна в глобальном масштабе.

Однако, роль фототрофных бактерий на экосистемном уровне остается недостаточно изученной. Неясно, каким путем утилизируется биомасса этих бактерий, и в какой степени она включается в круговорот вещества в верхних аэробных слоях стратифицированных водоемов. По существующим представлениям, зоопланктон не может потреблять в пищу значительные количества вышеперечисленных групп фитопланктона из-за того, что их массовое развитие происходит в анаэробной и микроаэрофильной зонах, а зоопланктон крайне чувствителен к воздействию сероводорода (Massana et al. 1994). Однако, неоднократно было замечено, что *in situ* каланоидные копеподы способны совершать суточные миграции в зону хемоклина и активно питаться фототрофными серными бактериями (Sorokin, 1970; Overmann et al., 1999б). С другой стороны, серные бактерии могут попадать в оксигенную зону за счет турбулентного перемешивания (особенно в осеннее время) и быть доступными всем представителям зоопланктона. Однако, если питание зоопланктона серными бактериями можно считать доказанным, то степень участия бактерий в формировании вторичной продукции остается нераскрытой. Например, краткосрочные эксперименты с *Diaptomus connexus* из озера Махони, проведенные с использованием стратифицированных мезокосмов, обнаружили крайне низкую степень участия углерода серных бактерий в продукции копепод (0.6%), в то время как косвенные данные показывают, что в природных условиях, эта величина должна составлять 75-85% (Overmann et al., 1999б). Исследование питания Arctodiaptomus salinus Daday (Copepoda) в озере Шира (Tolomeyev et al., 2010) показали, что микроводорослевая способна часть рациона не удовлетворить энергетические потребности рачков, поэтому возникает необходимость

поиска дополнительных источников пищи. Неясна роль фототрофных бактерий и в микробной петле. В большинстве исследований отмечается, что криптофиты всегда находятся возле слоя фототрофных пурпурных бактерий. Остается неясным, является ли их присутствие необходимым для роста этих фитофлагеллят или случайным фактом (Gasol et al., 1992; Garcia-Gil et al., 1993; Gervais, 1997). До 25 % фитофлагеллят в зоне хемоклина в озерах потребляются специализированными популяциями инфузорий (Pedros-Alio et al., 1995; Gervais, 1998). Инфузории также часто определяются как основные потребители фотосинтезирующих бактерий в анаэробных морских и пресноводных экосистемах (Fenchel et al., 1990). В некоторых озерах наиболее важной пищей инфузорий являются фототрофные бактерии, в основном представленные пурпурными серными бактериями *Chromatium weissei* (Guhl et al., 1996).

Наилучшим образом изучена роль фототрофных серных бактерий в озере Махони (Mahoney, Canada) (Overmann et al., 1999). В хемоклине данного озера наблюдается рекордная концентрация этих бактерий в мире (Overmann et al., 1994, 1999; Overmann, 1997). Показано, что биомасса гетеротрофных бактерий в миксолимнионе резко возрастает после осеннего апвеллинга ПСБ из редокс-зоны. Поступление биогенных элементов и растворенной органики, обусловленное деградацией биомассы ПСБ в аэробной существенно поддерживает гетеротрофное зоне звено бактериопланктона в данном озере. Показано, что продукция гетеротрофных бактерий превышала продукцию аэробного фитопланктона в семь раз (Overmann et al., 1996a).

В работе Уморина с соавторами в экспериментальной градиентной установке, имитирующей условия летней стратификации водоемов, было показано, что анаэробные инфузории, живущие в редокс-зоне, потребляют в пищу зеленых серных бактерий в качестве одного их компонентов своего рациона (Уморин, Лаптева, 2006).

1.6 Экспериментальное и математическое моделирование стратифицированных популяций фототрофных серных бактерий

Наличие большого количества наблюдений микростратификации фототрофных серных бактерий в природных условиях закономерно порождает интерес к моделированию аналогичных условий в лабораторных установках и строгому количественному анализу результатов. Только в лабораторных экспериментах может быть выявлено взаимодействие между двумя группами. В простейшем виде стратификация легко воспроизводится в так называемых «колонках Виноградского», представляющих собой вертикальный прозрачный цилиндр, на дне которого находится источник сероводорода (Шлегель, 1987). Классические эксперименты показали, что варьированием спектрального состава света в таких колонках можно управлять составом доминирующих фототрофов, создавая селективные условия для ЗСБ либо ПСБ.

Несмотря на большое количество работ по экспериментальному изучению микробных матов, существуют единичные работы по созданию искусственных матов из аксенных культур и стерильных материалов. Так, микростратификация ПСБ Thiocarsa roseopersicina и ЗСБ Prosthecochloris aestuarii была воспроизведена в искусственной градиентной камере, имитирующей условия в верхних миллиметровых слоях бентосных матов при суточном режиме 16 часов света – 8 часов темноты (Pringault et al., 1999). Взаимодействие двух групп проявилось при сравнении результатов экспериментов со смешанной культурой с аналогичными экспериментами с чистыми культурами. Вертикальные распределения биомасс оценивались в диапазоне глубин нескольких миллиметров в толще песка по спектрам поглощения, измеряемым с помощью оптоволоконных микросенсоров. Градиенты кислорода, сероводорода и рН также оценивались с помощью микросенсорных датчиков. Было показано, что ЗСБ всегда формировали максимум ниже максимальной глубины проникновения кислорода, и их метаболизм был строго фототрофным. ПСБ всегда формировали два максимума, как в смешанной, так и в чистой культуре. Верхний максимум находился в микроаэрофильной зоне, в нем было зарегистрировано хемотрофное окисление сероводорода в темновой период, характерное для данного вида ПСБ. В нижнем максимуме ПСБ росли только фототрофно в светлые периоды. Нижний максимум ПСБ совпадал по глубине с максимумом ЗСБ. В смешанной культуре плотность ЗСБ была меньше, чем в чистой культуре, что авторы объясняют конкуренцией за сульфид (Pringault et al., 1999). Однако, плотность ПСБ была заметно выше в смешанной культуре, чем в чистой, что явилось неожиданным результатом. Авторы предполагают, что элементная сера, откладываемая ЗСБ во внешнюю среду, могла трансформироваться в полисульфиды, которые окислялись затем ПСБ наряду с сероводородом в процессе фотосинтеза. Следовательно, ПСБ получали дополнительный субстрат для фотосинтеза В условиях конкуренции с ЗСБ за сероводород (Pringault et al., 1999). Таким образом, есть экспериментальные свидетельства, что между ПСБ и ЗСБ, помимо конкуренции за сульфид, могут иметь место И положительные межпопуляционные взаимодействия через плотностно-зависимые факторы.

На основе экспериментальных данных были создана детерминистская математическая модель, позволяющая на основе уравнений кинетики биохимических реакций и диффузии рассчитывать вертикальные градиенты кислорода, сероводорода, а также неоднородности распределения популяций в микробных матах (de Wit et al., 1995). В качестве микробных популяций в данной модели фигурировали пурпурные серные бактерии, бесцветные хемотрофные серные бактерии и цианобактерии. Предполагалось, что рост ПСБ происходит как за счет аноксигенного фотосинтеза, так и за счет хемоокисления сероводорода при наличии кислорода. В модели отдельно рассчитывался Бхл а, валовая скорость синтеза Бхл а была пропорциональна концентрации ПСБ. Удельное содержание Бхл а рассчитывалось как общее количество Бхл а, деленное на биомассу ПСБ. Фотосинтез включался только при превышении минимального удельного содержания Бхл а в клетке и в

отсутствие кислорода. В противном случае рост осуществлялся за счет Синтез Бхл а также включался только при отсутствии хемосинтеза. кислорода и удельном содержании Бхл а ниже порогового. Удельная скорость роста ПСБ при фотосинтезе зависела от двух факторов: сероводорода и света (его ближней инфракрасной составляющей, максимум поглощения Бхл а), и описывалась мультипликативной зависимостью. Оба члена имели вид кривых с оптимумом, и описывались уравнениями субстратного ингибирования типа Холдейна (Andrews, 1968). Удельная скорость роста при хемосинтезе также описывалась мультипликативной зависимостью двух функций, зависящих от кислорода и сероводорода, соответственно. Зависимость ОТ сероводорода описывалась кривой субстратного ингибирования, зависимость от кислорода - кривой с насыщением типа Mono (Monod, 1949). В данной модели поток сероводорода на нижней границе мата задавался постоянным. Расчеты показали удовлетворительное совпадение с натурными данными как по вертикальным распределениям, так и по абсолютным значениям биомасс и концентраций компонентов (de Wit et al., 1995). B дальнейшем моделируемых вышеописанные уравнения роста ПСБ и алгоритм переключения между хемосинтезом и фотосинтезом были использованы в более полной модели серного цикла в гиперсоленых микробных матах, учитывающей и процессы бактериальной сульфатредукции (Decker et al., 2005). Данная модель также показала удовлетворительные результаты в сравнении с натурными данными.

При моделировании вертикальной структуры озера Шира рост ПСБ и ЗСБ был формализован в несколько более упрощенном виде, чем вышеописанный, в частности – не учитывался синтез бактериохлорофиллов, а зависимости от сероводорода и кислорода (при хемосинтезе) использовались в форме кривых с насыщением (Degermendzhi et al., 2002). Расчеты показали, что максимумы численностей ПСБ и ЗСБ в озере Шира позиционировались строго в редокс-зоне, и совпадали по глубине. Характерная микростратификация т.е. расположение ЗСБ под пиком ПСБ не

была получена в расчетах. В данной модели максимальная удельная скорость роста достигалась при нулевой концентрации кислорода и при максимальных значениях освещенности при наличии сероводорода. Именно такие условия формировались в зоне хемоклина. Для моделирования меньшей толерантности ЗСБ к кислороду нами был введен пороговый уровень сероводорода, меньше которого начиналось ингибирование. В этом случае удалось в расчетах получить наблюдаемую в озерах микростратификацию: максимум ЗСБ «сдвинулся» глубже максимума ПСБ (см. Главу 3).

Нам неизвестны другие работы, где моделировалось бы вертикальное распределение фототрофных серных бактерий в водоемах. Стоит заметить, ПСБ более что физиология сложная, чем ЭТО формализовано В существующих моделях – она включает в себя промежуточный этап формирование внутриклеточных полисульфидных гранул, которые затем могут расходоваться на аноксигенный фотосинтез в условиях недостатка сероводорода (Pfennig, Truper, 1989). В этом случае восстановленная сера выступает в качестве «консервативного» субстрата (Nyholm, 1976), запасаемого внутри клетки, и расходуемого по мере необходимости. Кинетика данного процесса до сих пор не была формализована в математических моделях. Очевидно, для ее описания более подходящими являются модели Друпа (Droop, 1973) и их модификации, однако нам неизвестны работы подобного рода.

1.7 Стратификация водной толщи и фототрофные серные бактерии озер Шира и Шунет

Озеро Шира – одно из самых изученных озер Сибири. Первые исследования данного водоема появились в конце XIX века в связи с началом развития на нем организованной курортной деятельности. С тех пор было проделано значительное количество научных работ, в которых исследовались химический состав, состав и структура фито- и зоопланктона, геологическое

озерной окрестностей, гидрофизические строение котловины И ee закономерности динамики водной толщи (Малахов и др., 1963; Колмаков и др., 1993; Шварцев и др., 1997; Zotina et al., 1999; Заворуев, Зотина, 2002; Parnachev et al., 2002; Kalacheva et al., 2002a,6; Tolomeev, 2010; Zadereev, Gubanov, 2002; Belolipetsky et al., 2002; Degermendzhi et al., 2002; Gaevsky et al., 2002; Природные воды..., 2003; Degermendzhi et al., 2010; Prokopkin et al., 2014 и многие другие). Однако, систематические наблюдения за характером стратификации озера до нашего исследования отсутствовали. Первые научные описания морфологии озера и его берегов, а также измерения минерализации воды относятся к 1890 г. (Савенков И.Т., 1890). Тогда же был установлен мерный столб (футшток) для наблюдения за динамикой уровня озера, и к этому времени, соответственно, относятся первые документальные измерения уровня воды в озере. К сожалению, нет данных о наличии сероводорода в водной толще и о режиме циркуляции воды в то время. На основании литературных данных можно сделать вывод о том, что минерализация озера меняется в обратной зависимости от его объема (Кривошеев, Хасанов, 1990; Rogozin et al., 2010). Первые сведения о присутствии в водной толще озера пурпурных серных бактерий были опубликованы Поповой в 1946 г. (Попова, 1946). Соответственно, озеро, скорее всего, в тот период являлось стратифицированным как минимум в летний период. До этого времени ничего не известно о характере стратификации озера. Впервые на меромиктический характер озера указали Зотина с соавторами, ими же в общих чертах описана сезонная динамика вертикальных распределений солености и температуры в 1997-1998 гг (Zotina) et al., 1999), которая была аналогична выявленной нами для периода 2001-2013 гг. Вертикальное распределение фототрофных серных бактерий и физико-химические соответствующие характеристики водной толщи исследовались Копыловым с соавторами летом 1999 г. Было показано, что пурпурные серные бактерии рода *Thiocapsa* образуют максимум численности порядка 10^6 кл мл⁻¹ на глубине 13 м в редокс-зоне (Kopylov et al., 2002а). Там же был зарегистрирован и максимум зеленых серных бактерий, причем численность была того же порядка. Обе группы бактерий оценивались авторами с помощью микроскопии в отраженном свете. В дальнейших исследованиях нами не были обнаружены ни значительные скопления ЗСБ при микроскопировании, ни их пигменты при спектрофотометрических анализах (см. Главы 3,4). Таким образом, возможно в период 1990-х гг. данная группа бактерий была представлена в озере в большем, чем в настоящее время, количестве. Копыловым с соавторами были оценены скорости фотосинтеза в оз. Шира и показано, что доля аноксигенного фотосинтеза в первичной продукции составляет около 4% (Kopylov et al., 2002б), что согласуется с результатами наших последующих анализов (см. Главу 5).

Озеро Шунет использовалось как источник лечебных грязей для курорта «Озеро Шира» начиная с XIX века. Впоследствии добыча грязи была прекращена из-за истощения ее запасов. Кроме того, в конце XIX-начале XX века озеро использовалось как источник самосадочной поваренной соли. Соответственно, интерес к озеру со стороны исследователей проявился достаточно рано. Имеются сведения об изменениях минерализации озера и его глубины, начиная с 1897 г. (Природные воды..., 2003). Для озера характерен непостоянный объем. В конце XIX века глубина озера составляла меньше одного метра, а на дне формировалась корка соли (бузун). Озеро достигало минимального объема и, соответственно, наибольшей солености (около 370 г л⁻¹) примерно в 1910-1920-е гг, затем начался подъем, и к 1958 г. глубина озера была 4.6 м (Малахов и др., 1963). Данные о вертикальных распределениях солености и режиме циркуляции воды в период до начала наших исследований нам неизвестны. Концентрация сероводорода в придонных водах в 1958 г. составляла зимой 46 мг л⁻¹, а летом – свыше 500 мг л⁻¹ (Малахов и др., 1963 г.). Также Малаховым показано, что наиболее интенсивная сульфатредукция протекает в летне-осенний период. Сезонность содержания сероводорода свидетельствует о том, что в те годы осенняя

циркуляция могла проникать достаточно глубоко в монимолимнион, разрушая летнюю стратификацию (см. Главу. 2). Единичное свидетельство о наличии зеленых серных бактерий относится к 1999 г. (Природные воды...., 2003). Сведений о присутствии в озере пурпурных серных бактерий до наших исследований не было. Таким образом, несмотря на то, что химический состав растворенных солей и геологическое окружение озера изучены достаточно хорошо (Природные воды...., 2003), только В наших исследованиях впервые выявлена сезонная динамика вертикальной водной толши. охарактеризованы стратифицированные циркуляции распределения популяций фототрофных серных бактерий, и исследована их экология (см. Главы 2 - 5) (Дегерменджи и др., 2003; Lunina et al., 2007а; Рогозин и др., 2010; 2012а и др.).

1.8 Плотностно-зависимые факторы, контролирующие рост микробных популяций в лабораторных культурах и природных экосистемах

Одним из немногих экспериментальных методов, позволяющих количественно исследовать взаимодействия микроорганизмов со средой, культивирование 1990). является непрерывное (Печуркин И др., Непрерывный процесс, по сути, имитирует свойство открытости реальных экосистем по отношению к потоку вещества и энергии. Селективная или неизбирательная элиминация членов сообщества физически моделирует отбор (смертность). Различная интенсивность обмена в системах идеального перемешивания определяет степень турбулентности, позволяя исключить из рассмотрения пространственную неоднородность и изучить вклад только 1998). биологических взаимодействий (Рогозин, Исследование средой в простейших взаимодействия популяции co лабораторных экосистемах одного трофического уровня является первым и естественным шагом на пути к пониманию законов функционирования природных биоценозов, в особенности – водных. Известно два основных типа

непрерывной культуры: хемостат и турбидостат, соответствующие двум типам ограничения роста популяции, существующим в природе. В хемостате задается постоянная скорость разбавления средой, содержащей питательный (субстрат), в турбидостате – обеспечивается постоянство компонент плотности популяции, которое обеспечивается регулировкой скорости разбавления среды. Таким образом, турбидостат соответствует росту популяции в нелимитированных условиях, что в природе может встречаться на ранних стадиях экологической сукцессии, например при заселении новой экологической ниши. В хемостате же наблюдается глубокое лимитирование роста, как в большинстве природных ситуаций. В отличие от турбидостата, где для поддержания устойчивого состояния требуются регуляторы, в хемостате реализуется внешнее ограничение роста (Печуркин и др., 1978). Как правило, это – лимитирование недостатком одного или нескольких компонентов питания или ингибирование продуктами метаболизма. Популяция в хемостате, утилизируя субстрат, «загоняет» себя в условия лимитирования по каким-либо компонентам среды, потребляя их до низких остаточных значений (Рогозин, 1998). Главным свойством хемостата является то, что после некоторого переходного режима плотность популяции выходит на стационарный уровень. В этом состоянии удельная скорость роста и скорость вымывания равны между собой и равны, по определению, скорости протока (Monod, 1942, 1950; Herbert et al., 1956). При этом концентрация лимитирующего рост вещества в культуральной среде также устанавливается на стационарном, как правило, очень низком уровне, который зависит только от кинетических характеристик самой популяции. Иными словами, концентрация лимитирующего вещества или фактора (например, свет) в культуральной среде равна значению, при котором скорость роста популяции равна скорости протока. В экологической литературе любой фактор называется ограничивающим рост популяции, если изменение его уровня в среде вызывает заметное изменение удельной скорости роста этой популяции (Max, Fredrickson, 1978). Причем как

«положительные», так и «отрицательные» факторы подходят под это определение. Поэтому используется термин «контролирующие», как объединяющий «ингибирующие» «лимитирующие» И факторы (Дегерменджи и др., 1979). Все контролирующие рост факторы можно разделить на два класса: 1) не зависящие от плотности популяции, рост которой они контролируют, и 2) плотностно-зависимые контролирующие рост факторы (ПКРФ), уровень которых в среде изменяется в зависимости от размеров (плотности) популяции (Одум, 1975). Иными словами, к ПКРФ относятся те контролирующие рост факторы, которые трансформируются растущей популяцией (потребляются из окружающей среды или выделяются факторам окружающую среду). К первого класса (плотностно-В независимым) можно отнести температуру, свет, либо вещества, ничтожно малые концентрации которых играют роль сигналов, вызывающих ускорение лил замедление роста популяции. Плотностно-независимые факторы модифицирующими. называют иногда От ИХ изменения зависит функционирование популяций и сообществ, но отсутствует обратная связь между плотностью популяции и уровнем данного фактора. Например, температура окружающей среды чаще всего не зависит от биотической составляющей данной экосистемы, но оказывает, тем не менее, решающее влияние на последнюю (Дегерменджи и др., 1979). В отдельных случаях температуру и свет можно рассматривать как плотностно-зависимые факторы. Например, уровень освещенности в нижних ярусах леса зависит от плотности растительного покрова, лимитируя тем самым развитие подлеска (Одум, 1975). Температура также может играть роль ПКРФ в популяциях микроорганизмов при термогенезе, когда само-разогрев растущей популяции приводит к изменению удельной скорости роста (Лях, 1976). В условиях, когда уровни модифицирующих факторов в системе остаются постоянными, учитывать их влияние на скорость нет необходимости. В этом случае удельные скорости роста (УСР) популяций (и как следствие – структура сообщества) определяются ПКРФ. Это в первую очередь субстраты,

служащие источником энергии и синтеза биомассы, а также метаболиты – продукты жизнедеятельности различной природы, выделяемые растущей биомассой. Относительная роль двух указанных классов факторов на различных стадиях развития, например экосистемы, различна. Вначале развития преобладает действие модифицирующих факторов, по мере приближения к верхнему пределу плотности усиливается влияние ПКРФ, которое проявляется В виде конкуренции, ингибирующих влияний метаболитов, авторегуляции и т.д. (Дегерменджи и др., 1979). Хемостат с лимитированием роста недостатком питания (субстрата) при развитии в нем двух и более популяций микроорганизмов является модельным вариантом конкуренции за пищу. Для такой системы в экологии существует правило, согласно которому «не существует двух популяций, которые могли бы занимать совершенно одинаковые ниши» (Одум, 1975). Это утверждение в русскоязычной литературе носит название принципа Гаузе (Gause, 1934), и эквивалентно принципу конкурентного исключения «competitive exclusion principle», сформулированному позже Хардином (Hardin, 1960). Для простейшей модели хемостата типа Моно-Герберта (см. Главу 6) с зависимостями удельных скоростей роста в форме Моно было строго показано, что не существует стационарного решения, при котором биомассы обоих видов были бы отличны от нуля (Smith, Waltman, 1995). Впоследствии данный принцип был обобщен Дегерменджи на произвольный случай сосуществования n видов, И было показано, стационарное ЧТО сосуществование возможно только при условии, если число ПКРФ в системе не меньше числа видов (Дегерменджи, 1981). Поскольку в природных экосистемах не существует абсолютно стационарных условий по потокам субстратов, а также отсутствует полная гомогенность, возникает вопрос, в какой мере отклонения от «идеальных» условий хемостата могут приводить к нарушению принципа конкурентного исключения. Пауэллом было строго доказано, что принцип конкурентного исключения «структурно неустойчив», т.е любое бесконечно малое отклонение от идеального хемостата может приводить к нарушению этого принципа (Powell, 1988). Примером такого В является известный нарушения природе «планктонный парадокс Хатчинсона», заключающийся в том, что большое количество близких по экологии видов фитопланктона сосуществуют на одном лимитирующем рост субстрате (docdope) В гомогенных условиях (Hutchinson, 1961). Фундаментальным ПКРФ свойством является так называемая аутостабилизация (Дегерменджи и др., 1979), которая заключается в отсутствии корреляции между входным уровнем данного фактора, и его фоновом уровнем в среде. Данное свойство строго выполняется для простейшей одновидовой модели хемостата, и проявляется как тенденция в природных экосистемах, как было показано на различных примерах в работе Дегерменджи с соавторами (1979).

1.9 Молекулярные останки фототрофных серных бактерий как индикаторы для палео-рекострукций

Фотосинтетические (каротиноиды хлорофиллы), пигменты И захороненные в донных отложениях, были предложены в качестве индикаторов продукции и состава фито- и бактериопланктона в водоемах достаточно давно (Brown, 1969). В ряде работ было показано, что седиментационный поток пигментов и их количество, захороненное в донных отложениях, в грубом приближении пропорциональны биомассе фитопланктона в водной толще, несмотря на значительные потери в процессе оседания и захоронения (Garham et al., 1974; Flannery et al., 1982). Однако, экспериментальные исследования и балансовые расчеты по натурным данным показывают, что в аэробных условиях верхней продуктивной зоны водоемов более 90% массы пигментов разрушается до попадания в донные отложения (Furlong, Carpenter, 1988; Hurley, Armstrong, 1990, 1991). Различают три стадии деградации: 1) быстрое окисление в водной толще, протекающее с периодом полу-распада порядка дней; 2) более медленный распад после попадания в верхние слои отложений, период полураспада – 3) очень медленное разрушение двойных связей в молекулах годы: пигментов в донных отложениях, период полураспада – века (Leavitt, 1993). Кроме того, прохождение водорослей через кишечник питающегося ими зоопланктона существенно ускоряет разложение пигментов (Daley, 1973). Наиболее разрушительными факторами для пигментов являются свет, кислород, высокая температура, разрушение при прохождении через кишечник выедателей. Все вышеперечисленные факторы варьируют вместе морфологии озера, С изменениями его гидрологического режима, антропогенными факторами, поэтому возможность климатическими и «прямого» пересчета концентрации захороненных пигментов в биомассу или продукцию фототрофных организмов выглядит сомнительной.

Однако, относительные изменения каротиноидов, производимых отдельными группами, могут быть интерпретированы на качественном уровне, и являются важными свидетельствами тех или иных изменений при комплексном многокомпонентном анализе донных отложений. Например, одним из наиболее часто используемых индикаторов является отношение лютеина к зеаксантину. Оба пигмента синтезируются зелеными водорослями, однако отношение зексантин/лютеин в них составляет 0.1-0.4 (Goodwin, 1980), тогда как цианобактерии и хризофитовые водоросли содержат зеаксантин, но не содержат лютеин (Overmann et al., 1993). Поскольку скорости деградации обоих пигментов близки (Leavitt, Carpenter, 1990), снижение отношения лютеина к зеаксантину в донных отложениях интепретируется как сдвиг в сторону доминирования цианобактерий, и наоборот (Overmann et al., 1993).

Поскольку пигменты фототрофных серных бактерий синтезируются в анаэробной зоне, они изначально в меньшей степени подвергаются действию света, кислорода, выедания зооплнктоном и т.п., поэтому попадают в донные отложения в менее деградированном состоянии, чем пигменты водорослей. Таким образом, каротиноиды аноксигенных фототрофных бактерий

(каротиноиды, ДНК) сохраняются лучше, чем прочие пигменты. Вероятно поэтому, несмотря на то, что продукция фототрофных серных бактерий относительно невелика, содержание их каротиноидов в донных отложениях, как правило, сравнимо с таковым для оксигенного фитопланктона (см. например, (Dressler et al., 2003), и даже превышает последнее (Overmann et al., 1993; Schmidt et al., 2002; Рогозин и др., 2011; Зыков и др., 2012).

Очевидно, что пигменты фототрофных серных бактерий, исходя из экологических потребностей их носителей, являются свидетельствами того, что в какой-то период в данном озере сероводород проникал в фотическую зону (Itoh et al., 2003; Dressler et al., 2007). В качестве палео-индикатора аноксигенных условий наиболее часто используются окенон (пигмент ПСБ) и изорениератин (пигмент ЗСБ). Оба пигмента чаще всего встречаются одновременно, однако вариации отношения окенон/изорениратин, интепретируются как вариации относительного преобладания той или другой группы.

Динамика аноксигенных условий была выявлена в японском озере Хамана (Lake Hamana, Япония) на основе анализа пигментов (Itoh et al., 2003). Было показано, что исчезновение окенона в донных отложениях с 1955 г. совпадает с усилением циркуляции в озере и заглублением редокс-зоны. При этом уменьшалось отношение окенон/изорениератин, что также интепретируется авторами как переход к доминированию «коричневых» ЗСБ из-за снижения количества света, проникающего в редокс-зону.

В небольшом димиктическом озере Дудингхаузен (Lake Dudinghausen, Германия) пик окенона интерпретировался как эпизод усиления стратификации и развития сероводородной зоны вследствие эвтрофикации. Последующее снижение окенона интерпретировалось авторами как показатель снижения прозрачности воды из-за эвтрофикации (Dressler et al., 2007). Каротиноиды ЗСБ в данном озере не обнаруживались.

Аналогично, в канадском озере Махони (Mahoney) не были выявлены каротиноиды ЗСБ, в то время как концентрация окенона в донных

отложениях превышала концентрацию прочих каротиноидов. Данный факт хорошо согласуется с доминированием ПСБ в этом водоеме. Авторами было показано, что данное озеро являлось меромиктическим на протяжении последних нескольких тысяч лет (Overmann et al., 1993). В донных отложениях этого озера резкое снижение концентрации окенона совпадало с периодом выпадения вулканического пепла В результате активной вулканической деятельности в данном регионе около 7000 лет назад. Авторы предполагают, что снижение концентрации окенона в данном слое обусловлено повышенной скоростью седиментации, т.е. пигменты «разбавляются» прочими осадочными компонентами (Overmann et al., 1993). Аналогичный эффект был описан ранее для других озер, когда повышенное поступление обломочных компонентов осадка (следовательно – увеличение годового прироста осадочного слоя) приводило к видимому снижению удельного содержания пигментов (Vallentyne, 1956).

В недавней работе по меромиктическому озеру Каданьо был прослежен состав каротиноидов фототрофных серных бактерий на протяжении 9.5 тысяч лет, и было показано, что сероводородная зона существовала все это время, причем как ПСБ, так и ЗСБ присутствовали в данном озере (Wirth et al., 2012).

Самым большим меромиктическим водоемом на Земле является Черное море, которое также исследовалось на предмет наличия и видового состава аноксигенных фототрофных бактерий. По пигментам зеленых серных бактерий было показано, что около 6000-7000 лет назад сероводород в Черном море достиг фотической зоны (Repeta, 1993; Sinninghe Damste et al, 1993).

В канадской провинции Саскачеван, являющейся климатическим аналогом Хакасии, описаны меромиктические озера, схожие по ионному составу и морфологическим свойствам с озерами Шира и Шунет. В частности, это озера Вальдси (Waldsea), Deadmoose и др., (Hammer, 1994; Last et al., 2002). Причины меромиксии этих водоемов предположительно такие же, как и у озера Шира: 1) приток пресной воды в миксолимнион при повышении уровня; 2) ежегодное образование-таяние толстого (более 1 м) ледового покрова (Hammer et al., 1994). Для этих озер был исследован минералогический состав донных отложений и интерпретирован с точки зрения возможных колебаний уровня (Last, Slezak, 1988; Last et al., 2002), однако нам до сих пор неизвестны работы, где исследовались бы пигменты в донных отложениях этих водоемов.

Останки ДНК фототрофных серных бактерий значительно реже, чем каротиноиды, используются в качестве палео-индикаторов, однако это, возможно, объясняется отсутствием в недавнем прошлом соответствующих методов анализа. Одна из первых работ была проделана на оз. Махони. Был применен метод ПЦР фрагментов 16SpPHK со специфическими для ПСБ праймерами. В отложениях, охватывающих период последних около 11000 лет, было выявлено четыре различных вида ПСБ, причем один из них доминирует в последнее время (Coolen, Overmann, 1998). В данной работе было показано также, что содержание ДНК не коррелирует с содержанием пигментов (окенона и бактериофеофитина а), а отношение содержания ДНК к содержанию пигментов значительно меньше, чем у живых клеток. Эти факты свидетельствуют о том, что скорость деградации ДНК значительно выше, чем у пигментов, даже в анаэробных условиях.

В озере Каданьо с помощью видо-специфичных праймеров методом ПЦР в реальном времени было оценено присутствие семи видов ПСБ и двух видов ЗСБ на протяжении более 9 тысяч лет (Ravasi et al., 2012), и выявлена динамика их количественных соотношений. Было показано, что вид ЗСБ, впервые зарегистрированный в современном озере в 2001 г., ранее присутствовал в озере в некоторые периоды. Однако, более детальной интерпретации причин смены видов авторы не дают.

Таким образом, остатки фототрофных серных бактерий в донных отложениях водоемов являются одним из перспективных палео-индикаторов. В частности, развитие молекулярно-генетических методов анализа состава и

количества микроорганизмов может способствовать получению новых знаний об истории озер, а следовательно – об истории климата.

1.9 Заключение к Главе 1

Экология фототрофных серных бактерий В природной среде относительно «понятна» ПО сравнению с другими группами микроорганизмов именно потому, что они формируют почти монокультуры в зонах Это позволило уже четко ограниченных водоемов. первым исследователям связать их появление с неоднородностями физикохимических условий. С тех пор фототрофные серные бактерии стали классическим объектом водной микробиологии.

Анализ литературы показывает, что такое явление, как наличие стратификации и порождаемое этим присутствие анаэробной зоны и микробного цикла серы в стратифицированных озерах, достаточно хорошо уровне. Дальнейшее изучение описано на качественном экологии фототрофных серных бактерий, по-видимому, должно развиваться вслед за развитием молекулярно-генетических методов, причем не только таксономической идентификации, но и количественных оценок на уровне функциональных генов.

Вместе с тем, использование полученных знаний для прогноза динамики этих бактерий в конкретных водоемах требует адекватных количественных методов прогноза динамики водных масс, т.е. развития гидрофизических моделей. Это направление на сегодняшний день недостаточно разработано применительно к стартифицированным озерам, и здесь требуются дальнейшие усилия исследователей.

Кроме того, анализ литературы показывает, что комплексные работы, направленные на выявление причинно-следственных связей в динамике биомасс фототрофных серных бактерий также являются редкостью. Данное направление особенно актуально в связи с необходимостью решения «обратных» задач - палео-реконструкций, в которых тоже на сегодняшний день интерпретации возможны лишь на качественном уровне. В следующих оригинальных главах настоящей работы приведены результаты наших собственных исследований, которые развивают комплексный подход к экологии фототрофных серных бактерий применительно к ранее неизученным в этом плане меромиктическим озерам Хакасии.

ГЛАВА 2. ЛИМНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРАТИФИКАЦИИ ОЗЕР ШИРА И ШУНЕТ

2.1 Общая характеристика озера Шира

Озеро Шира (54°30' СШ, 90°11' ВД) расположено в северной части Республики Хакасия, в 15 км от районного центра п. Шира. Это солоноватый водоем. минеральный состав сульфатно-хлоридно-натриево-магниевый, озеро имеет эллиптическую форму длиной 9.35 и шириной 5.3 км (Parnachev, Degermendzhy, 2002; Kalacheva et al., 2002) (Рис.2.1). Площадь водной поверхности 35.9 км², средняя глубина 11.2 м максимальная глубина 24 м (2007-2009) (Degermendzhy, et al., 2010). Озеро бессточное, питание его осуществляется за счет р. Сон (12.9 млн. м³ в год, 40 % поступления), а также атмосферных осадков (10.6 млн. м³ в год), подземных (2.4 млн. м³ в год) и антропогенных поступлений (Природные воды..., 2003). Озеро замерзает в конце ноября, освобождается ото льда в начале мая. Полный объем воды в озере оценивался в 385-390 млн. м³ (Природные воды..., 2003), однако данная оценка сделана для максимальной глубины озера около 22.5 м. В настоящее время уровень озера увеличился, его глубина составляет более 24 м (2007-2012 гг), а объем воды оценивается нами как 470-500 млн. м³. Количество растворенных в нем солей оценивалось приблизительно в 9 млн. тонн (Малахов и др., 1963, цит. по Parnachev, Degeremendzhy, 2002). По нашим оценкам, в настоящее время общее количество растворенных солей около 6 млн. тонн. В настоящее время водоем является меромиктическим, средняя соленость в миксолимнионе в период летней стратификации 2002-2012 гг составляла около 15 г π^{-1} , а в монимолимнионе – около 19 г π^{-1} (Rogozin et al., 2010). Однако глубина миксолимниона нестабильна и менялась в разные годы и в разные сезоны в диапазоне от 12 м (август 2003 г) до 16 м (февраль 2003 г), что зависело, в частности, от погодных условий (Rogozin et al., 2009; Rogozin et al., 2010). В своей истории озеро испытывало значительные

изменения уровня. Так, в период с 1910-х по 1930-е годы наблюдалось резкое усыхание озера до минимального уровня, сменившееся резким подъемом до почти современного уровня (Кусковский, Кривошеев, 1989; Rogozin et al., 2010). Минимальный зарегистрированный уровень был на 7 метров ниже (1926 г.). Минерализация озера менялась в современного обратной зависимости от объема воды в озере (Кривошеев, Хасанов, 1990; Rogozin et 2010). Озеро популярным al., является местом отдыха, обладает бальнеологическими свойствами, на его берегу более ста лет функционирует известный курорт «Озеро Шира» (Кривошеев, Хасанов, 1990).



Рис. 2.1 – Географическое местоположение озера Шира, батиметрическая карта и расположение основной станции отбора проб (▲)

2.2 Общая характеристика озера Шунет

Озеро Шунет (54.25.10 СШ, 90.13.48 ВД) расположено в Республике Хакасия (Южная Сибирь), в 19 км от п. Шира, в 8 км к юго-востоку от озера Шира. Максимальная длина составляет 1.2 км, максимальная ширина – около 0.4 км, площадь поверхности 0.47 км², максимальная глубина 6.2 м (все данные для периода 2003-2012 гг.) (Рис. 2.2). В 2002 г. уровень озера был ниже на 0.3 - 0.4 м, как следует из визуальной оценки по береговой линии и измерений погружным зондом. Минеральный состав аналогичен таковому для оз. Шира.

Озеро бессточное и обладает резко выраженной плотностной стратификацией во все сезоны, что обусловливает его меромиктические свойства. Минерализация в миксолимнионе составляет около 17-20 г л⁻¹. Начиная с глубины около 4.5 м, минерализация равномерно возрастает по вблизи дна около 100 г л⁻¹. Хемоклин, достигая направлению ко дну, определяемый как зона, где происходит смена знака редокс-потенциала с положительного на отрицательный, расположен на глубине около 5 м (2003-2012 гг). Содержание сероводорода в придонных слоях достигает 450 мг л⁻¹ (Rogozin et al., 2009). Озеро Шунет замерзает в начале ноября, освобождается ото льда в апреле. Подробное описание водоема приведено в монографии «Природные воды Ширинского района Республики Хакасия» (2003).

На протяжении истории наблюдений уровень озера испытывал значительные изменения. В начале XX века уровень озера был менее 1 метра, а соленость соответственно превышала 300 г л⁻¹ (1900 – 1935 гг.) (Природные воды..., 2003). В это время озеро служило источником добычи поваренной соли (до 1911 г.). Впоследствии уровень озера возрастал вплоть до современного значения, а соленость соответственно снижалась. Озеро является популярным местом отдыха. С 1910 г. по 1926 г. оз. Шунет служило источником лечебной грязи для курорта «Озеро Шира».



Рис. 2.2 – Батиметрическая карта озера Шунет (взято из Природные воды..., 2003) и расположение станции отбора проб (**(**)

2.3 Материалы и методы

Полевые работы. Отбор проб воды и сопутствующие измерения физико-химических характеристик воды проводились в следующие периоды: летом в июле - начале августа; осенью - в октябре-ноябре перед установлением ледового покрова; зимой - в феврале-марте, когда устанавливался наиболее прочный лед; весной – в конце мая, после таяния льда. Кроме этого, на озере Шунет были проведены исследования в сентябре 2005 г., а на озере Шира – в сентябре 2012 и 2013 гг. В подледный период 2008 г. исследования на обоих озерах проводились дважды – в феврале и марте.

В течение всего 2006 года полевые работы не осуществлялись. Точные даты отборов проб и измерений приведены в Таблицах 2.1, 2.2.

Во все даты пробы отбирались в центральной части каждого из озер в районе максимальной глубины, в точках с координатами 54°30'350 СШ 90°11'350 ВД для оз. Шира и 54°25'156 СШ, 90°13'853 ВД для оз. Шунет. Исследования проводились с 2002 по 2013 гг.

Все отборы проб и измерения вертикальных профилей физикохимических характеристик на озерах осуществлялись в безветренную погоду, при высоте волн менее 5 см, с лодки, закрепленной на якоре либо на двух якорях. В зимнее время отборы проб и сопутствующие измерения осуществлялись через отверстие во льду. Отбор проб из зон хемоклина многошприцевого пробоотборника осуществлялся с помощью С гидравлическим управлением, который позволял отбирать одновременно 20 образцов воды объемом по 150 мл через интервал 5 см по глубине (Rogozin, Degermendzhy, 2008; патент РФ № 2244282) (См. Главу 3). Для точного попадания в зону хемоклина и точного определения глубины ее залегания, к несущей раме данного пробоотборника жестко закреплялся погружной зонд Data-Sonde 4a (Hydrolab, Austin, Texas, USA) или YSI 6600 (Yellow Springs, Ohio, USA). При этом датчики зонда, включая датчик глубины, находились точно на уровне нижнего конца пробоотборника. По резкому изменению знака редокс-потенциала определялась глубина позиционирования редокс-Пробы воды с прочих глубин отбирались с помощью стандартного 30НЫ. батометра объемом 0.5 л. Отбор проб из зоны хемоклина оз. Шира с помощью вышеупомянутого многошприцевого устройства осуществляли только до 2008 г. В дальнейшем отбирали пробы через 1 м стандартным

батометром. В озере Шунет многошприцевое устройство применяли во все даты полевых исследований.

Таблица 2.1 – Даты отбора проб и измерений физико-химических характеристик озера Шира

Год	Даты полевых работ
2001	29 июля – 9 августа, 23-29 августа
2002	17 июля, 8 октября
2003	24 февраля, 24 мая, 3 августа, 4 ноября
2004	16 и 18 февраля, 25 и 27 мая, 1 и 3 августа, 5 ноября
2005	11 марта, 25 мая, 29 июля
2007	13 марта, 11 июня, 27 июля, 27 октября
2008	16 февраля, 22 марта, 24 и 27 июля, 28 октября
2009	12 марта, 29 мая, 24 и 27 июля, 20 октября
2010	31 марта, 30 мая, 13 июля, 23 июля, 4 октября*
2011	19 марта, 31 мая, 1 июля, 20 июля, 24 июля, 8 октября*
2012	14 марта, 26 мая, 11 июля, 4 сентября, 24 октября
2013	16 марта, 29 мая, 8 июля, 4 сентября, 24 октября

* пробы воды не отбирались, данные измерений физико-химических профилей любезно предоставлены Толомеевым А.П.

Таблица 2.2 – Даты отбора проб и измерений физико-химических характеристик озера Шунет

Год	Даты полевых работ
2002	18 июля
2003	28 февраля, 24 мая, 4 августа, 3 ноября
2004	18 февраля, 26 мая, 18 июля*, 6 августа
2005	12 марта, 25 мая, 27 и 29 июля, 10 сентября
2007	14 марта, 12 июня, 27 июля, 27 октября
2008	15 февраля, 21 марта, 28 июля, 10 августа, 28 октября
2009	13 марта, 28 мая, 26 июля, 20 октября
2010	1 апреля, 13 и 23 июля, 4 сентября**
2011	18 марта, 1 июня, 1 и 23 июля, 9 октября***
2012	16 марта, 26 мая, 12 июля, 24 октября
2013	9 июля, 5 сентября, 24 октября

* пробы воды не отбирались

**физико-химические профили не измерялись

***пробы воды не отбирались, данные измерений физико-химических профилей любезно предоставлены Толомеевым А.П.

Всего за период исследований было проведено 48 полевых выездов в Ширинский район Республики Хакасия с целью отбора проб и контактных измерений физико-химических характеристик озер Шира и Шунет.

Все полевые работы осуществлялись на базе полевого стационара Института биофизики СО РАН, расположенного на берегу оз. Шира вблизи поселка Жемчужный.

Физико-химические характеристики воды. Перед отбором проб измерялись вертикальные профили температуры, мутности, кондуктивности (электропроводности), редокс-потенциала и растворенного кислорода с помощью погружных многоканальных зондов Data-Sonde 4a (Hydrolab, Austin, Texas, USA) и YSI 6600 (Yellow Springs, Ohio, USA). Перед каждым полевым выездом датчики температуры, кислорода и кондуктивности калибровались В лаборатории. Колибровка поверялись И датчика кондуктивности проводилась по 3M раствору KCl, калибровка датчика растворенного кислорода – по насыщению водопроводной воды и по методу Винклера с помощью титриметрического тест-набора Aquamerck (Merck, Германия). Концентрация растворенного кислорода в образцах, отобранных многошприцевым пробоотборником, измерялась с помощью титриметрического тест-набора Aquamerck (Merck, Германия). Концентрация сероводорода до 5 мг л⁻¹ определялась с помощью колориметрического тестнабора Microquant (Merck, Германия). При более высоких концентрациях образцы фиксировались основным карбонатом цинка, и концентрация сероводорода определялась иодометрическим методом (Волков, Жабина, 1993) в аналитической лаборатории Института биофизики СО РАН. Кондуктивность, измеренная температуре В озере при in situ, пересчитывалась в кондуктивность при постоянной температуре 25°С (K₂₅) рекомендованной ISO (International Organization ПО формуле, for Standardization (ISO), 1985) (Boehrer, Schultze, 2008):

$$K_{25} = K \times (1 + \alpha \times (T - 25))^{-1}$$
 (2.1)

где K_{25} – удельная кондуктивность (электропроводность при 25°С) (миллиСименс см⁻¹), K –электропроводность при температуре *in situ* (миллиСименс см⁻¹), T – температура в градусах Цельсия, α – эмпирический коэффициент, для каждого водоема свой. Значение коэффициента α оценивалось в лабораторных измерениях по зависимости K(T) (Зыков, 2012).

Для воды оз. Шунет α составило 0.0188, для воды оз. Шира 0.0204. Соленость для озера Шира рассчитывали по формулам (Зыков, 2012):

$$S = -0.087(K_{25})^2 + 4.4403K_{25} - 37.16 \text{ (n} = 19, r^2 = 0.95)$$
(2.2a)

(2.26)

либо $S = 0.8286 K_{25} + 0.1937$

Соленость для озера Шунет рассчитывали по формуле:

$$S = 1.117 K_{25} - 7.9716 (n = 5, r^2 = 0.99)$$
 (2.2B),

где S – концентрация растворенных солей, определяемая как зольность, г л⁻¹. Формулы (2а,б, в) получили в ходе лабораторных измерений зависимости K_{25} от зольности воды озер Шира и Шунет, взятой с различных глубин. Зольность определяли как отношение массы сухого прокаленного при 500°C остатка к объему воды (Зыков, 2012).

Уравнения состояния. В имитационных расчетах сезонной динамики вертикальных профилей воды оз. Шира использовалось линейное уравнение состояния воды в форме Буссинеска с коэффициентами, специально подобранными для воды озера Шира (Genova et al., 2010; Rogozin et al., 2010):

$$\rho = \rho_0(\varepsilon_1 + \varepsilon_2 \frac{T}{T_0} + \varepsilon_3 \frac{S}{S_0}), \qquad (2.3a)$$

где *S* –соленость (см. выше), *T*- температура, °C; $\rho_0 = 1.0254 \text{ г/см}^3$, $\varepsilon_1 = 0.984522$; $\varepsilon_2 = -0.00712$; $\varepsilon_3 = 0.041124$, $T_0 = 17.5$ °C, $S_0 = 35$ ‰. Для зимнего периода $\varepsilon_1 = 0.9825$, $\varepsilon_2 = -0.0015$.

Для расчетов гидрофизической стабильности озера Шира использовали уравнение состояния, более точно описывающее экспериментальные данные:

$$\rho (T, K_{25}) = 1.0034 + 5.5 \times 10^{-5} T - 6.3 \times 10^{-6} T^{2} + 4.7 \times 10^{-4} K_{25} + 8.9 \times 10^{-6} K_{25}^{2} - 9 \times 10^{-7} T K_{25} - 0.0184(1/K_{25}) + 8 \times 10^{-8} K_{25}^{3}$$
(2.36)

Уравнение состояния воды озера Шунет для расчетов гидрофизической стабильности использовали в виде:

$$\rho (T, K_{25}) = 0.9974 + 1.335 \times 10^{-5} T \cdot 4 \times 10^{-6} T^2 + 7.2 \times 10^{-4} K_{25}$$

+4.23×10⁻⁶ K₂₅² -2×10⁻⁶ T K₂₅ (2.3B)

Уравнения (2.3)б. B) являются модификацией уравнения, предложенного Мелаком и Джеллисоном (Melack, Jellison, 1998) c коэффициентами, специально подобранными для оз. Шира и Шунет. Значения коэффициентов получены путем аппроксимации измеренных в лаборатории температур, кондуктивностей и плотностей образцов воды оз. Шира и Шунет, взятых с различных глубин. Для термостатирования образцов воды использовали водяной термостат с охлаждением. Плотность воды при температурах в диапазоне от -0.5°C до +25°C измеряли погружным ареометром АЗП-2 (Украина). Колибровку ареометра осуществляли с помощью вибрационного плотномера ВИП-2-Т (Россия).

Расчет стабильности водной толщи. Стабильность водной толщи (стабильность Шмидта) рассчитывали по формуле (Walker, 1974; Mas et al., 1990).

$$S = \frac{g}{A_0} \int_0^{z_m} \left[\left(z - z_{g,z} \right) (\rho_z - \rho) \right] A_z dz$$
(2.4)

Где **А**₀-площадь поверхности озера;

z-глубина;

 $Z_{g,z}$ - глубина центра масс слоя от поверхности до глубины z;

р_z - плотность;

p – средняя плотность;

 A_z – площадь на глубине z.

Площади слоев оз. Шира оценивалась по батиметрической карте МГУ (1958 г.), площадь слоев оз. Шунет оценивалась по батиметрической карте,

приведенной в работе под редакцией Парначева с соавторами (Природные воды..., 2003) (Рис.2.2). Интервалы слоев для интегрирования выбирались равными 0.25 м. Погрешность значений стабильности оценивали исходя из приборной погрешности измерения плотности, т.к. наибольший вклад в неопределенность стабильности вносит погрешность расчетов плотности. Нашли стабильность для наибольшего, наименьшего и среднего значений, и по ним определили отклонение от среднего.

Математическая модель. Для расчетов вертикальных профилей температуры, плотности и солености воды в центральной глубоководной части озера использовалась одномерная математическая модель, созданная в Сибирского Институте вычислительного моделирования отделения Российской академии наук (г. Красноярск) (Белолипецкий, Генова, 2008; Genova et al., 2010). Данная модель для периода отсутствия ледяного покрова основывается на решении одномерных в вертикальном направлении уравнений диффузии относительно температуры и солености воды. Коэффициент вертикального турбулентного обмена определяется ПО формуле Прандтля – Обухова с учетом приближения Экмана (Белолипецкий, Генова, 2008):

$$K_{z} = \begin{cases} (0.05h_{1})^{2} \sqrt{\left(\frac{\tau}{\rho_{0}K_{0}}\right)^{2} e^{-2\alpha z} - \frac{g}{\rho_{0}} \left(\frac{\partial \rho}{\partial z}\right)} + K_{\min} & \text{при } B \ge 0, \\ K_{\min} & \text{при } B < 0, \end{cases}$$
(4)

здесь $B = \left(\frac{\tau}{\rho_0 K_0}\right)^2 e^{-2\alpha z} - \frac{g}{\rho_0} \left(\frac{\partial \rho}{\partial z}\right), \quad \tau = \sqrt{\tau_x^2 + \tau_y^2}$ – напряжение трения ветра, $K_{\min} = 0.02 \text{ см}^2/\text{сек}$ – минимальное значение коэффициента вертикального турбулентного обмена, $K_0 = \frac{(0.05\pi)^2 \tau}{2\rho_0 f}, \quad \alpha = \sqrt{\frac{f}{2K_0}}, \quad h_1 = \pi \sqrt{\frac{K_0}{2f}}, \quad f$ – параметр

Кориолиса.

$$K_{T} = K_{S} = \begin{cases} K_{z}(T,S) & \text{при } z \le h_{1} + \Delta, \\ K_{\min} / 10, & \text{при } (z > h_{1} + \Delta & \text{и } K_{z}(T,S) = K_{\min}). \end{cases}$$

Напряжение трения ветра рассчитывается по формуле Давтян (Судольский, 1991):

$$\overline{\tau} = \rho_a (0.9 + 0.17 | \overline{W}_2|) \cdot 10^{-3} | \overline{W}_2| \overline{W}_2,$$

где ρ_a – плотность воздуха, $\overline{W}_2 = (w_x, w_y)$ – вектор скорости ветра на высоте 2 м (м/с).

Уравнение для температуры имеет вид:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(K_T \frac{\partial T}{\partial z} \right) + \alpha \beta \frac{F_I e^{-\beta z}}{c_p \rho_0}, \qquad (2.5)$$

Где граничные условия:

$$K_{T} \frac{\partial T}{\partial z} = -\frac{F_{n}}{c_{p}\rho_{0}} \quad при \quad z = 0,$$

$$K_{T} \frac{\partial T}{\partial z} = \frac{F_{H}}{c_{p}\rho_{0}} \quad при \quad z = H.$$
(2.6)

Здесь T – температура воды, $K_T(z)$ – коэффициент вертикального турбулентного обмена, F_H – теплообмен с дном, F_n – полный тепловой поток через свободную поверхность, F_I – приходящая коротковолновая радиация, β – коэффициент поглощения излучения; c_p – удельная теплоемкость воды, ρ_0 – характерное значение плотности воды, H – глубина водоема.

Аналогично задача ставится для определения вертикального распределения солености:

$$\frac{\partial S}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(K_s \frac{\partial S}{\partial z} \right),$$

$$K_s \frac{\partial S}{\partial z} \Big|_{z=0} = -F_s, \qquad K_s \frac{\partial S}{\partial z} \Big|_{z=H} = F_{SH}.$$
(2.7)

Здесь *S* – соленость воды, $K_S(z)$ – коэффициент вертикального турбулентного обмена для солености, F_{SH} – массообмен с дном, F_S – поток через свободную поверхность. Необходимо также задать начальные распределения температуры и солености: $T(0, z) = T^0(z)$, $S(0, z) = S^0(z)$.

Для подледного периода применялась упрощенная модель образования льда, основанная на однофазной задаче Стефана с линейным распределением
температуры в твердой фазе (Белолипецкий, Генова, 2008; Genova et al., 2010). Подо льдом выделяется слой конвективного перемешивания, который формируется в результате выделения соли при нарастании льда. Для получения аналитических вертикальных распределений температуры, солености и плотности используется схема в виде нескольких слоев (Белолипецкий, Генова, 2008; Genova et al., 2010).

По вертикали выделяются слой льда. слой конвективного перемешивания (термогаличнной циркуляции), придонный слой. Для расчетов изменения толщины ледяного покрова применяется упрощенная модель, основанная на квазистационарном температурном режиме в затвердевшей области (Белолипецкий, Генова, 2008; Genova et al., 2010). При образовании льда в результате кристаллизации воды высвобождается соль. Формируется неустойчивая плотностная стратификация, приводящая к конвективному перемешиванию в подледном слое, и к выравниванию солености и температуры. Используется уравнение состояния воды в линейном приближении Буссинеска (формула 2.3а). Исходя из того, что конвективное перемешивание распространяется до глуибны, на которой плотность воды в конвективном слое становится равной плотности подстилающего слоя, строится численная процедура для определения глубины конвекции и значений температуры, солености, плотности воды в конвективном слое. Весной, при повышении температуры льда до точки фазового перехода происходит таяние ледяного покрова как снизу, так и сверху. Растаявший лед образует слой опресненной воды, который перемешивается с нижними слоями воды в результате ветрового воздействия.

Подробное описание модели приведено в работах Белолипецкого и Геновой с соавторами (Белолипецкий, Генова, 2008; Genova et al., 2010).

Метеорологические данные и уровень воды. В качестве внешних условий для расчетов сезонных и многолетних динамик вертикальных профилей температуры и солености воды оз.Шира, а также при анализе натурных данных использовались данные измерений температуры и

влажности воздуха, силы ветра, облачности на метеостанции «Шира», расположенной в 15 км от озера. Все данные получены из общедоступных интернет-ресурсов «Погода России» <u>http://meteo.infospace.ru</u> и <u>http://rp5.ru</u>. Для периода 2002-2005 ΓГ частота измерений метеорологических характеристик составляла каждые шесть часов (четыре раза в сутки), для периода 2006-2012 - каждые три часа (восемь раз в сутки). В модельных расчетах использовались среднесуточные значения температуры, скорости ветра, облачности и влажности воздуха. Данные о ежемесячном количестве атмосферных осадков по метеостанции «Шира», высоте поверхности озера Шира над уровнем моря, толщине льда и снегового покрова на озере Шира, датах замерзания и схода льда, температуре грунтовых вод в районе озера были любезно предоставлены Гидрометеорологической службой Российской Федерации (г. Красноярск).

Программное обеспечение. Для обработки всех количественных данных и построения графиков и диаграмм использовался пакет Microsoft Excel 2007. Для построения контурных диаграмм температуры И солености использовалась программа SURFER 8, при этом в качестве метода расчета значений сетки использовалась триангуляция с линейной интерполяцией. Численные расчеты вертикальных профилей температуры и солености выполнялись методом прогонки с помощью приложения для Microsoft Excel 2007, разработанного в Институте вычислительного моделирования Сибирского отделения Российской академии наук (г. Красноярск). Расчеты выполнялись Белолипецким В.М. и Геновой С.Н.

Для построения карты разности осадков испаряемости И использовались карты годового количества выпавших осадков (в миллиметрах) и среднегодовых значений потенциальной испаряемости (в миллиметрах). Глобальная карта среднегодовых значений потенциальной испаряемости в миллиметрах (Global map of annual average reference IIASA evapotranspiration in была FAO mm) выполнена лля (http://www.fao.org/) в 2000 году. При этом использовались данные для

поверхности суши (исключая Антарктиду) за период с 1961-1990гг. Карта годового количества выпавших осадков была получена FAOAgrometeorologyGroup(http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/SUSTDE V/EIdirect/CLIMATE/EIsp0002.htm). Карта была построена на основании данных метеостанций за период с 1961 по 1991 гг. В построении карты принимала участие сотрудник Института биофизики СО РАН Ботвич И. Ю.

2.4 Сезонная динамика вертикальной структуры и режим перемешивания озера Шира: натурные данные

Проведенные нами систематические многолетние измерения профилей кондуктивности и температуры за период 2002-2013 показали, что концентрация растворенных солей, оцениваемая нами по кондуктивности (электропроводности), приведенной к 25 °C (К₂₅), в оз. Шира является функцией времени и пространства, поэтому не может быть охарактеризована одним значением, а характеризуется сезонной динамикой вертикальных распределений, качественно повторяющейся каждый год. Все профили температуры и кондуктивности, полученные за период 2002-2013 в ходе систематического мониторинга, приведены в Приложении.

Типичная сезонная динамика кондуктивности и температуры в данном водоеме может быть описана следующим образом (Rogozin et al., 2010) на 2003-2005 (Рис. 2.3). В примере натурных данных ΓГ начале октябре-ноябре), гидрологического В перед ледоставом, года (т.е. температура и соленость распределялись равномерно в интервале глубин от поверхности до некоторой глубины Z_m, вблизи которой наблюдался резкий скачок всех физико-химических характеристик (Рис. 2.3). Равномерное распределение кондуктивности в верхних слоях указывает на то, что в данном интервале глубин происходила циркуляция водной толщи, и, таким образом, данный интервал глубин можно считать миксолимнионом. В свою очередь, ниже точки скачка кондуктивности всегда наблюдались анаэробные условия, и присутствовал сероводород, что свидетельствует о том, что нижележащая водная толща не участвовала в осенней циркуляции, и, следовательно – являлась монимолимнионом (Рис. 2.3).

По данным гидрометеопоста п. Жемчужный, ледостав в озере наблюдается в большинстве лет в середине-конце ноября. Температура воды в зимнем миксолимнионе варьировала в большинстве лет в пределах около - 0.6 $^{\circ}$ C, однако в последние два года была - 1.01 $^{\circ}$ C в марте 2011 и -1.09 $^{\circ}$ C в марте 2012. В подледный период равномерное распределение всех профилей в миксолимнионе сохранялось, однако точка скачка кондуктивности (Z_m - глубина миксолимниона) для большинства лет располагалась глубже, чем осенью за счет конвективного перемешивания при увеличении толщины ледового прокрова. Концентрация растворенных солей в миксолимнионе повышалась по сравнению с осенью за счет замерзания части воды в лед, в то время как в монимолимнионе соленость заметным образом не изменялась (Рис. 2.3).



Рис. 2.3 – Сезонная динамика физико-химических характеристик в центральной части оз. Шира за период 2002-2005 гг. Серым фоном обозначена сероводородная зона. Пунктиром обозначены условные границы зон (пояснения в тексте)

В зимнее время ряда лет (2003, 2008 - 2010, 2013) профиль кондуктивности становился почти равномерным из-за повышения солености в миксолимнионе за счет нарастания льда и частичного перемешивания с верхними слоями монимолимниона, однако точка скачка кондуктивности Z_m

была заметна на профилях (см. Приложение). Граница раздела «кислородсероводород» по глубине совпадала с этой точкой (Рис.2.3).

Дата полного очищения ото льда варьировала в интервале от конца апреля до середины мая (гидрометеопост п. Жемчужный). Соленость льда была около 2.6 г л⁻¹ (2003 и 2007 гг). В конце мая, в результате таяния льда, а также поступления пресных талых вод с площади водосборного бассейна, соленость в верхнем двухметровом слое воды снижалась, что приводило к формированию распресненного эпилимниона. Точка галоклина, термоклина в верхних слоях воды обозначена как Z_e – глубина и пикноклина эпилимниона (Рис. 2.3). Точка Z_m оставалась на той же глубине, что и в подледный период, и граница распространения сероводорода тяготела к этой же точке, что указывало на отсутствие полной весенней циркуляции в данном озере (Рис. 2.3). Тем не менее, частичная весенняя циркуляция в миксолимнионе происходила, 0 чем свидетельствует повышение температуры и изменение профилей солености в его нижней части. К началу устойчивая летняя стратификация. июля формировалась точка $\mathbf{Z}_{\mathbf{e}}$ перемещалась на глубину 6 – 8 м. В течение июля-августа глубина эпилимниона оставалась примерно постоянной. Точка Z_m («след» зимнего миксолимниона) становилась почти невидимой на профилях. Тем не менее, граница раздела «сероводород-кислород» всегда оставалась вблизи этой точки (Рис. 2.3). В 2007 г. летний эпилимнион распространялся до глубины 10 м. К концу октября происходило выравнивание температуры и солености в интервале от поверхности до глубины, на которой вновь формировался скачок всех характеристик, и где располагалась граница сероводородной зоны, т.е. точка Z_e исчезала, и формировался новый миксолимнион, т.е. новое положение точки Z_m (Рис. 2.3).

В целом, в период открытой воды профили температуры выглядели как зеркальное отражение профилей кондуктивности (солености), что характерно для соленых озер умеренной зоны (Hammer, 1994), и указывает на сопряженность процессов нагрева-остывания водных масс с температурной конвекцией и ветровым перемешиванием.

Характер сезонных динамик в основном повторялся из года в год, однако положение нижней границы миксолимниона в подледный период существенно различалось для разных зим. Так, в 2003, 2008 и 2009 гг. наблюдался «глубокий» зимний миксолимнион, когда точка скачка кондуктивности и редокс-зона располагались на глубинах 15.5 – 16.7 м. (Рис. 2.4). Как правило, в процессе перемешивания верхняя часть анаэробной зоны «срезалась», поэтому зимний хемоклин располагался несколько глубже, чем в предыдущий осенний период. Исключение составляют осенне-зимний период 2003-2004 гг, когда перемешивание не достигло сероводородной зоны (Рис. 2.3), и зима 2010 г., когда перемешивание было столь глубоким, что сероводород поднялся в результате перемешивания на глубину около 13 м.

В мае в результате таяния ледяного покрова и поступления пресных паводковых вод, в верхних двух метрах вновь появлялся слой распресненной воды, И вновь формировался ЭПИЛИМНИОН, который препятствовал перемешиванию всей водной толщи. В течение периода открытой воды верхняя граница сероводородной зоны (редокс-зона), как правило, смещалась относительно своего зимнего значения. Летнее положение редокс-зоны варьировало в пределах 12-14 м, а ступенька кондуктивности, маркирующая глубину предыдущего осеннего перемешивания, как правило, несколько сглаживалась. Вышеописанная общих сезонная динамика В чертах повторялась из года в год.

В отличие от миксолимниона, в монимолимнионе озера профили солености и температуры всегда оставались практически равномерными, не демонстрируя сезонной периодичности (Рис. 2.3, Приложение).

В целом, на основе анализа профилей можно утверждать, что на периода 2002-2013 ΓГ. Шира протяжении всего озеро являлось меромиктическим водоемом с ежегодной осенней циркуляцией миксолимниона, быть т.е. миксолимнион озера может назван

мономиктическим (Rogozin et al., 2010). Очевидно, что отсутствие весенней циркуляции миксолимниона обусловлено тем, что распресненный верхний слой, появившийся после таяния льда и снега, обладает меньшей плотностью, и при нагревании экранирует более глубокие слои от ветрового перемешивания.

Таким образом, ежегодное формирование и таяние толстого ледового покрова усиливает стратификацию озера и является одной из причин поддержания меромиксии. Поступление большого количества талой пресной воды с водосборного бассейна в период весеннего паводка также способствует поддержанию плотностной стратификации.

В отличие от пресных водоемов умеренной зоны, в которых эпилимнион начинает формироваться только после прогрева всей водной толщи выше температуры максимальной плотности и выравнивания всех характеристик по глубине (Тихомиров, 1982), в солоноватом глубоком озере Шира теплый эпилимнион начинал формироваться сразу после таяния льда. Причиной этому служит распреснение верхнего слоя воды после таяния льда, и как следствие – возникновение пикноклина в верхних слоях воды (Рис.2.3).

Таким образом, полное выравнивание всех профилей в миксолимнионе озера Шира происходило только в периоды осенней циркуляции при остывании воды (Рис.2.3). Полная весенняя циркуляция в миксолимнионе отсутствовала, т.к. распресненный теплый эпилимнион защищал нижележащие слои от ветрового воздействия. Таким образом, можно сказать, что и весенняя циркуляция, и начало формирования летней стратификации происходили в миксолимнионе озера Шира одновременно и продолжались до формирования устойчивой летней стратификации (Рис.2.3).

2.5 Многолетняя динамика вертикальной структуры озера Шира: натурные данные

Общая картина многолетней динамики вертикальных распределений температуры и кондуктивности при 25 °С (*K*₂₅) схематично показана на Рис. 2.4. Все измеренные профили приведены в Приложении.

Многолетние наблюдения показали, что стратификация озера Шира испытывает межгодовые вариации по глубине миксолимниона и, соответственно, положению редокс-зоны (Рис. 2.4). В весенний и осенний периоды вертикальные распределения могут изменяться непрерывно под действием конвективных и турбулентных процессов перемешивания, поэтому данные весенних и осенних съемок нельзя использовать для сравнения межгодовых трендов стратификации озера.

Напротив, межгодовые вариации наиболее наглядно видны при сопоставлении профилей, соответствующих периодам летней и зимней стратификации (Рис. 2.5). Измерения разных лет показали, что в течение июля и августа профили солености почти не изменяются, т.е. в озере устанавливается летняя стратификация. Устойчивость зимней стратификации была проверена нами лишь однажды, а именно – в 2008 г.: 16 февраля и 22 марта профили были практически идентичными (Приложение). Кроме натурных данных, устойчивость летней и зимней стратификации была подтверждена и в расчетах с помощью математической модели (Rogozin et al., 2010; Genova et al., 2010).



Рис. 2.4 – Температура и кондуктивность, корректированная на 25°С (*K*₂₅) в озере Шира в период 2002-2012 гг. Пунктиром обозначена граница перехода редокс-потенциала с положительного на отрицательный (редокс-зона)

Количественной мерой стратификации водоема служит стабильность по Шмидту (*ST*), определяемая как минимальная работа, необходимая для полного выравнивания плотности воды по всей глубине водоема с помощью

адиабатического перемешивания (Holzner et al., 2009) (п. 2.3). Нулевая стабильность означает, что озеро полностью перемешано, т.е. вертикальный профиль плотности равномерный.

В период наших исследований сезонная динамика стабильности оз. Шира качественно повторялась из года в год, демонстрируя минимумы в зимнее время и максимумы в летнее (Рис. 2.6). В некоторые зимы стабильность была практически нулевой, т.е. водная толща была близка к перемешиванию (2003, 2009, 2010, 2013). Динамика зимней стратификации подробно рассматривается в п. 2.6.



Рис.2.5 – Вертикальные распределения температуры, кондуктивности при 25 °C (K₂₅) и плотности воды в центре озера Шира. Горизонтальные серые линии показывают редокс-зону (хемоклин)

В летний период стабильность была значительно выше, чем зимой, от 1.4 до 3.1 кДж м⁻², что обусловлено распресненным эпилимнионом и повышением температуры верхних слоев. В 2007 и 2013 гг. весеннее перемешивание проходило глубже, как следует из профилей на Рис. 2.5. Наименьшее значение потенциальной энергии стратификации было в 2007 г., когда эпилимнион был полностью перемешан (Рис.2.13).



Рис. 2.6 – Стабильность водной толщи озера Шира (стабильность Шмидта)

Несмотря повторяющийся характер сезонной на качественно динамики, вертикальная структура озера демонстрировала явные по температуре, кондуктивности глубине межгодовые различия И миксолимниона (положению хемоклина). А именно, в 2007-2008 гг, в монимолимнионе озера наблюдалось заметное повышение температуры воды и снижение кондуктивности (Рис. 2.16). Теплозапас монимолимниона также демонстрировал максимум в 2007 г. (Рис. 2.24). В миксолимнионе озера на фоне сезонной периодичности наблюдался максимум летней температуры в 2007 г как на глубине 2 м, так и на глубине 10 м. Профили температуры и кондуктивности в миксолимнионе также отличались от обычных: термоклин галоклин миксолимнионе В период летней стратификации И В сформировались на глубине 11 м вместо обычных 6-8 м (см. Приложение), что свидетельствует о более глубоком перемешивании миксолимниона в 2007 Стабильность Г, чем В другие годы. водной толщи, также демонстрировала локальный минимум летом 2007 по сравнению с прочими летними периодами (кроме 2009) (Рис.2.13).

2.6 Зимняя стратификация озера Шира

Меромиктическим называется водоем, в котором максимально глубокая циркуляция не захватывает всю водную толщу (Boehrer, Schulze, 2008). Как следует из вышеописанных вертикальных распределений, в годовом цикле озера Шира максимальная глубина миксолимниона задается слоем конвективного перемешивания в момент максимальной толщины льда, т.е. в марте (Genova et al., 2010; Rogozin et al., 2010). Следовательно, меромиктичность озера должна определяться именно по глубине зимней циркуляции, а межгодовые изменения в характере перемешивания озера Шира можно проследить по изменениям профилей кондуктивности в периоды зимней стратификации (Рис. 2.8).

Как показано в п. 2.4, миксолимнион достигает наибольшей глубины в данном году по достижении наибольшей толщины льда, а разность концентрации соли между миксолимнионом и монимолимнионом становится минимальной. Из данных прямых измерений видно, что ледовый покров оз. Шира достигал максимальной толщины в конце гидрологической зимы, т.е. в марте (Рис. 2.7 б). Аналогичный вывод был получен в расчетах с помощью математической модели формирования льда в оз. Шира (Genova et al., 2010) (Рис. 2.19).

Глубина зимнего миксолимниона озера была в разные годы различной (Рис. 2.5). Наиболее глубокий миксолимнион наблюдался в 2003, 2009, 2010 и 2013 гг, когда профили кондуктивности и плотности становились почти Профили плотности практически повторяли профили равномерными. кондуктивности, поскольку вклад температуры в плотность воды при малых вариациях температуры примерно на порядок меньше, чем вклад концентрации растворенных солей, как следует из уравнения состояния (2.36). Однако, в случае полной циркуляции профиль температуры тоже должен был бы стать равномерным, чего в озере не наблюдалось.



Рис. 2.7 А – Динамика толщины снегового покрова на поверхности оз. Шира (по данным Гидрометеослужбы России, гидропост п. Жемчужный)



Рис. 2.7 Б – Динамика толщины ледового покрова на поверхности оз. Шира (по данным Гидрометеослужбы России, гидропоста п. Жемчужный)

Следовательно, конвективный слой все же не захватывал всю толщу воды, а углублялся лишь до момента, когда происходило выравнивание плотности между миксолимнионом и монимолимнионом. Резкое повышение (градиент) температуры в глубинных слоях указывало, таким образом, на границу, до которой происходила циркуляция. Во все зимы, кроме 2010, градиент температуры совпадал с редокс-зоной, что также свидетельствует о неполном перемешивании озера (Рис. 2.8).

Исключение из вышеописанной схемы составил 2010 г., когда профиль температуры был существенно нарушен ниже редокс-зоны (Рис. 2.8). Наиболее вероятно, что зимой 2010 г. конвекция распространилась глубже, чем в прочие зимы, что сильнее разрушило градиенты в хемоклине. Высокое положение редокс-зоны в этом случае является, по-видимому, результатом смешивания сероводородных и кислородных слоев. Причина глубокого зимнего перемешивания 2010 г. заключается, вероятнее всего в аномально толстом ледовом покрове, обусловленном аномально холодной и бесснежной зимой (см. ниже). Дополнительным фактором, влияющим на глубину перемешивания, является изменение уровня озера по сравнению с предыдущим годом, как будет показано ниже.

Величина *ST* (стабильность по Шмидту) в подледный период отражала степень перемешивания: она была практически нулевой в 2003, затем возрастала, проходя через максимум в 2005 и 2007 гг, затем проходила через минимум 2010 г, возрастала в 2012 и вновь снижалась до минимума в 2013 гг (Рис. 2.8). Более подробно причины описанных межгодовых вариаций рассмотрены ниже, в п. 2.8.



Рис. 2.8 – Вертикальные распределения электропроводности при 25 °С, плотности и температуры воды в центре озера Шира в феврале-марте. Горизонтальной серой линией показана граница сероводородной зоны. На графиках приведены значения *ST* (стабильности, кДж м⁻²)

2.7 Роль ледового покрова и изменений уровня озера в поддержании меромиксии: правило подледного объема

Для поддержания устойчивого градиента плотности и возникновения меромиксии необходимым условием является разность солености между верхними и нижними слоями озера. В данном разделе мы полагаем, что в течение рассматриваемого периода времени (нескольких лет) общее количество растворенной соли в озере не менялось, а растворенная соль являлась консервативным веществом, т.е. отсутствовали химические реакции, способные приводить к изменению концентрации соли в постоянном объеме воды, такие как выпадение в осадок. Таким образом, уменьшение минерализации могло происходить только за счет смешивания с менее минерализованной водой, а увеличение минерализации – только за счет испарения воды с поверхности либо за счет замерзания части воды в лед с одновременным вытеснением растворенной соли в раствор.

Наличие последнего процесса подтверждается тем, что по нашим данным, в 2000-е гг минерализация льда, измеренная по кондуктивности растаявшего льда, была заметно ниже минерализации воды. Так, в феврале 2005 г. она была около 2.6 г дм⁻³, а кондуктивность $K_{25} = 4.75$ mS cm⁻¹ (измерения делали без учета вертикального распределения по толшине льда). В марте 2007 г. соленость составила 2.5 (кондуктивность $K_{25} = 4.72$ mS cm⁻¹) в слое 0-20 см от поверхности, и 2.6 г дм⁻³ в слое 20-40 см от поверхности (кондуктивность K25 = 4.87 mS cm⁻¹). По данным Малахова, соленость ледяного покрова составляла 9.5 г дм⁻³ на поверхности и снижалась до 4.9 г/дм3 на глубине 0.5-1.0 м (1960-е гг), при этом в составе солей резко преобладали сульфаты (Малахов и др., 1963). Таким образом, показано, что при замерзании части воды в лед неизбежно происходит увеличение минерализации в оставшемся незамерзшим объеме воды, т.е. имеет место «вытеснение» соли в раствор.

Анализ сезонных изменений вертикальных распределений кондуктивности (пп 2.5, 2.6) показывает, что в годовом цикле основной причиной возникновения разности солености между верхними и нижними слоями озера Шира является замерзание-таяние льда. Именно за счет растаявшего льда возникает градиент солености в начале периода открытой воды.

Возникает вопрос: может ли голомиктическое соленое озеро стать меромиктическим только за счет изменений минерализации воды, обусловленных вышеописанными процессами замерзания и таяния льда? Для начала следует рассмотреть идеальный случай, когда уровень озера остается постоянным. В качестве стартового момента времени возьмем зиму и предположим, что под слоем льда водная толща равномерно перемешана, т.е. данное озеро в первую зиму является голомиктическим (Зима 1 на Рис.2.9).



Рис. 2.9 – Схема вертикального распределения солености в голомиктическом озере при постоянном уровне озера и постоянной толщине льда

$$(H_1 = H_2$$
 и $L_1 = L_2)$

К моменту максимальной толщины льда, концентрация соли достигает максимального значения S_{max} , а потенциальная энергия стратификации ST - нулевая (Зима 1 на Рис.2.9). Профиль солености в этом случае равномерный В озере Шира похожая ситуация наблюдалась в 2003, 2009, 2010 и 2013 гг, хотя полной циркуляции все же не было, т.е. слабая меромиксия сохранялась, как показано в п. 2.6 (Рис. 2.8). Летом объем жидкой воды увеличивается на объем растаявшего льда, в результате в верхнем слое концентрация соли снижается из-за смешивания с талой водой, т.е. $S_1 < S_{max}$ (Рис. 2.9, Лето). Профиль солености в этом случае неравномерный, следовательно, величина *ST* возрастает и становится больше нуля. Предположим, что к следующей зиме уровень озера не изменился, а погодные условия следующей зимой были в среднем аналогичны таковым в первую зиму. Тогда толщина льда будет стремиться к прошлогоднему значению, а значит и подледный объем будет стремиться уменьшиться до той же величины, что и прошлой зимой. Т.е. при условии $L_1 = L_2$ будет $H_1 = H_2$ (Рис. 2.9). Очевидно, что

концентрация соли в верхнем слое будет вновь стремиться к значению S_{max} (Рис.2.9, Зима 2). Исходя из условия сохранения общего количества растворенной соли и невозможности увеличения ее концентрации в растворе, профиль концентрации соли вновь обязательно станет равномерным, как и предыдущей зимой. Т.е. энергия стратификации вновь станет нулевой, а режим перемешивания озера будет вновь близок к голомиктическому. Очевидно, что для возникновения устойчивой, гарантированной меромиксии необходимо, чтобы минимальная потенциальная энергия озера в годовом цикле была отлична от нуля, т.е. профиль солености остался бы неравномерным в зимнее время. Если в качестве стартового состояния взять голомиктическое озеро, то исходя из постоянства количества растворенной соли, необходимым условием для возникновения градиента солености (т.е. меромиксии) является увеличение подледного объема воды, т.е. если толщина льда не меняется ($L_1 = L_2$), то следующей зимой должно быть $H_1 < 1$ *H*₂ (Рис. 2.10). Только в этом случае возможна ситуация, когда следующей зимой будет $S_2 < S_{max}$. Описанная ситуация изображена схематично на Рис. 2.10.



Рис. 2.10 – Схема возникновения неоднородного вертикального распределения солености (меромиксии) при подъеме уровня воды в голомиктическом озере

Увеличение подледного объема может произойти и за счет уменьшения толщины льда, т.е. если будет $L_1 > L_2$. В реальности оба фактора действуют одновременно и их сочетание может усиливать зимнюю стратификацию, если уровень вырос, а лед стал тоньше, либо ослаблять, если уровень уменьшился, а лед стал толще. Очевидно, что описанные выше изменения зимней стратификации озера обратимы. Т.е. при уменьшении подледного объема профиль солености стремится стать более равномерным по сравнению с предыдущей зимой, а стабильность стратификации, соответственно, стремится к снижению.

Итак, на поставленный вопрос: может ли голомиктическое соленое озеро стать меромиктическим только за счет изменений минерализации воды, обусловленных процессами замерзания и таяния льда, можно ответить: нет. Можно сформулировать следующее правило: для перехода от голомиксии к меромиксии необходимо увеличение объема незамерзшей воды в зимний период. При этом голомиксия и меромиксия определяются по профилям солености в момент максимальной толщины льда.

В общем случае увеличение объема незамерзшей воды не является достаточным условием для возникновения неполной циркуляции. Например, в мелком озере циркуляция воды в зимнее время может достигать дна даже при значительно возросшем уровне озера. Т.е. для прогноза перехода к меромиксии требуется учет и текущего состояния озера, например его глубины и стартового профиля распределения солености, И ПОГОДНЫХ факторов, таких как ветровое воздействие в период осенней циркуляции, температура воздуха и пр. Однако, выведенное выше правило задает принципиально необходимое условие перехода к меромиксии: пока объем подледный незамерзшей воды В период не увеличится, соленое голомиктическое озеро точно не перейдет в меромиктический режим.

2.8 Роль ледового покрова и изменений уровня озера Шира в поддержании меромиксии: натурные данные

Применим сформулированный выше подход к озеру Шира в период наших исследований, и проверим выполнимость правила подледного объема.

Поскольку объем озера является однозначной функцией его уровня, изменения подледного объема будут пропорциональны изменению высоты нижней кромки льда над уровнем моря. Изменение высоты нижней кромки льда легко оценить по формуле:

$$\Delta H_{L}^{i} = (H_{ASL}^{i} - H_{ASL}^{i-1}) - (L_{ice}^{i} - L_{ice}^{i-1}),$$

где: ΔH_L^i - изменение уровня нижней поверхности льда в *i*-м году по сравнению с (*i*-1)-м годом; H_{ASL}^i , H_{ASL}^{i-1} - уровни поверхности озера в марте *i*-го и (*i*-1)-го года, соответственно; L_{ice}^i , L_{ice}^{i-1} – толщины льда в марте *i*-го и (*i*-1)-го года, соответственно; в нашем случае принимаем $\Delta H_L^{2003} = 0$; (*i*= 2004,, 2013).



Рис. 2.11 **А** – Динамика уровня поверхности озера Шира и уровня нижней кромки льда в марте; **Б** динамика глубины конвективного слоя (миксолимниона) и стабильности по Шмидту в марте 2003-2013 гг

На Рис. 2.11 видно, что в те годы, когда величины ΔH_L были положительными, энергии стратификации были относительно высокими, т.е. наблюдался градиент солености, как это видно на Рис. 2.8. И наоборот - при отрицательных величинах ΔH_L происходило снижение энергии стратификации и заглубление зимнего миксолимниона (2008-2010, 2013 гг).

Действительно, зимой 2004 г уровень озера был на 0.4 м выше, чем зимой 2003 г., а толщина льда не изменилась (около 1 м). Глубина конвективного слоя уменьшилась, а ST, соответственно, увеличилась по сравнению с 2003 г (Рис. 2.8, 2.11). В 2005 уровень вновь возрос по сравнению с 2004 г. (на 0.1 м), вдобавок лед был заметно тоньше (0.6 м против 1 м). Таким образом, подледный объем вновь увеличился, и ST увеличилась по сравнению с 2004 (Рис. 2.11). К сожалению, мы не располагаем данными по вертикальной структуре озера за 2006 г. В 2008 г. уровень озера понизился, и лед был толще, чем в 2007 г. Величина ST (Рис. 2.11). соответственно снизилась Аналогичная тенденция прослеживается и в 2009 г. по сравнению с 2008 г: в 2009 г. ST упала до нуля. В 2010 г. наблюдался незначительный подъем уровня воды (на 5 см), однако лед был значительно толще, чем в 2009 (1.3 м против 1м), поэтому подледный объем еще уменьшился, и ST опять была нулевой. В 2011 уровень возрос вновь незначительно, однако меньшая толщина льда способствовала увеличению ST. Аналогичная ситуация была в 2012, когда лед был аномально тонким (0.5 м) из-за аномально толстого снегового покрова (Таб. 4.2), что привело к увеличению ST. И в 2013 г. лед вновь стал толще на 0.5 м по сравнению с 2013 г., в результате стратификации вновь упала до нуля.

Таким образом, для озера Шира в период наших исследований правило подледного объема выполнялось для всех лет. Вышеописанная зависимость стабильности зимней стратификации озера от межгодовых изменений уровня нижней кромки льда приведена на Рис. 2.12. Четко видна положительная корреляция между этими величинами (r = 0.76, n=10), значимая по уровню *P*=0.05 (Рис. 2.12). Следует подчеркнуть, что стабильность является расчетной величиной, отражает которая В нашем случае глубину конвективного слоя: чем глубже конвективный слой, тем ниже стабильность. Между глубиной конвективного слоя и стабильностью наблюдалась значимая антикорреляция (r = -0.81, P=0.01). Соответственно, И между глубиной конвективного слоя и изменением уровня нижней кромки льда наблюдалась значимая антикорреляция (r = -0.86, P=0.01).

Нельзя утверждать, что зимняя стратификация озера Шира определяется только вышеописанными причинами – изменением уровня и толщины льда. Очевидно, что на распределение солености будет влиять и погодный сценарий в предыдущий период открытой воды, и стартовое распределение солености, унаследованное от предыдущего сезона. Однако

сформулированное выше правило подледного объема выполняется для озера Шира как тенденция.



Рис. 2.12 – Зависимость глубины конвективного слоя (миксолимниона) озера Шира в зимний период от изменений уровня нижней кромки льда

Данная тенденция может быть обобщена как тенденция к усилению стратификации озера в периоды повышения его уровня, и наоборот – снижения стратификации в периоды его снижения. Аналогичная тенденция была отмечена Гибсоном при исследовании меромиктических озер региона Вестфолд Хиллс (Vestfold Hills) на восточном побережье Антарктиды (Gibson, 1999). В данном регионе были исследованы более тридцати водоемов, стратификация которых была обусловлена разностью солености. Было показано, что конвективный слой (конвективная ячейка) достигает глубины максимальной КО времени, когда толщина льда достигает максимума, а стабильность водной толщи в это время снижается до распресненный минимума. После таяния льда поверхностный слой препятствует ветровому перемешиванию, что способствует поддержанию

меромиксии. Было показано, что дополнительное поступление воды усиливает стабильность меромиксии, тогда как при снижении уровня озера происходило углубление конвективного слоя и повышалась вероятность полного перемешивания (Gibson, 1999), т.е. ситуации, изображенной на Рис. 2.11 для озера Шира.

Очевидно, что при постоянном уровне озера и толщине льда неравномерное распределение солености является неустойчивым, поскольку перемешивание любое незначительное будет стремиться сглаживать «ступеньку» солености И уменьшать разницу солености межли миксолимнионом и монимолимнионом. Следовательно, стабильность зимней стратификации В течение нескольких лет должна уменьшаться самопроизвольно, вплоть до полного выравнивания профиля, как в период 2007-2010. Подъем уровня, выводящий озеро из состояния с минимальной энергией стратификации, как 2004 Г. играет роль своеобразной стратификации Скачкообразное «перезагрузки» озера. повышение стабильности затем может иметь тенденцию к ослаблению в течение нескольких лет. Снижение уровня воды не является для этого необходимым условием, оно лишь дополнительно может ускорять процесс снижения стабильности. Очевидно, что только в слабо стратифицированном и достаточно глубоком озере небольшие изменения уровня и толщины льда могут существенно влиять на глубину миксолимниона и стабильность стратификации. При наличии сильного вертикального градиента солености, как в рядом расположенном оз. Шунет (см. п.2.12), межгодовые флуктуации подледного объема не будут заметным образом влиять на вертикальную структуру озера. И, наоборот, в мелководном соленом озере, где отсутствует градиент солености в зимнее время, незначительного увеличения подледного объема будет недостаточно для того, чтобы полная циркуляция не достигла дна, т.е. озеро стало бы меромиктическим.

2.9 Летняя стратификация озера Шира

В летнее время увеличение энергии стратификации обусловлено появлением теплого и распресненного эпилимниона, блокирующего ветровое перемешивание более глубоких слоев. Однако, частичное перемешивание ниже эпилимниона все же происходит, т.к. профили в районе хемоклина искажаются и зимняя «ступенька» кондуктивности в районе хемоклина сглаживается (Рис.2.13). Распределение солености в основном обусловлено степенью перемешивания эпилимниона, а она зависит от стартовых условий и погодных сценариев. Рассмотрим основные возможные факторы.





2007 г. – в июне). Горизонтальной серой линией показана граница сероводородной зоны. На графиках приведены значения *ST* (стабильности,

Основная стратификации Шира закономерность летней озера температурно-солевой стратификации заключается В наличии В Термоклин и галоклин совпадают по глубине, и в миксолимнионе. большинстве лет расположены в интервале глубин 5-8 м (см. рис. 2.13 и п. 2.4). Исключение составил 2007 г., когда весенняя циркуляция захватила практически весь миксолимнион до редокс-зоны, т.е. до глубины свыше 11 м (Рис.2.13). Стандартная температурно-солевая стратификация В миксолимнионе в этот год отсутствовала. В дальнейшем к концу июля в миксолимнионе сформировалась температурная стратификация.

Ветровое перемешивание очевидным образом влияет на глубину весеннего и летнего эпилимниона. Как было показано ранее, весна 2007 г. была рекордно ветреной (Rogozin et al., 2010) (Рис. 2.15А), что явилось одной из причин аномально глубокого эпилимниона 2007 г (Рис.2.13). Еще одним фактором, ослабляющим летнюю стратификацию 2007 г., возможно, является отсутствие весеннего паводка. В 2007 гг. весенний паводок, оцениваемый нами как разность среднемесячного уровня поверхности озера между мартом и маем, был практически нулевым, в отличие от остальных лет (Рис. 2.14). При наличии большого паводка количество пресной воды в эпилимнионе увеличивается, что, соответственно, усиливает плотностную стратификацию и затрудняет весеннюю циркуляцию. Как следствие – возникает более мелководный эпилимнион. И наоборот, при отсутствии весеннего паводка стратификация в верхних слоях будет слабее, т.к. слабее градиент плотности в эпилимнионе. Данная тенденция прослеживается и в озере Шира, т.к. между величиной паводка и глубиной летнего эпилимниона наблюдается антикорреляция, хотя и слабая (r = -0.45, n = 10). Очевидно, что величина весеннего паводка определяется в первую очередь количеством снега на поверхности озера и окружающей территории. Слабая положительная корреляция между этими величинами наблюдается, (r = 0.37, n = 10).

На глубину весеннего перемешивания, и, соответственно, стабильность стратификации в летнее время оказывают влияние и толщина льда в

предыдущую зиму. Более толстый лед порождает большую концентрацию соли в воде миксолимниона, и одновременно – больший объем опресненной воды после таяния. Как следствие, формируется более сильный градиент плотности и более мелководный эпилимнион. В исследуемый период между толщиной льда и глубиной летнего эпилимниона наблюдалась слабая антикорреляция (r = -0.34, n = 10). Наиболее наглядно данный эффект проявился в 2010 г., когда лед был аномально толстым (1.3 м), а летний эпилимнион был более распресненным и мелководным, чем в соседние годы (Рис. 2.13).



Рис.2.14 – Уровень поверхности озера Шира (метры над уровнем моря) и ежемесячное количество атмосферных осадков в окрестности озера

В свою очередь, вариации толщины льда обусловлены не только температурой воздуха, но и толщиной снега. Даже в условиях холодной зимы 2012 г. толстый снежный покров обеспечил рекордно тонкий лед – 50 см, тогда как в 2010 г. лед был аномально толстым (130 см), что, несомненно, вызвано аномально холодной зимой в сочетании со слабым снеговым покровом (Рис.2.17). В целом, за период исследований между толщиной льда

и толщиной снегового покрова наблюдалась значимая антикорреляция (r = -0.71, P > 0.05).

Фактор, непосредственно зависящий от глубины зимней циркуляции – это плотность воды в миксолимнионе в подледный период. Чем она выше, тем при прочих равных условиях будет сильнее градиент плотности после таяния льда. Плотность воды, в свою очередь, зависит от глубины зимнего перемешивания (=конвективного слоя). Соответственно, глубина летнего эпилимниона отрицательно (хотя и очень слабо) коррелировала с глубиной зимнего миксолимниона (r = -0.26, n = 10), и значимо отрицательно коррелировала с плотностью воды в зимнем миксолимнионе (r = -0.84, P > 0.01). Глубина конвективного слоя, в свою очередь, определяется сочетанием толщины льда и динамики уровня озера, согласно правилу подледного объема, сформулированному выше (см. пп. 2.7 и 2.8).

Таким образом, из анализа натурных данных следует, что межгодовые вариации летней стратификации обусловлены сочетанием ряда погодных факторов: ветрового перемешивания в весенний период, температуры в весенний период, величины весеннего паводка, толщины льда в предыдущую зиму, глубины конвективного слоя (которая также зависит от толщины льда). Детальное выявление причин для каждого года не входит в задачи настоящей работы, для этого требуются имитационные математические модели. Нами сделаны лишь наблюдения, на основе которых выявлено несколько причинно-следственных связей, которые в реальной ситуации каждого года действуют одновременно и часто разнонаправленно. Слабые корреляции свидетельствуют о том, что нет какого-то одного фактора, управляющего межгодовыми вариациями летней стратификации. Тем не менее, следует подчеркнуть, что существенную роль в формировании летней стратификации играют не только погодные факторы непосредственно в период открытой воды, такие как ветер и температура, но и вышеупомянутые характеристики предыдущей зимы, от которых зависит стартовое распределение плотности воды в эпилимнионе после таяния льда.

Среди всех исследованных лет наибольший интерес представляет лето 2007 г. т.к. в это время стратификация качественно отличалась от всех предыдущих лет, а именно – произошло глубокое весеннее перемешивание миксолимниона, уничтожившее стандартное разделение на эпилимнион и гиполимнион. Поэтому следует отдельно рассмотреть факторы, этому способствовавшие. Можно утверждать, что в 2007 г. сочетание всех вышеперечисленных факторов обусловило глубокую циркуляцию. А именно теплая зима обеспечила тонкий лед (Рис.2.17, Таб.4.1), тонкий лед обеспечил небольшую глубину зимнего подледного миксолимниона (Рис.2.13), отсутствие снега обеспечило отсутствие весеннего паводка (Таб.4.2, Рис. 2.14), погодные условия после схода льда были аномально ветреными, а температура воздуха была относительно низкой (Рис.2.15). Кроме того, в этом году наблюдался наиболее ранний сход льда, что удлинило период весеннего перемешивания.

Поскольку глубина турбулентного перемешивания определяется в первую очередь силой ветра, можно предположить, что именно ветер играл решающую роль в формировании «глубоких» эпилимнионов 2002 и 2007 гг. Сравнение суммарной скорости ветров в начале весны показывает, что в эти годы весенний период был более ветреным, чем в остальные годы (Puc.2.15) (Rogozin et al., 2010). Самыми ветреными были весна и начало лета 2007 г., что могло послужить одной из причин самого глубокого перемешивания эпилимниона. Влияние температуры на заглубление эпилимниона не так очевидно из имеющихся данных. Действительно, ни в 2002, ни в 2007 гг весна не отличалась низкими температурами по сравнению с остальными годами (Puc.2.15) (Rogozin et al., 2010).

Влияние ветровых и температурных условий на глубину осенней циркуляции из имеющихся данных не так очевидно. Действительно, более глубокие миксолимнионы, наблюдаемые в осенний и подледный периоды 2002-2003 и 2007-2008, не были связаны с ветровыми и температурными аномалиями перед ледоставом (Рис. 2.15 Б, Г).



Рис. 2.15 – Погодные условия в окрестности оз. Шира в весенний и осенний периоды (из Rogozin et al., 2010). А: сумма скоростей ветра за 30-ти дневный период после схода льда;
Б: тоже для 30-дневного периода перед ледоставом; В – сумма температур за 30-дневный период после схода льда;
Г– сумма температур за 30-дневный период перед ледоставом, серым цветом показаны суммы положительных температур, черным цветом – суммы отрицательных температур

Заметим, что в 2007 г. были зарегистрированы и существенные изменения в монимолимнионе озера. А именно, снизилась кондуктивность и повысилась температура в монимолимнионе (Рис. 2.16). Одновременное снижение кондуктивности и повышение температуры указывает на поступление в монимолимнион некоторого количества более теплой и менее соленой воды. Можно предположить, что снижение кондуктивности и повышение температуры в монимолимнионе озера Шира, наблюдавшееся в 2007-2008 гг, произошло за счет частичного перемешивания с водами миксолимниона. Простые расчеты показывают, что в этом случае для снижения кондуктивности в монимолимнионе с 24.5 мСименс см⁻¹ до 21.4 CM^{-1} мСименс потребовалось бы замещение почти объема всего монимолимниона водами миксолимниона. Действительно, по нашим расчетам объем мимонимолимниона составляет от 13% до 28 % от объема миксолимниона при глубинах миксолимниона 16 м и 12 м, соответственно. При этом для наблюдаемого снижения кондуктивности потребовалось бы 10-20% воды миксолимниона, т.е. объем, практически равный объему монимолимниона.



Рис. 2.16 – Многолетняя динамика кондуктивности и температуры в центре озера Шира. А: *K*₂₅ на глубине 22 м (△) и в зоне хемоклина (▲); Б: температура на глубине 22 м (◇) (правая ордината) и в зоне хемоклина (◆) (левая ордината)

Снижение температуры воды в озере в 2010 г. вплоть до отрицательных значений в миксолимнионе совпадает со снижением температуры воздуха (Рис.2.17). Действительно, зима 2009-2010 г. по сумме отрицательных температур была самой холодной за все годы наших исследований, а лето 2009 г. было относительно прохладным (Рис. 2.17А). В результате среднегодовая температура была наименьшей для периода 2009-2010, составив – 0.72 °C. Наибольшая среднегодовая температура наблюдалась в периоды 2001-2002 и 2006-2007, составив +3.8 °C и +3.3 °C, соответственно, что было обусловлено сочетанием теплой зимы и теплого лета.



Рис. 2.17– Температура воздуха в районе оз. Шира (метеостанция «Шира») в период исследований: А – суммы положительных и отрицательных температур; Б – среднегодовая температура. За начало года при расчетах принимали 1 октября, конец года – 30 сентября следующего года (гидрологический год)

2.10 Положение редокс-зоны в озере Шира

Редокс-зона в осенний и зимний периоды, как правило, совпадала с нижней границей миксолимниона (кроме 2004 г.) (Рис. 2.8, 2.13). Следовательно, положение редокс-зоны в этот период определяется процессами турбулентного и конвективного перемешивания водных масс миксолимниона. Таким образом, для прогноза зимнего положения редоксзоны в озере Шира в большинстве случаев достаточно спрогнозировать процессы перемешивания с учетом всех вышеупомянутых факторов. Интенсивность бактериальных процессов сульфатредукции и окисления сульфида, очевидно, не может существенно повлиять на глубину расположения редокс-зоны в осеннее и зимнее время.

Напротив, в весеннее и летнее время ветровое перемешивание ограничивается эпилимнионом, нижняя граница которого расположена значительно выше редокс-зоны. Поэтому на положение редокс-зоны в это время могут оказывать, влияние и другие факторы, например биологические процессы продукции-потребления сульфида и кислорода, а также внутренние гидрофизические процессы, не учитываемые в простых моделях, и не регистрируемые нами.

Таким образом, из анализа сезонной динамики натурных данных следует, что внешние факторы, влияющие на гидрофизическую стабильность водной толщи соленых замерзающих озер в сезонном цикле могут быть расклассифицированы на ослабляющие и усиливающие, согласно Таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Классификация факторов, влияющих на гидрофизическую стабильность водной толщи соленого озера

Факторы повышения	Факторы снижения
стабильности	стабильности
(увеличения разности	(уменьшения разности
плотности между	плотности между
слоями)	слоями)
Таяние льда	Формирование льда
(опреснение верхнего	(повышение солености
слоя)	верхнего слоя)
Нагрев через	Остывание через
поверхность (солнечная	поверхность
энергия + атмосфера)	
Поверхностный приток	Испарение с
пресной воды (паводок)	поверхности
	Ветровое
	перемешивание

Соответственно, максимизация всех факторов, усиливающих стабильность, способствует возникновению меромиксии.

2.11 Моделирование вертикальной структуры оз. Шира

2.11.1 Верификация одномерной модели по натурным данным

Вертикальные профили температуры и солености были рассчитаны с помощью одномерной математической модели, основанной на уравнениях п.2.3), разработанной турбулентной диффузии (см. В Институте вычислительного моделирования СО РАН Белолипецким В.М. и Геновой С.Н. (Belolipetskii, Genova, 2008). Данная модель была верифицирована по измеренным профилям для различных сезонов 2002-2004 гг. (Genova et al., 2002). Было показано, что расчетные профили температуры и солености качественно схожи с натурными профилями для всех сезонов (Рис. 2.18 А-В), модель достаточно адекватно описывает наблюдаемые профили т.е. вышеуказанных характеристик в центральной глубоководной части озера (Genova et al., 2010; Rogozin et al., 2010).

Наиболее наглядно адекватность модели подтверждается при сравнении зимних распределений. Измеренные профили солености для зим 2003 и 2004 существенно различались, а именно – «ступенька» солености (следовательно – плотности) в 2003 был на 4 м глубже, чем в 2004 (15.3 м и 11.3 м соответственно) (Рис. 2.18 А-В). Аналогичная картина была получена и в модельных расчетах (сравнить февраль 2003 на Рис.2.18А и февраль 2004 на Рис.2.18 В). Следовательно, значительные различия между зимними распределениями разных лет ΜΟΓΥΤ объясняться ЛИШЬ различиями метеорологических условий, которые учитываются в предлагаемой модели.

Расчетная толщина ледового покрова также совпадала с измеренной для соответствующих дат (Рис.2.19) (Genova et al., 2010).


Рис. 2.18А – Расчетные (сплошная линия) и измеренные (пунктирная линия) вертикальные распределения температуры и солености в центре озера Шира для осеннее-зимнего периода 2002-2003 (Белолипецкий и др., 2010, 2011)



Рис. 2.18 Б – Расчетные (сплошная линия) и измеренные (пунктирная линия) вертикальные распределения температуры и солености в центре озера Шира для весеннее-летнего периода 2003 г. (Белолипецкий и др., 2010, 2011)



Рис. 2.18А – Расчетные (сплошная линия) и измеренные (пунктирная линия) вертикальные распределения температуры и солености в центре озера Шира для осеннее-зимнего периода 2002-2003 (Белолипецкий и др., 2010, 2011)



Рис. 2.19 – Расчетная динамика и измеренные значения толщины ледового покрова в центре оз. Шира (из Genova et al., 2010)

2.11.2 Расчеты многолетней динамики вертикальной структуры оз. Шира с помощью математической модели

С помощью вышеописанной модели были выполнены расчеты для реальных метеорологических сценариев за период 2002-2009 (Rogozin et al., 2010). Для наглядного сравнения результатов моделирования с натурными данными подходящим индикатором может служить значение глубины, до турбулентное которой распространяется (в подледный период перемешивание. Ha данной наблюдается конвективное) глубине максимальный градиент солености, температуры и соответственно – плотности, поэтому многолетнюю динамику вертикальной структуры озера удобно иллюстрировать с помощью графика глубины расположения максимального градиента солености от времени (Рис.2.11А). Очевидно, что в периоды летней стратификации эта глубина располагается вблизи точки Z_T (термоклин), а по мере остывания воды и разрушения термоклина, зона перемешивания постепенно заглубляется до точки Z_m (миксолимнион) (Рис.2.3). На Рис. 2.20 видно, что расчетная динамика положения точки максимального градиента солености достаточно хорошо повторяет натурные данные. Острые пики на расчетных кривых соответствуют моменту таяния льда, «плечо» соответствует устойчивому термоклину в период летней стратификации. Прямые горизонтальные участки соответствуют подледным периодам.

В качестве начальных данных для расчетов задавались измеренные профили для соответствующих дат. Расчетный год начинали с первой весенней даты полевых измерений для 2003, 2004 и 2005 гг, в остальные годы, за отсутствием весенних данных – с первой летней даты. Расчет проводили до даты ледостава следующего года.



Рис. 2.20 А – Динамика глубины максимального градиента солености в оз.
Шира: расчетная для нечетных лет (——), тоже для четных лет (____);
измеренная(▲); В: глубина расположения редокс-зоны (хемоклина),
наблюдаемого в озере (Δ). Стрелками показаны наиболее глубокие
миксолимнионы. (Rogozin et al., 2010)

Таким образом, профили для летнего и осеннего периодов для большинства лет рассчитывались дважды: первый раз – на финишном этапе (n-1)- го расчетного года, второй раз – на стартовом этапе n-го расчетного года. На рис. 2.20 видно, что соответствующие перекрывающиеся во времени участки расчетных кривых достаточно хорошо совпадают для всех лет, за исключением 2007 г. В 2007 г. в озере Шира наблюдалось необычно глубокое расположение термоклина, как уже показано выше (см. п.2.9). Расчетное положение термоклина для 2007 г. было также более глубоким, чем в прочие годы, однако меньше наблюдаемого (Рис.2.20). В то же время, в расчетах, начатых с летней даты 2007 г., удалось получить более адекватное расположение точки Z_m на момент ледостава, но подледное положение этой точки в расчетах было все-таки существенно выше наблюдаемого (Рис.2.20).

Расчетная глубина Z_m для подледных периодов 2002-2003 и 2004-2005 гг хорошо соответствовала измеренной. В другие годы совпадение было не столь хорошим. Тем не менее, более «глубокий» миксолимнион, наблюдаемый в подледные периоды 2002-2003, 2007-2008 и 2008-2009, был получен нами в расчетах для соответствующих лет, хотя и на меньших глубинах, чем в озере (Рис. 2.20).

Соответствие наблюдаемых и расчетных динамик свидетельствует о пригодности данной модели для грубого описания и прогноза профилей температуры и солености в озере Шира. Используемая нами одномерная модель достаточно хорошо имитировала ситуацию в озере для периода 2002 – 2005 гг. и. напротив, была недостаточно адекватной для периода 2007-2009 гг. (Рис.2.20). Причины такой неравномерности могут заключаться, в частности, в том, что модель не учитывала изменений уровня озера. Уровень поверхности озера Шира постепенно увеличивался от 354.67 м над уровнем моря в июле 2002 до максимального 355.7 м в июле 2007, затем к лету 2008 снизился примерно на 20 см (Рис.2.14). Таким образом, за период наших исследований озеро поднялось примерно на 1 м, что могло изменить характер циркуляции водных масс. Возможно, поэтому модель была неспособна «перемешать» озеро до наблюдаемых значений термоклина и миксолимниона в период 2007-2009 гг. Кроме того, не учитывалось влияние течений, что также боковых является существенным ограничением одномерной модели. Применение двух- или трехмерной модели, очевидно, усилило бы адекватность модели. Кроме того, в расчетах использовались усредненные метеоданные, в то время как отдельные сильные штормовые ветра, имевшие место, например, весной 2007 г., по силе воздействия на водоем могли быть более значимыми, чем усредненные данные.

2.11.3 Анализ влияния стартовых распределений на стратификацию оз.Шира

Помимо метеоусловий, процессы перемешивания могут зависеть и от начальных условий, т.е. от профилей плотности в момент начала циркуляции. Интересно выяснить, в какой степени начальные условия определяли положение термоклина Z_T и нижней границы миксолимниона Z_m в данном озере.

Профиль летней стратификации является «стартовым» для осенней циркуляции. Можно заметить, что в те годы, когда наблюдаемое в озере положение термоклина было более глубоким, чем обычно, т.е. в 2002 и 2007, осенний миксолимнион также располагался глубже, чем обычно (Рис. 2.20), несмотря на сравнительно малое количество ветров осенью (Рис.2.15). Аналогичная тенденция наблюдалась и в расчетах. На расчетных кривых на рис.2.20 видно, что глубоко расположенное летнее «плечо» 2002 и 2007 гг соответствует глубокому положению миксолимниона в конце осени. И наоборот, более «мелкий» летний термоклин на старте обусловливал сравнительно мелкий миксолимнион к осени. Таким образом, видно, что глубина перемешивания миксолимниона в период осенней циркуляции определяется не только метеоусловиями в данный период, но и положением термоклина в начале этого периода. Чем глубже был летний термоклин – тем глубже формировался миксолимнион перед ледоставом при прочих равных условиях. Этот вывод хорошо подтверждается в расчетах. Нами был проведен расчет с момента летней стратификации до зимней стратификации для метеоусловий 2007 г, но с различными стартовыми профилями. Когда в качестве стартового был задан летний профиль 2005 г. с относительно высоким положением термоклина (рис.2.13), расчетная глубина осеннего миксолимниона была на 2 м меньше, чем для профиля 2007 г. с глубоким термоклинном (Rogozin et al., 2010).

Влияние стартовых весенних профилей на глубину формирования летнего эпилимниона (термоклина) было продемонстрировано качественно 2.9). Межгодовые на натурных данных (см. Π. различия могут обусловливаться лишь небольшими различиями в солености воды, а также толщине и солености льда. Следовательно, можно считать, что межгодовые различия глубины перемешивания эпилимниона и формирования термоклина определяются В основном различиями метеоусловий. Недостатком используемой нами модели является ее неспособность рассчитывать стартовый профиль плотности как функцию толщины льда, снега и т.д. Стартовые условия в начале каждой весны в данной модели задаются вручную, т.е. для адекватного моделирования требуется каждую весну измерять профиль.

2.12 Сезонная динамика вертикальной структуры и режим перемешивания озера Шунет: натурные данные

В течение всего периода исследований водная толща озера Шунет сохраняла устойчивую химическую стратификацию, разделяясь на аэробную и сероводородную зоны. Типичная сезонная динамика вертикальной структуры озера Шунет проиллюстрирована на примере нескольких лет на Рис. 2.21. Все имеющиеся вертикальные профили приведены в Приложении. В придонных слоях, начиная с глубины около 4.5 м (август 2003-2011 гг), концентрация растворенных солей монотонно возрастала, достигая у дна максимальных значений около 90-100 г л⁻¹. Вертикальное распределение солености в интервале глубин от поверхности до 4.5 м изменялось в зависимости от сезона, а концентрация изменялась в пределах 10-25 г л⁻¹ (Рис.2.21). Соленость в нижней части почти не менялась по сезонам, указывая на отсутствие полной циркуляции воды в оз. Шунет. Резко неоднородное распределение растворенных солей, в сочетании с постоянно высокой концентрацией сероводорода в придонных слоях, свидетельствует о

меромиктическом характере оз. Шунет в период исследований. Водная толща озера, таким образом, разделялась на аэробный миксолимнион и монимолимнион, нижняя часть которого была постоянно анаэробной.



Рис. 2.21 – Сезонная динамика вертикальных распределений физикохимических характеристик озера Шунет для 2003, 2005 и 2009 гг. Серым фоном обозначена анаэробная зона

На сезонную динамику солености и температуры в миксолимнионе существенное влияние оказывал процесс образования и таяния ледового покрова (Рогозин и др., 2012). Соленость в миксолимнионе в подледный период была максимальной из-за того, что часть растворенных солей высвобождается воды. В это при замерзании время равномерное распределение солености (кондуктивности) и температуры наблюдалось от поверхности вплоть до глубины расположения галоклина на глубине 4 м, что указывает на наличие конвекции в период осеннего перемешивания и намерзания льда (Рис.2.21). Весной из-за таяния льда соленость в верхних 1-2 м заметно снижалась. В дальнейшем, при нагревании, в верхних слоях формируется теплый эпилимнион, глубина которого постепенно в течение лета увеличивается за счет турбулентного перемешивания. Соленость в эпилимнионе при этом закономерно увеличивается в течение лета за счет перемешивания с нижележащими более солеными слоями (Рис.2.21). К середине лета эпилимнион устанавливается на глубине около 3 м. Осенью при остывании перемешивание продолжается вплоть ДО полного выравнивания профилей от поверхности до глубины 4 м (Рис.2.21).

Таким образом, миксолимнион оз. Шунет в период исследований являлся мономиктическим и подвергался полной циркуляции осенью. Весенней циркуляции не наблюдалось из-за распреснения верхних слоев, вызванного таянием ледового покрова. Динамика вертикальных распределений температуры и солености была качественно аналогичной таковой для оз. Шира (см. п. 2.4).

Редокс-зона (граница между кислород-содержащими И сероводородными слоями воды), определяемая нами по изменению знака редокс-потенциала с положительного на отрицательный, располагалась летом на глубинах 4.8 – 5.2 м. В марте 2003 регистрировалось поднятие границы редокс-зоны до глубины 4.3 м, в марте и октябре 2007 г. – до 4.5 м. Положение редокс-зоны совпадало в большинстве случаев с точкой максимального градиента плотности воды (Рис. 2.21). Однако, редокс-зона никогда не поднималась до нижней границы миксолимниона, опеределяемой как нижняя граница равномерного распределения солености и температуры. Следовательно, глубина расположения редокс-зоны Шунет В 03.

определяется не только перемешиванием миксолимниона, но и балансом окислительно-восстановительных процессов, протекающих в этой зоне. К числу вышеупомянутых процессов могут быть отнесены бактериальный фото- и хемосинтез, а также химическое окисление растворенными в воде окислителями (кислород, железо и пр.).

2.13 Многолетняя динамика вертикальной структуры озера Шунет: натурные данные

Многолетняя динамика вертикальных распределений температуры И кондуктивности озера Шунет была относительно стабильной, заметные межгодовые вариации сезонных динамик температуры и кондуктивности отсутствовали (Рис. 2.22). В отличие от оз.Шира, в монимолимнионе оз.Шунет наблюдалась сезонная периодичность температуры С закономерными минимумами в зимнее время и максимумами в осенний период. тогда как сезонная периодичность кондуктивности В монимолимнионе отсутствовала (Рис.2.22). В монимолимнионе озера Шунет наблюдались отчетливые тренды к снижению кондуктивности и температуры (Рис.2.23 а, б), причины которых достоверно неизвестны. Вероятными причинами могут быть как внутренние процессы перераспределения водных масс между миксолимнионом и монимолимнионом, так и поступление в монимолимнион грунтовых вод с меньшей соленостью и температурой. Измерения уровня поверхности озера Шунет не проводились, поэтому влияние повышенного притока воды в озеро оценить невозможно. В 2003 г. произошло резкое поднятие уровня озера примерно на 0.4-0.5 м, как следовало из визуальной оценки по береговой линии (Рогозин и др., 2012).



Рис. 2.22 – Температура и кондуктивность, корректированная на 25°С (*K*₂₅) в озере Шунет в период 2002-2012 гг. Пунктиром обозначена граница перехода редокс-потенциала с положительного на отрицательный (хемоклин)



Рис. 2.23 – Многолетняя динамика характеристик водной толщи озера
Шунет: а – температура в миксолимнионе на глубине 2 м; б – температура в монимолимнионе на глубине 6 м (прямая линия – линейный тренд); в - кондуктивность в миксолимнионе на глубине 2 м; г – кондуктивность в монимолимнионе на глубине 6 м (прямая линия – линейный тренд)

2.14 Сравнение характера стратификации озер Шира и Шунет

Суммарный теплозапас миксолимнионов обоих озер не претерпел заметных изменений за период наших исследований (2002-2012), и характеризовался выраженной сезонной периодичностью с зимними минимумами и летними максимумами (Рис. 2.24 a, 2.25 a).



Рис. 2.24 – Теплозапас миксолимниона (а) и монимолимниона (б) оз.Шира

Теплозапас монимолимниона в оз.Шира не демонстрировал сезонной периодичности, но в межгодовом масштабе наблюдался заметный максимум около 2007 г, и заметный минимум в 2010 г (Рис. 2.24 б). В отличие от оз. Шира, теплозапас в монимолимнионе оз.Шунет демонстрировал сезонные колебания, снижаясь в зимнее время и повышаясь в летнее (Рис. 2.25).



Рис. 2.25 – Теплозапас миксолимниона (**a**) и монимолимниона (**б**) оз.Шунет (прямая линия – линейный тренд)

На фоне сезонных колебаний видна отчетливая многолетняя тенденция к снижению (Рис. 2.25 б). Очевидно, что в более мелководном озере Шунет температура окружающего воздуха сильнее влияет на температуру воды, что и приводит к сезонным колебаниям температуры и суммарного теплозапаса монимолимниона, хотя и со значительно меньшей амплитудой, чем в миксолимнионе. Вероятно, помимо прямого теплообмена с атмосферой есть еще и другие факторы, в частности, связанные с переносом водных масс, который в обоих озерах происходит по-разному. Таким образом, причины многолетних тенденций, наблюдаемых в глубинных слоях обоих озер, остаются невыясненными.

Потенциальная энергия стратификации (стабильность по Шмидту) в озере Шунет демонстрировала тренд к снижению (Рис. 2.26), тогда как в оз.Шира данный тренд не очевиден (Рис. 2.6).



– линейный тренд)

2.15 Лимнологическая история и причины меромиктического состояния озер Шира и Шунет

Причины меромиксии озер Шира и Шунет ранее никем подробно не рассматривались, специальных исследований, посвященных этому вопросу, до сих пор не было. Карначук О.В. отмечает, что причиной более высокой минерализации придонных слоев является вымывание из подстилающих дно озера пород ионов неорганических соединений, и, прежде всего, сульфата (Природный комплекс..., 2011). Однако, в этом случае минерализация придонных слоев озера должна быть сравнима с таковой для подземных вод, протекающих в данной местности по гипсовым породам, которая не превышает 3 г л⁻¹ (Природные воды..., 2003). Очевидно, что для достижения л⁻¹ 20 необходимо минерализации порядка Г дополнительное испарения. Однако концентрирование счет при испарительном за концентрировании минерализация должна быть одинаковой как на поверхности, так и в глубине. Таким образом, требуются дополнительные механизмы, приводящие к неравномерному вертикальному распределению растворенных солей.

Причины солености и особенности химического состава различных озер Хакасии, включая Шира и Шунет, достаточно хорошо изучены и описаны (Parnachev et al., 2002; Гусева и др., 2012). Показано, что основной причиной минерализации является испарительное концентрирование солей в бессточных бассейнах (Гусева и др., 2012). Химический состав вод озера Шира соответствует составу пород в его водосборном бассейне. Пресные воды растворяют карбонатные осадки бейской свиты, преобразуясь в слабоминерализованные, содержащие в своем составе анионы HCO⁵, SO²⁺, Cl⁻ и др., и катионы Ca²⁺ и Mg²⁺ (Природные воды..., 2003). Эти воды или непосредственно путем поверхностного стока, или в виде подводных источников, просачивающихся через красноцветные терригенные толщи верхнего девона, поступают в озеро, формируя химический состав воды озера.

Поскольку озеро является терминальным (бессточным), водный баланс в нем поддерживается за счет испарения. Гусевой Н.В. с соавторами было показано, что повышенная соленость воды озера и ионный состав является результатом испарительного концентрирования солей, поступающих в результате выветривания горных пород на окружающей территории (Гусева и др., 2012). Соли постоянно попадают в озеро со слабоминерализованным стоком, и остаются в растворе, в то время как вода постоянно испаряется. Таким образом, можно предполагать, что общее количество растворенных солей в многолетнем и многовековом масштабе непрерывно увеличивается, а следовательно – при постоянном объеме озера в прошлом вода должна была быть менее соленой, вероятно даже пресной. Кроме того, по наличию древних террасс отмечается, что в прошлом в начале Голоцена (около 10 тыс лет назад), уровень озера был значительно выше (Приородные воды,, 2003; Кривошеев, Хасанов, 1990 и др.). Следовательно, концентрирование солей могло происходить также и за счет уменьшения объема озера.

По данным Шуба В.С. (Природные воды..., 2003), минерализация подземных вод, питающих озеро, составляет около 1.43 г дм⁻³. Ежегодное

поступление подземных вод в озеро оценивается в 2.4 млн. м³ в год (Кусковский, Кривошеев, 1989). Следовательно, для того, чтобы внести в озеро имеющееся количество соли, около 6 млн. т. по нашим оценкам, или 9 млн. тонн по данным других авторов (Parnachev, Degermendzhy, 2002), потребовалось бы соответственно 1700 или 2600 лет. Однако, частичная потеря солей может происходить и за счет сдувания соли со льда (Парначев, отчет 1999, 2000). Таким образом, на основе имеющихся данных об изменениях уровня и солености озера, можно предположить, что озера относятся к меромиктическим озерам эктогенного происхождения, согласно общепринятой лимнологической классификации, предложенной Хатчинсоном (Hutchinson, 1957), см. Главу 1, т.е. основной причиной современной меромиксии является подъем уровня воды в озере, имевший место в период 1930-1940-гг. (Рис. 2.28).

Уровень озера существенно менялся на протяжении всего периода наблюдений (Кривошеев, Хасанов, 1990). В конце 1920-х гг наблюдалось резкое снижение уровня озера примерно на 7 м ниже современного (Рис.2.27) (Кривошеев, Хасанов, 1990). Исходя из предположения, что общее количество растворенных солей не менялось, нами была рассчитана динамика средней солености озера в зависимости от изменений его объема. Значение 27 г л⁻¹, теоретически рассчитанное для периода минимального объема озера (1926 г.), хорошо совпадает с измеренным (Рис. 2.27). Совпадение свидетельствует, что во временном масштабе проводимых исследований количество растворенных солей в озере остается постоянным, и изменяется в обратной зависимости от объема озера, что характерно для бессточных озер (Last, Ginn, 2005). Однако, в период до 1910 г. измеренная концентрация солей превышает расчетную, что может свидетельствовать о выпадении части солей в осадок при уменьшении объема озера (Рис.2.27).



Рис. 2.27 – Уровень поверхности и соленость озера Шира, А: (—) высота поверхности озера над уровнем моря по данным гидропоста п.Жемчужный (1936-2007); (●) опубликованные данные за более ранний период (Кривошеев, Хасанов, 1990); Б: (—) средняя соленость, рассчитанная через изменение объема; (▲) опубликованные значения солености (Кривошеев, Хасанов, 1990; Кусковский, Кривошеев, 1989; Kalacheva et al., 2002; Parnachev et al., 2002; Rogozin et al., 2010) (из Rogozin et al., 2010)

Падение уровня озера в 1910-1920-е гг. предположительно обусловлено снижением количества осадков в регионе, где расположено озеро Шира (Кривошеев, Хасанов, 1990), однако достоверные данные о снижении количества осадков в этот период отсутствуют. Инструментальные метеорологические данные имеются только начиная с 1928 г., а регулярные метеорологические наблюдения ведутся с 1936 г. (Гидромет). В целом за вышеуказанный период отсутствует положительная корреляция между годовым количеством осадков и уровнем озера Шира (Рис. 2.28). Отсутствие корреляции может объясняться, во-первых, тем, что в озеро Шира постоянно поступает некоторое количество антропогенных стоков, в результате чего происходит искусственный подъем озера (Кривошеев, Хасанов, 1990). Количество антропогенных стоков оценивались Кривошеевым с соавторами: в начале XX века оно составляло не более 20000 м³ год⁻¹, с 1968 г. после ввода в эксплуатацию насосной станции, оно составило 3000 м³ сут⁻¹ (т.е. около 1 млн. м³ год⁻¹), а в конце 1980-х гг. – более 1.6 млн. м³ год⁻¹ (Кривошеев, Хасанов, 1990). Для сравнения – река Сон привносит в озеро около 13 млн. м³ год⁻¹ (Кусковский, Кривошеев, 1989). В настоящее время величина антропогенного стока в озера нам точно не известна. Во-вторых, при анализе климатических факторов следует рассматривать не просто количество осадков, а разницу между осадками и испарением, чего до сих пор, насколько нам известно, не делалось. Тем не менее, на Рис. 2.28 видно, что в период наиболее быстрого подъема уровня озера (1930-1940 гг) среднегодовое количество осадков демонстрировало наиболее резко возрастающий тренд, свидетельствует В пользу гипотезы ЧТО 0 климатической обусловленности подъема уровня озера (Рис.2.28).

Литературные данные разных авторов по озерам Хакасии и юга Красноярского края подтверждают гипотезу о том, что в конце XIX - начале XX века в данном регионе климат был более засушливым. А именно уровень всех известных бессточных озер в это время был значительно ниже современного, а минерализация – соответственно выше. В Таблице 2.4 приведены литературные сведения о росте уровня воды нескольких озер, в том числе озера Шунет.



Рис. 2.28 Среднегодовой уровень озера Шира (■), среднегодовое количество осадков (♦), среднегодовое количество осадков, усредненное за пять лет (—)

Синхронность роста уровня бессточных водоемов, в том числе и достаточно удаленных друг от друга, свидетельствует, что рост был обусловлен именно климатическими факторами, т.е. увеличением баланса между осадками и испарением в данном регионе.

Рост уровня воды может приводить к возникновению устойчивой стратификации, т.е. меромиксии при условии достаточной глубины. Как было показано для озера Шира в пп. 2.7-2.9, основным механизмом разделения солености по вертикали в годовом цикле является замерзаниетаяние льда, а для возникновения неполного зимнего перемешивания, т.е. устойчивой меромиксии, необходимым условием является увеличение подледного объема воды, что в многолетнем масштабе обеспечивается подъемом уровня озера. Таблица 2.4 – Изменения максимальной глубины и минерализации бессточных озер Хакасии и Юга Красноярского края (Природные воды..., 2003)

	Начало XX века		Конец XX - начало XXI века	
Озеро	Год	Глубина, м (Минерализация, г л ⁻¹)	Год	Глубина, м (Минерализация, г л ⁻¹)
Шира	1926	17 (27)	2013	24 (15-19)**
Шунет	1926	<1(362)	1999	<6 (24.5)
Тус	1927	0.35 (-),	2007	<2 (100)**
		Не замерзало зимои		
Белё	1908	Разделилось на два	Наст.	Единый водоем
Vтичье-1	OK	пересыхало	1997	27(3)
J 111-10C-1	1926	пересыхало	1777	2.7 (3)
Утичье-3	1926	0.25 (83)	1997	6.5 (5.6)
Тагарское*	ок. 1925	<1 (25)	1987	3.2 (-)
Учум*	1926	<6 (35)	1985	7.3 (23.5)

* - из Кривошеев, Хасанов, 1990

** - собственные данные

В 1920-е гг., при глубине 17 м, озеро Шира могло быть голомиктическим и перемешиваться полностью в зимнее время. При резком росте уровня воды, имевшем место в 1930-1940-е гг в озере могло возникнуть постоянное разделение на менее соленый миксолимнион и более соленый монимолимнион. Расчеты с помощью одномерной математической модели показали, что при глубине 17 м и меньше в озере Шира наблюдается полная циркуляция воды, в то время как при большей глубине зимняя циркуляция не достигает дна, т.е. озеро переходит в меромиктический режим (см. п. 2.16).

Уровень озера Шира демонстрирует локальные внутригодовые максимумы в основном в весеннее время, что, очевидно, обусловлено таянием снега. В те годы, когда снеговой покров в зимнее время (2006-2007) гг. и 2009-2010) был минимальным, весенние паводки отсутствовали. Вместе с тем, локальные паводки наблюдаются и в летнее время (Рис. 2.14). Очевидно, что наличие впадающей реки Сон сглаживает сезонность паводков. В отличие от Шира, в аналогичных озерах провинции Саскачеван (Канада) повышения уровня в летний период слабо выражены, т.к. отсутствуют поверхностные притоки, И поэтому дождевые воды поглощаются почвой, а не стекают непосредственно в озера (Hammer, 1994). Соответственно, в этих озерах паводки наблюдались только в весеннее время. Весенние паводки, совместно с таянием льда и распределением более пресных вод по поверхности озера, способствуют поддержанию меромиксии, как это было показано в ходе многолетних наблюдений за канадскими меромиктическими озерами (Hammer, 1994). Очевидно, что в оз. Шира весенние паводки действуют аналогичным образом.

Плотностная стратификация озера Шунет обусловлена в целом теми же факторами, т.е. в первую очередь ростом уровня воды. Более значительная, чем в оз. Шира, разница между минерализацией верхних и нижних слоев (20-100 г л⁻¹), вероятнее всего вызвана тем, что на дне озера Шунет в начале века была корка бузуна (кристаллической соли) (Природные воды..., 2003), которая при росте уровня не успевала полностью растворяться. Растворение бузуна происходило постепенно в течение многих лет. В настоящее время этот процесс не завершен, т.к. остатки бузуна встречаются очагами в донных озера Шунет (Природные воды..., 2003: собственные отложениях наблюдения). Так, Парначев В.П. отмечает, что в 1999 г. при бурении скважин на дне озера Шунет во многих случаях отмечался плотный солевой горизонт (бузун) неустановленной мощности под слоем грязевых залежей мощностью около 0.25 м (Природные воды..., 2003). Нами в июле 2010 г. при отборе донных отложений гравитационной трубкой на аналогичном горизонте отложений были извлечены прозрачные кристаллы соли. При отборе донных отложений, осуществленном нами в марте 2012 г., трубка пробоотборника уперлась в твердый горизонт на глубине около 0.2-0.3 м. Вышеперечисленные факты подтверждают, что бузун присутствует и в настояшее время. Вероятно, его постепенное растворение способно поддерживать высокую соленость в придонных слоях озера. Монотонное увеличение солености в монимолимнионе от хемоклина ко дну также является свидетельством в пользу гипотезы о продолжающемся растворении твердой соли на дне озера Шунет (Рис. 2.21).

Кроме того, при концентрациях свыше 30 г л⁻¹ возможно выпадение в осадок в зимнее время мирабилита (сульфата натрия) из раствора. Этот процесс также наблюдался в озере в начале прошлого века (Природные воды..., 2003) и, возможно, способствовал поддержанию градиента солености в оз. Шунет при его меньшем уровне.

При уровне озера ниже современного меромиксия Шунета могла быть менее устойчивой, о чем свидетельствуют сезонные колебания концентрации сероводорода, зарегистрированные в прошлом. По данным Малахова (1963), концентрация сероводорода в придонных слоях оз. Шунет в зимнее время была 46 мг л⁻¹, в то время как в летнее время возрастала до 511 мг л⁻¹. Глубина озера в тот период составляла 2.8 м (1958 г.) (Малахов и др., 1963). Снижение концентрации сероводорода в зимнее время может

свидетельствовать о перемешивании, захватывающем придонные области озера, т.е. об ослаблении стратификации озера. Таким образом, можно предполагать, что при низком уровне озера, наблюдавшемся в 1958 г., меромиктические свойства проявлялись слабее либо отсутствовали. Напомним, что в настоящее время зимняя и летняя концентрации сероводорода имеют одинаковый порядок (Rogozin et al., 2009).

2.16 Расчеты стратификации озера Шира при различных уровнях поверхности

Математическая модель, описанная выше, была модифицирована Белолипецким с соавторами для расчетов вертикальной структуры озера при различных уровнях воды. Модель учитывает зависимость объема от глубины водоема (Belolipetsky et al., 2009; Белолипецкий и др., 2010, 2012, 2013). В зимний период толщина слоя конвективного перемешивания определялась с учетом объема замерзшей воды. Изменение солености воды в слое конвективного перемешивания на расчетном временном шаге определяется по формуле, учитывающей объем замерзшей воды. Зависимость объема от глубины принималась в виде полинома третьей степени. В летний период предполагается, что увеличение глубины происходит за счет притока пресной воды. В этом случае средняя соленость в озере уменьшается. Увеличение глубины учитывается добавлением сверху слоя пресной воды. В период в случае уменьшения глубины предполагается, что летний уменьшение глубины связано с превышением испарения над притоком и после испарения вся соль остается в озере. В этом случае средняя соленость в озере возрастает.

В первой серии расчетов имитировалось изменение уровня воды в озере в диапазоне 7 м, т.е. изменение максимальной глубины озера от 17 м до 24 м. Данный диапазон охватывает колебания уровня озера за весь период

наблюдений с 1890-х гг по настоящее время. Все расчеты проводились для погодных условий 2005 г., изменение солености воды рассчитывалось исходя из постоянного количества растворенной соли в озере, оцениваемое нами как 6 млн. т. На рис. 2.29 приведены расчетные изолинии солености в центральной части озера Шира. Расчеты показали, что при уменьшении глубины озера до 17 м в период 1910 – 1930 гг. слой конвективного перемешивания, определяемый по равномерному распределению солености, в зимние периоды достигает дна (Белолипецкий и др., 2013), т.е. в этот период времени озеро могло быть не меромиктическим (Рис.2.29).

Во второй серии расчетов имитировались условия потепления климата, в частности – зимы со средними температурами выше нуля и отсутствием ледостава на озере. Очевидным следствием отсутствия льда зимой является отсутствие весеннего распреснения верхних слоев воды, которое является одной из основных причин поддержания градиента солености в данном озере. Расчеты показывают, что после теплой зимы следующей осенью глубина циркуляции увеличивается, т.е. миксолимнион становится более Таким глубоким (Рис.2.30). образом, В результате теплой ЗИМЫ меромиктические свойства озера ослабляются, а после нескольких теплых зим меромиксия может исчезнуть полностью.

В третьей серии расчетов имитировалась динамика циркуляции воды в центральной части озера Шира для гипотетического сценария отсутствия ледового покрова в течение пяти лет. Расчетная динамика вертикального распределения солености в озере Шира демонстрирует постепенное увеличение глубины осеннего перемешивания и тенденцию к исчезновению стратификации озера (Рис. 2.31). Тем самым показано существенное влияние ежегодного формирования ледового покрова на поддержание стратификации озера.



Рис.2.29 – Расчетная сезонная динамика профилей солености в центральной части озера Шира при различных уровнях озера (=максимальных глубинах) и постоянном количестве соли 6 млн. тонн



Рис.2.30 – Расчетная динамика профилей солености в центральной части озера Шира в условиях отсутствия льда в одну их зим



Рис. 2.31 – Расчетная динамика профилей солености в центральной части озера Шира в условиях отсутствия льда в течении 5 зим

2.17 Мировые аналоги меромиктических озер Хакасии

Как показано выше в настоящей Главе, основным фактором, определяющим неравномерное по вертикали распределение минерализации в исследуемых озерах Хакасии, является ежегодное образование толстого ледового покрова и его таяние. В связи с этим представляет интерес поиск существующих аналогов среди озер мира. Очевидно, что толстый ледовый покров формируется на всех озерах, расположенных на широтах, близких или более высоких, чем широта исследуемой нами части Сибири, а в горных областях – и значительно южнее. Однако вторым необходимым условием для возникновения постоянного градиента плотности является повышенная минерализация воды, т.е. озеро должно быть соленым. На указанных нами широтах соленые озера достаточно редки, поскольку они образуются только в аридном климате, как результат испарительного концентрирования солей в бессточных бассейнах. Климат же большинства регионов на данных широтах не является аридным, поэтому большинство озер являются проточными, следовательно – пресными. Таким образом, на Земле не много территорий с резко-континентальным аридным типом климата, аналогичных Северо-Минусинской котловине (Хакасия). Нами был проведен поиск регионов, аналогичных степям Хакасии по температурному режиму и балансу осадков и испарения. Были заданы следующие условия, близкие к таковым для Хакасии: среднемесячная температура января -20.5°; среднемесячная температура июля +16.5°; количество осадков, выпавших за год, составляет 200 мм; годовая величина испаряемости в год составляет 653 мм; разность количества выпавших осадков и испаряемости составляет - 453 мм.



Рис. 2.32 – Синтезированное RGB-изображение глобальной климатической карты мира. (R - среднемесячная температура января, G - среднемесячная температура июля, B - разность количества выпавших осадков и испаряемости). Пространственное разрешение 0.5 градуса. Красным контуром выделены участки со среднемесячной температурой января от - 21.5° до -19.5°, среднемесячной температурой июля от +15.5° до +17.5°, разностью между количеством выпавших осадков и испаряемостью от - 000 – 250

900 мм до -250 мм

Ha Рис. 2.32 видно, что искомые климатические условия сконцентрированы в основном в двух местах – это центр Евразийского материка, куда относится и Хакасия, и внутренние области Канады. обусловлена Очевидно, схожесть климата одинаковым широтным расположением, удаленностью от морей, сходством рельефа. Здесь, в северной части Великих равнин Северной Америки (провинции Саскачеван и Манитоба, Канада), на обширных степных территориях существует огромное количество соленых озер (Last, Ginn, 2005), среди которых описаны несколько меромиктических, по происхождению, химическому составу солей и экологии фототрофных серных бактерий являющихся аналогами озер Шира и Шунет. К числу наиболее изученных относятся озера Дэдмус (Deadmoose), глубиной 48 м, и Вальдси (Waldsea), глубиной 14 м, а также ряд более мелких озер (Parker et al., 1983; Hammer, 1994). В этих водоемах доминирующими ионами являются SO_4^{2-} и Na^+ , pH 8 – 9, и толщина льда около одного метра, т.е. аналогично таковым в озерах Шира и Шунет. Как исследования стратификации показали многолетние вышеуказанных водоемах имеет каналских озер, меромиксия В ЭТИХ эктогенное происхождение, обусловленное поднятием уровня за счет поверхностного притока пресной воды. Так, в оз. Вальдси уровень поднялся на четыре метра в период с 1960-х до 1980-х гг. в результате повышенного выпадения снега в зимнее время, что привело к существенному снижению солености в поверхностных слоях И возникновению меромиксии в 1970-е $\Gamma\Gamma$ Аналогичным образом возникла меромиксия в оз. Дэдмус (Hammer, 1994). (Hammer) классифицирует меромиксию этих Хэммер водоемов как эктогенную І-го типа, согласно общепринятой классификации Хатчинсона (Hutchinson, 1937), т.е. как результат поступления пресных вод на Дополнительными поверхность соленого водоема. факторами, усиливающими меромиксию В рассматриваемых озерах, являются эндогенные процессы: 1) вытеснение соли из верхнего слоя воды в процессе замерзания льда; 2) выпадение в осадок в зимнее время сульфата натрия (мирабилита) и его растворение в глубинных слоях (Hammer, 1994). Последний процесс наблюдается при минерализации более 30 г л⁻¹, и в настоящее время в озерах Шира и Шунет невозможен, однако имел место в оз. Шунет в конце XIX - начале XX столетий (Природные воды..., 2003), при более низком уровне озера.

Таким образом, вышеописанные канадские меромиктические озера являются аналогами озер Шира и Шунет по своему происхождению и механизмам формирования постоянной стратификации, что обусловлено в первую очередь их расположением в климатически и географически сходных регионах.

Как уже упоминалось в п. 2.8, механизм усиления меромиксии в результате подъема уровня озера был выявлен и при исследованиях меромиктических озер восточного побережья Антарктиды, и заключался он в уменьшении глубины термогалинного конвективного слоя в зимнее время (Gibson, 1999). При снижении уровня озера глубина конвективного слоя увеличивалась, что приводило к ослаблению стратификации и повышению вероятности перемешивания всей водной толщи (Gibson, 1999). Хотя происхождение вышеупомянутых озер принципиально другое – в них соленость обусловлена наличием морской воды, оставшейся в локальных понижениях рельефа при подъеме поверхности суши над уровнем моря после схода ледника (Gibson, 1999) - тем не менее, механизм усиления и ослабления меромиксии полностью аналогичен выявленному нами для озера Шира (см. пп. 2.6 – 2.8).

2.18 Основные результаты и выводы Главы 2

- На основе систематических ежесезонных наблюдений показано, что в период 2002-2013 гг озера Шира и Шунет являлись меромиктическими водоемами. Закономерности стратификации и меромиктический характер озера Шунет выявлены впервые.
- 2. На основе анализа сезонной динамики вертикальных распределений и математического моделирования показано, что в настоящее время основной причиной формирования неравномерного вертикального распределения солености в озерах Шира и Шунет являются процессы формирования и последующего таяния льда.
- 3. Выявлено, что сочетание двух процессов намерзания-таяния льда и постепенного подъема уровня, является основным механизмом

происхождения и поддержания меромиксии в озерах Шира и Шунет. Следовательно, по классификации Хатчинсона озера относятся к эктогенному I-типу меромиктических озер.

- 4. В озере Шунет повышенная соленость придонных вод дополнительно поддерживается за счет постепенного растворения корки кристаллических солей (бузуна), выпавших в осадок в прошлом, при меньшем уровне озера.
- 5. Ha основе анализа многолетних натурных И данных математического моделирования показано, ЧТО межгодовые изменения уровня озера Шира и толщины льда влияют на стабильность зимней стратификации озера. Сформулировано определяющее направление изменений зимней правило, стратификации озера Шира в зависимости от изменений уровня озера и толщины льда.
- 6. С помощью одномерной математической модели показано, что на вертикальные распределения температуры и солености в озере Шира влияют метеорологические факторы и стартовые распределения в весенний период.
- 7. С помощью одномерной математической модели показано, что при снижении уровня озера Шира на 7 м ниже современного, термогалинная конвекция в подледный период достигает дна озера, т.е. озеро переходит в голомиктический режим.
- 8. На основе анализа климатических характеристик и литературных данных выявлено, что озера Шира и Шунет по механизмам возникновения и поддержания стратификации являются аналогами соленых меромиктических озер северной части Великих равнин Северной Америки (Канада). Сходство обусловлено резкоконтинентальным аридным и полу-аридным климатом обоих регионов.

2.19 Заключение к Главе 2

Несмотря на многочисленные опубликованные результаты исследований озер Шира и Шунет, до сих пор не было работы, в которой исследовались бы причины и закономерности вертикальной структуры этих водоемов. Более того, не было и детального описания многолетней сезонной динамики этой структуры. В настоящей работе впервые на основе систематических наблюдений дано описание динамики вертикальных распределений водных масс озер Шира и Шунет, и выявлены причины этих распределений, В том числе с помощью математической модели. данной работы заключается в том, что Актуальность вертикальная стратификация является одним из важнейших факторов, определяющих условия обитания живых организмов, а следовательно – и всю экосистему озера. Из анализа натурных данных с привлечением Таблицы 2.3 очевидно, что В исследуемых соленых озерах фактором, нами основными повышающими стабильность водной толщи с сезонном цикле являются 1) появление распресненного слоя в результате таяния льда и снега 2) нагрев воды через поверхность; а факторами, ослабляющими стабильность – 1) ветровое перемешивание, 2) конвективное перемешивание при остывании через поверхность, 3) термогалинная конвекция при формировании льда. Меромиктический характер озера Шира впервые был отмечен Зотиной с соавторами, В общих чертах описана ИМИ же сезонная динамика стратификации в 1997-1998 гг (Zotina et al., 1999), которая была аналогична описанной нами выше (п. 2.4). В цитируемой работе в подледный период измерения проводились только в марте 1998г (Заворуев, Зотина, 2002). Нами в настоящей работе показано, что режим перемешивания озера в период 2001-2013 гг. меромиктическим. Кроме того, оставался на основе многолетних систематических наблюдений впервые получены сведения о глубине значительных межгодовых различиях В перемешивания миксолимниона, и выявлено, что на глубину зимнего миксолимниона оказывает влияние толщина льда и динамика уровня озера.

Для озера Шунет летняя вертикальная стратификация впервые нами в работе Дегерменджи с соавторами обнаружена и описана (Дегерменджи и др., 2003). Нами же, на основе сезонных измерений доказан меромиктический характер озера Шунет (Саввичев и др., 2005; Рогозин и др., 2012). Причины меромиксии озера Шира, и тем более озера Шунет ранее другими авторами подробно не рассматривались. В данной Главе впервые дана характеристика происхождения меромиксии в обоих озерах, И определен ее тип согласно общепринятой лимнологической классификации Хатчинсона. Понимание постоянной механизма возникновения стратификации необходимым является условием ДЛЯ прогноза как возможных переходов в будущем, так и для реконструкции прошлых состояний озера по его донным отложениям. В случае с исследуемыми озерами показано, что переходы голомиктического нами ИЗ В меромиктическое состояния и обратно могут быть вызваны изменениями уровня озер. В свою очередь, уровень бессточных озер является функцией баланса осадков и испарения, т.е. изменения уровня являются климатическиобусловленными. В донных отложениях глубоких озер сохраняются свидетельства меромиктических периодов в виде останков фототрофных бактерий (каротиноидов, ДНК) (Levitt, 1993). серных Некоторые геохимические свойства, как повышенное содержание органики (Hakanson, Jansson, 1983), повышенное содержание молибдена, пониженное содержание марганца (Wirth et al., 2013), выраженная слоистая структура и пр., также могут служить индикаторами меромиктических состояний. Следовательно, по донным отложениям озер Шира и Шунет возможна реконструкция истории стратификации озера. Результаты данной главы дают основание для постановки задачи реконструкции режимов перемешивания меромиктических озер Хакасии в зависимости от их уровня.
ГЛАВА 3. МИКРОСТРАТИФИКАЦИЯ ФОТОТРОФНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В ОЗЕРАХ ШИРА И ШУНЕТ

3.1 Введение

В Главе 2 было показано, что озера Шира и Шунет являются меромиктическими водоемами. В меромиктических водоемах на границе раздела аэробной и анаэробной зон, в так называемой редокс-зоне, формируются особые условия существования планктонных организмов. Резкие градиенты физико-химических свойств воды способствуют формированию различных экологических ниш, сменяющих друг друга на расстояниях порядка сантиметров (Tonolla et al., 2003; Degermendzhi et al., 2010). В данной зоне могут формироваться плотные скопления фототрофных микроорганизмов, фотосинтетическая продукция которых в ряде случаев вносит существенный вклад в круговорот углерода и биогенных элементов в данном водоеме (Горленко и др., 1977; Overmann et al., 1997). Для организмов, населяющих данную 30HV, исследования И процессов, протекающих в ней, необходим отбор проб с разрешением по глубине нескольких сантиметров. В настоящей главе порядка представлены результаты анализа состава микробных популяций в зонах хемоклина озер Шира И Шунет, полученные с применением высокоразрешающего пробоотбора.

3.2 Материалы и методы

3.2.1 Выделение и культивирование фототрофных серных бактерий.

Для культивирования фототрофных серобактерий использовали несколько вариантов питательных сред:

Среда А (Лунина и др., 2007а,б) (г л⁻¹): КН₂PO₄ – 0.5; NaCl – 5.3;

MgSO₄·7H₂O – 0.5; NH₄Cl – 0.7; KCl – 0.33; Na₂SO₄ – 21; MgCl₂·7H₂O – 4.3; NaHCO₃ – 1; CaCl₂·6H₂O – 0.1; Na₂S·9H₂O – 0.5; Na₂S₂O₃·5H₂O – 1, Naацетат· 3H₂O – 0.5; Na-пируват – 0.5; дрожжевой экстракт – 0.1; витамин B₁₂ – 20 мкг π^{-1} ; раствор микроэлементов – 1 мл (Pfennig, 1965), pH=7.

Среда Б (Саввичев и др., 2005) (г π^{-1}): KH₂PO₄ – 0.7; NaCl – 20; MgSO₄·7H₂O – 0.5; NH₄Cl – 0.7; KCl – 0.33; Na₂SO₄ – 21; MgCl₂·7H₂O – 4.3; NaHCO₃ – 1.5; CaCl₂ – 0.1; Na₂S·9H₂O – 0.5; Na₂S₂O₃·5H₂O – 1, Na-aцетат – 0.5; Na-пируват – 0.5; дрожжевой экстракт – 0.1; витамин B₁₂ – 20 мкг π^{-1} ; раствор микроэлементов – 1 мл (Pfennig, 1965), pH среды составлял для пурпурных серных бактерий 7.5, для зеленых серобактерий – 6.8.

Среда «Шира синтетическая», имитирующая ионный состав озера Шира (Рогозин и др., 2010а) (г л⁻¹): MgSO₄·7H₂O – 11.7; NaCl – 2.24; Na₂SO₄ – 7.43; MgCl₂ – 0.22; CaCl₂ – 0.2; KH₂PO₄ – 0.16; NaHCO₃ – 0.67; NH₄Cl – 0.76; Na₂S·9H₂O – 0.099; витамин B₁₂ – 20 мкг; раствор микроэлементов SL12 (Pfennig, Truper, 1989) – 1 мл. рН составил 8.2 для пурпурных серных бактерий, и 7.3 для зеленых серных бактерий. Количества солей в данной среде рассчитывались из следующей системы линейных уравнений:

$$\begin{cases} [I_1] = \sum_{j} K_{1j}[A_j] \\ \\ [I_i] = \sum_{j} K_{ij}[A_j] \end{cases}$$
(3.1)

где $[I_i]$ – измеренные концентрации ионов в воде оз.Шира (Таб.31.), $[A_i]$ – состав концентрации солей, входящих среды «Шира искомые В синтетическая», K_{ii} – массовые доли i – го иона в молекуле j-й соли. Система решалась численно методом Гаусса или Крамера (MATLAB), однако в решении этой системы некоторые концентрации солей были отрицательными. Для нахождения положительных решений требуемые концентрации ионов в левой части системы (3.1) незначительно варьировали.

Таблица 3.1 – Ионный состав воды оз. Шира и среды «Шира синтетическая» (Зыков, 2012)

Ион	Концентрация в озере	Концентрация в среде				
	Шира, г л ⁻¹	«Шира синтетическая»,				
	(Parnchev,	гл ⁻¹				
Degermendzhy, 2002)						
SO_4^{2-}	10	9.6				
Cl	2.2	2.16				
HCO ₃ ⁻	0.7	0.49				
Na ⁺	3	3.56				
Mg^{2+}	1	1.2				
K^+	0.04	0.04				
Ca ²⁺	0.06	0.06				

Для получения накопительных культур пурпурных серных бактерий пробы озерной воды инкубировали в герметичных прозрачных пластиковых емкостях с подпиткой 1% раствором Na₂S·9H₂O с помощью шприца при круглосуточном освещении 300 Люкс (Рогозин и др., 2010а), либо пробы озерной воды высевали в герметично закрытые стеклянные пенициллиновые флаконы со средой А (Лунина и др., 2007а).

Для получения чистой культуры пурпурных серных бактерий использовали накопительную культуру из воды озера Шира, взятой стандартным батометром в июле 2000 г. из анаэробной зоны с глубины 13 м. Выделение, очистка культуры ПСБ и дальнейшее культивирование осуществлялись методом посева серии разведений материала ИЗ

накопительной культуры на агаровую среду (0.5%) в герметично закрытых пробирках по Пфеннигу (Pfennig, Truper, 1989).

3.2.2 Анализ ДНК водных микроорганизмов

Определение нуклеотидной последовательности 16sPHK чистой культуры. Геномную ДНК из колонии пурпурных серных бактерий, выращенной на агаровой среде (см. п. 3.2.1), выделяли с использованием лизиса клеток хаотропным реагентом с последующей сорбцией ДНК на стеклянном сорбенте (Vogelstein, Gillespie, 1979). Для этого бактериальную колонию ресуспендировали в 100 мкл STE буфера (10 мМ *mpuc*-HCl, pH 7.6, 100 мМ NaCl, 2 мМ ЭДТА), добавляли 300 мкл лизирующего раствора (5 М гуанидин изотиоцианат, 20 мМ ЭДТА, рН 8.0, 0.1 М β-меркаптоэтанол), 10 мкл 50% водной суспензии SiO₂ (Sigma, CША), тщательно перемешивали и инкубировали 15 мин при комнатной температуре с периодическим перемешиванием. Пробы центрифугировали на микроцентрифуге 1 мин при 5000 об/мин, надосадочную жидкость отбирали водоструйным насосом, осадок однократно промывали раствором (5 М гуанидин изотиоцианат, 100 мМ ЭДТА, рН 8.0) - ресуспендировали в 150 мкл раствора, вновь центрифугировали и тщательно удаляли супернатант. Затем осадок трижды промывали от лизирующего раствора 700 мкл STE/EtOH буфера (10 мМ *трис*-HC1, pH 7.0, 1 мМ ЭДТА, 100 мМ NaCl, 75% этанол), подсушивали водоструйным насосом. В пробирки добавляли 50 мкл стерильного ТЕ буфера, ресуспендировали сорбент и элюировали ДНК 5 минутным прогреванием при 55°С. Пробы центрифугировали 2 мин при 14000 об/мин, водную фазу переносили в чистые пробирки, не захватывая осадок сорбента. Качество и количество выделенной высокомолекулярной ДНК проверяли горизонтальным электрофорезом в 1% агарозном геле в однократном ТАЕ буфере (40 мМ *трис*-ацетат, рН 8.0, 1 мМ ЭДТА). В качестве маркера молекулярного веса использовали ДНК фага λ, обработанную рестриктазой

Pst I (СибЭнзим, Новосибирск). Полученные препараты ДНК имели концентрацию 5-10 нг мкл⁻¹.

Гены 16S рРНК амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с «универсальными» бактериальными праймерами: прямой 8F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') и обратный 1492R (5'-GRT TAC СТТ GTT ACG ACT Т-3') (Lane, 1991). Смесь для ПЦР (20 мкл) содержала: однократный реакционный буфер (75 мМ *трис*-HCl (pH 8.8 при 25°C), 20 мМ сульфат 0.1% Tween), 0.05 мΜ аммония, смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов, 1.5 мМ хлорид магния, 10 пикомолей каждого праймера, 2 U Taq ДНК полимеразы (Fermentas, Литва) и 100 нг Температурно-временной геномной ДНК. режим реакции включал начальную денатурацию при 95°С×3 мин; 30 циклов при 94°С×1 мин, отжиг праймеров при 55°C×1 мин; удлинение цепи при 72°С×1.5 МИН. 72°C 10 Окончательную полимеризацию проводили при МИН. Отрицательным контролем служила проба с равным объемом стерильной деионизованной воды. Размер, количество и чистоту ПЦР-продуктов проверяли электрофорезом в агарозном геле. ПЦР продукты клонировали в *E. coli* методом АТ-клонирования, используя вектор pBluescript (Stratagene, США). Отбор клонов, содержащих вставку, для секвенирования И филогенетического анализа проводили методом «бело-голубого» скрининга. Для анализа размера вставок проводили ПЦР, используя в качестве матрицы суспензию клеток и праймеры, комплементарные участкам плазмиды в районе вставки (M13 прямой И обратный). Нуклеотидную последовательность вставок нужного размера определяли с использованием дидезоксинуклеотидтрифосфатов флуоресцентно меченных на автоматическом секвенаторе ALFexpress II (Amersham Pharmacia Biotech, США) Центра коллективного пользования приборами НОЦ «Енисей» (КрасГУ, Красноярск). Реакцию секвенирования проводили с 750 нг амплифицированной ДНК и с 10 пикомолями праймеров М13, а также внутренних «универсальных» бактериальных праймеров 514F (5'-CG TGC

CAG CAG CCG CGG TAA-3') и 988R (5'-CCT GGT AAG GTT CTT CGC GTT GC-3'), с использованием набора Thermo Sequenase Cy5 Dye Terminator Kit (Amersham Pharmacia Biotech, США) по протоколу, рекомендованному производителем. Нуклеотидную последовательность гена 16S рРНК сравнивали с последовательностями баз данных Интернета GenBank и EMBL с помощью программы FASTA (http://www.ebi.ac.uk/fasta33/nucleotide.html). Для сравнительного анализа полученные нуклеотидные последовательности были выровнены с последовательностями генов 16S рРНК из баз данных с программы ClustalW (http://www.ebi.ac.uk/clustalw/index.html). помошью Построение филогенетического дерева, основанного на сравнении генов 168 рРНК, производили с помощью neighbor-joining метода, реализованного в пакете программ TREECON.

Выделение суммарной ДНК из водных образцов. Образцы для ДНКанализа отбирались в стерильные склянки и фиксировались стерильным формалином до конечной концентрации 4 %. Геномную ДНК из бактериальных сообществ хемоклина выделяли по методу, описанному в работе Бострома с соавторами (Bostrom et al., 2004).

ПЦР-амплификация. Фрагменты гена 16S рРНК длиной 586 п.н. амплифицировали из суммарной ДНК бактериопланктона с помощью ПЦР с универсальными праймерами GC341F и 907R (Overmann et al., 1999). Для контроля контаминации ставили отрицательную контрольную реакцию, в которую в качестве матрицы добавляли стерильную воду. Анализ продуктов ПЦР проводили при помощи электрофореза в 1.2% агарозном геле. ПЦРпродукты подвергали экстракции хлороформом, переосаждали и использовали 800 нг полученной ДНК для анализа методом ДГГЭ.

Проведение денатурирующего градиентного гель-электрофореза. ДГГЭ выполняли на приборе DCode Universal Mutation Detection System (BioRad, США) В 6% полиакриламидном геле с градиентом денатурирующего фактора от 30% (40%) до 70% (100% денатурирующий фактор представляет собой смесь 7M раствора мочевины 40% И

деионизованного формамида). Электрофорез вели при 60°С в однократном ТАЕ буфере при напряжении 100В в течение 17 часов. По окончании электрофореза гель окрашивали бромистым этидием и получали цифровые изображения в УФ (302 нм) свете на приборе AlphaImager (Alpha Innotech Corp., США). Полосы ДНК вырезали из геля, после чего проводили элюцию и реамплификацию ДНК.

Секвенирование И ДНК. Определение нуклеотидной анализ последовательности ДГГЭ-фрагментов осуществлялось ЦКП В ЛНК» «Секвенирование CO PAH (г. Новосибирск, http://sequest.niboch.nsc.ru). Для выравнивания нуклеотидных последовательностей генов 16S рДНК использовали программу ClustalX (Larkin et al., 2007). Построение бескорневого филогенетического древа производили с помощью алгоритмов, реализованных в программе TREECON (Van de Peer, De Wachter, 1997). Статистическую достоверность ветвления оценивали с помощью "bootstrap"-анализа 100 альтернативных деревьев.

Все работы по выделению и анализу ДНК осуществлялись с участием сотрудника Института биофизики СО РАН к.б.н Трусовой М.Ю.

Определение жирнокислотного состава клеток. Липиды из сырой биомассы выделяли по методу Фолча смесью хлороформа и метанола (2:1 по объему) (Кейтс, 1975; Kates, 1972). В полученном экстракте ПГА отделяли от липидов осаждением двойным объемом гексана. Экстракт липидов высушивали на роторном испарителе и в дальнейшем подвергали метанолизу для получения метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК). Обезжиренную биомассу омыляли 1 N раствором КОН в 95% этаноле при нагревании на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 часа. Затем добавляли двойной объем воды, подкисляли, экстрагировали жирные кислоты гексаном и переводили их в МЭЖК (Kates, 1972). Таким образом, были получены жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов цитоплазматической мембраны и ЛПС клеточной стенки. Метанолиз жирных кислот проводили в смеси метанола и серной кислоты (50:1 по объему) при температуре 90⁰С в течение двух часов (Kalacheva et al., 2002). Метиловые эфиры жирных кислот анализировали на хромато-масс-спектрометре GCD Plus ("Hewlett Packard", США). Условия хроматографирования: газ-носитель - гелий, скорость - 1 мл/мин; температура ввода пробы - 220°С; начальная температура хроматографирования - 120°C, подъем температуры до 230°C со скоростью 5°С в минуту; колонка капиллярная HP-5M, длина 30 м, диаметр - 0.25 мм; температура трансферной линии 250°С, источника ионов - 165°С, режим электронного удара при 70 eV, режим сканирования фрагментов от 45 до 450 m/z при 0.5 с/сек. Идентификацию жирных кислот проводили сравнением их времен удерживания и масс-спектров с таковыми имеющимися стандартами; использовали насыщенные, моноеновые, диеновые, триеновые, тетра- и пентаеновые кислоты с длиной цепи от 10 до 20, а также βгидроксикислоты ("Serva" Германия и "Sigma" США). Для идентификации ненасышенных кислот проводили сравнение ионных хроматограмм исходных МЭЖК и гидрированных образцов. Положение двойных связей моноеновых кислот определяли после получения диметилдисульфидных (ДМДС) производных соответствующих МЭЖК (Christie, 1989). Наличие в цепи ЖК пропанового кольца идентифицировали после бромирования гидрированных образцов (Christie, 1989; Kates, 1972). Работы по анализу жирнокислотного состава осуществлялись с участием сотрудника Института биофизики СО РАН д.б.н. Калачевой Г.С.

3.2.3 Численности микроорганизмов

Для подсчета численностей бактерий образцы воды фиксировались формалином до конечной концентрации 4%, для подсчета фитофлагеллят глутаровым альдегидом до конечной концентрации 1%. Подсчет фототрофных аноксигенных бактерий и оценка общей численности бактерий производились на черных поликарбонатных мембранных фильтрах с диаметром пор 0.2 мкм (Whatman). Перед фильтрацией микроорганизмы окрашивались DAPI следующим флуорохромом образом: к 1 ΜЛ приготовленного для фильтрации образца добавляли 20 мкл раствора DAPI с концентрацией 100 нг мкл⁻¹ и выдерживали в темноте не менее 5 минут. затем фильтровали, и участок фильтра просматривали под микроскопом (Зыков, 2012). Подсчет зеленых серных бактерий (ЗСБ) производился на таких же фильтрах, на микроскопе МБИ-11 (ЛОМО, Россия) в отраженном свете в светлом поле, при увеличении в 1045 раз, при этом клетки ЗСБ выглядели голубовато-зелеными или желто-зелеными (Кузнецов, Дубинина, 1989) (Рогозин и др., 2010а).

Подсчет ПСБ и общего количества бактерий в свете флуоресценции DAPI производился на микроскопе Zeiss Axioskop 40 при увеличении 1000 paз с набором светофильтров № 02 (Zeiss, Германия): возбуждение на 365 нм, светоделительная пластина на 395 нм, флуоресценция на 420 нм. Клетки ПСБ распознавались по характерной форме, размеру и характеру агрегирования (Pfennig, Truper, 1992). При микроскопировании в качестве образца для сравнения морфологических свойств использовали чистую культуру штамма ПСБ *Thiocapsa sp.* Shira_1 (AJ633676 в EMBL/GenBank), выделенную из озера Шира как описано в п. 3.2.1 (Рогозин и др., 2010а).

Препараты, окрашенные DAPI, просматривались также в свете оранжевой флуоресценции на наборе светофильтров № 15 (Carl Zeiss, возбуждение 546 нм, светоделительная пластина 580 нм, флуоресценция свыше 590 нм, Германия). Незафиксированные клетки ПСБ не флуоресцировали в указанном диапазоне, а фиксированные формалином – светились слабее, чем клетки цианобактерий (Рогозин и др., 2010а). Во всех образцах подсчитывалось не менее 200 клеток.

Пикопланктонные цианобактерии, предположительно относящиеся к роду *Sinechococcus*, распознавались по характерному размеру, форме (Определитель бактерий Берджи..., 1997) и яркой оранжевой аутофлуоресценции (Рогозин и др., 2010а).

153

Фитофлагелляты подсчитывались в камере Фукс-Розенталя. Для подсчета использовались световой микроскоп МБИ-11 и флуоресцентный микроскоп Zeiss Axioskop 40 (Рогозин и др., 2010а). Идентификация видов проводилась в фиксированных и живых пробах согласно Киселеву (Киселев, 1954).

Значения численностей приведены как среднее арифметическое плюсминус стандартная ошибка для доверительной вероятности 0.95. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2003 для Windows XP.

3.2.4 Анализ хлорофилла а и бактериохлорофиллов

Непосредственно после отбора, пробы воды объемом от нескольких мл до десятков мл, в зависимости от количества взвеси, фильтровали под вакуумом через капроновые мембранные или нитроцеллулозные фильтры с диаметром пор 0.2 мкм (БИОХРОМ, Владипор, Россия), на которые предварительно наносили слой ВаСО₃ толщиной около 1 мм. После сушки в темноте при комнатной температуре в течение 6-8 часов отфильтрованный материал вместе с ВаСО₃ помещали в пенициллинку и хранили до экстракции в морозильной камере при – 20⁰С (Зыков, 2012). Экстракцию проводили в 5 мл 90 %- го ацетона в течение 24 часов при температуре 4⁰C (Montesinos et al., 1983). После этого экстракты центрифугировали при 10000 об мин⁻¹ в течение 10 минут и супернатант использовали для получения в диапазоне 350 – 900 нм на двухлучевом спектров поглощения спектрофотометре «UVIKON-943» (Kontron Instruments, Италия). Бактериохлорофиллы *а* и *d* идентифицировали ПО наличию ПИКОВ поглощения на 772 и 654 нм, соответственно (Jeffrey, Hamfrey, 1975). Хлорофилл *а* идентифицировали по пику поглощения на 663 нм (Jeffrey, Hamfrey, 1975).

Расчеты концентраций пигментов (хлорофилла и бактериохлорофиллов) в воде проводили по формуле:

 $C_{\text{пигм}}$ (гл⁻¹)= D_{λ} ·v·(V·K^{пигм}_{λ}·L)⁻¹,

где D_{λ} – оптическая плотность экстракта на длине волны λ , v – объем экстракта (л), V – объем первоначально профильтрованной воды (л), $K^{\Pi \mu \Gamma M}{}_{\lambda}$ – коэффициент экстинкции для соответствующего пигмента в пике поглощения на длине волны λ (л г⁻¹см⁻¹), L – толщина кюветы (см). Все величины оптической плотности корректировались с учетом светорассеяния на 850 нм.

Расчеты концентраций пигментов проводили на основе следующих значений коэффициентов экстинкции:

При одновременном присутствии близких по величине концентраций Хл а и Бхл d пик поглощения обнаруживался между 663 нм и 654 нм. В этом случае точное определение концентраций обоих пигментов было невозможным, и концентрации рассчитывались из системы линейных уравнений (3.2) по методу, описанному в работе (Jeffrey, Hamfrey, 1975). Коэффициент экстинкции Хл а на 654 нм оценивался из спектра поглощения экстракта зеленой водоросли Chlorella vulgaris, и составил 56 л г⁻¹ см⁻¹. Коэффициент экстинкции Бхл d на 663 нм оценивался из спектра поглощения накопительной культуры зеленых серных бактерий оз. Шунет, полученной нами, и составил 62.7 л г⁻¹ см⁻¹. На основании этих коэффициентов поглощения были получены следующие формулы для расчета концентраций в смеси Хл *а* и Бхл *d* (мг л⁻¹) (Зыков, 2012):

$$\begin{cases} Exn \cdot d = -11.01D_{663} + 17.25D_{654} \\ Xn \cdot a = 19.28D_{663} - 12.33D_{654} \end{cases}$$
(3.3)

Где D_{663, 654} – оптические плотности экстракта при длинах волн 663 и 654 нм, соответственно, за вычетом оптической плотности при 850 нм для коррекции светорассеяния.

Суммарные количества клеток бактерий и пигментов под кв м. оценивали численным интегрированием методом трапеций с интервалами, равными интервалам отбора проб по глубине. Погрешность суммарного количества клеток оценивали, исходя из стандартных ошибок, вычисленных на каждом горизонте.

3.2.5 Флуоресцентная *in-situ* гибридизация (FISH)

Подготовку проб проводили согласно методике, описанной в работе Тоноллы с соавторами (Tonolla et al., 2003). Пробу воды объемом 5 ml фильтровали через поликарбонатные фильтры Nucleopore (Whatman) с диаметром пор 0.2 мкм. Далее фильтры с осевшими на них бактериями выдерживали 30 минут в растворе 4% формалина в фосфатном буфере (0.13 M NaCl, 7mM Na₂ HPO₄ и 3mM Na H₂PO₄; pH=7.2) для первоначальной фиксации и промывали фосфатным буфером для удаления формалина. Фильтр прополаскивали в 1 мл 50% этанола в фосфатном буфере, суспензию помещали в стерильную пробирку объемом 1мл (Eppendorf) и хранили при – 20° С до анализа.

Для окрашивания использовали Су3-олигонуклеотидные зонды (Синтол, Москва) (Табл. 3.2), разбавленные стерильной дистиллированной водой до концентрации 200 нг мкл⁻¹. Для окрашивания бактериальных клеток готовили рабочий раствор с концентрацией 20 нг мкл⁻¹ и 200 нг мкл⁻¹.

Гибридизацию образцов проводили на желатиновых слайдах, которые представляют собой предметные стекла, покрытые тонким слоем раствора 0.1% желатина и 0.01% КСг(SO₄)₂ в воде (Tonolla et al., 2003). Образец объемом 2 мкл помещали на желатиновый слайд, высушивали при комнатной температуре на воздухе и проводили дегидратацию последовательно в 50%, 80% и 96% растворе этанола по 3 минуты в каждом. Далее следовал процесс предгибридизации образца для обеспечения наилучшей проницаемости в непроницаемый мембраны клеток, посредством помещения слайда пластиковый контейнер, содержащий полоску фильтровальной бумаги, смоченную гибридизационным буфером без формамида (0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA и 0.01% SDS, pH 7.2). Перед загрузкой образца в контейнер, на каждую пробу наносили 9 мкл гибридизационного буфера, содержащего соответствующее количество формамида (Таб.3.2). Контейнеры помещали в термостате на 30 минут при температуре 46°С. Для установления равновесной температуры и влажности в контейнерах, их выдерживали в термостате не менее 30 минут, прежде чем поместить туда образцы.

проводили Гибридизацию следующим образом: В каплю гибридизационного буфера, уже находящуюся на образце, капали 2 мкл раствора, с концентрацией олигонуклеотидов равной 200 нг мкл⁻¹, затем снова помещали образец в непроницаемый пластиковый контейнер и уже его в свою очередь в гибридизационную камеру на 1.5 часа при температуре 46°С. После гибридизации образцы промывали в отмывочном буфере (20 mM Tris-HCl, pH 7.2, 10 mM EDTA, 0.01% SDS и 102 mM NaCl в зависимости от концентрации формамида в буфере, см. Таб. 3.2) в течение 15 минут при температуре 48°С. Промывка также представляла собой помещение образца в непроницаемый пластиковый контейнер, заполненный отмывочным буфером. Заполненные контейнеры опускали в термостат, с установленной температурой. Затем образцы вынимали ИЗ отмывочного буфера, прополаскивали дистиллированной водой и высушивали на воздухе.

157

Общую численность микроорганизмов определяли с помощью универсального ДНК-красителя DAPI (4', 6'-диамидино-2-фенилиндола). Для этого на образцы после гибридизации наносилось 4 мкл раствора содержащего 50 нг DAPI, выдерживали пробу 5 минут в темноте, затем раствор смывали водой, а стекла высушивали на воздухе и помещали для хранения.

Таблица 3.2 – Олигонуклеотидные зонды, используемые в анализе воды оз. Шунет

зонд	«мишень»		Источник
		Последовательность	
		(% формамида в ГБ)	
EUB338	Бактерии, 16S rRNA,	5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGT(30%)	Amann et al.
	позиция 338-355		(1990)
GAM42a	Гамма-подгруппа протеобактерий	5'-GCCTTCCCACATGGTTT(10%)	Manz et al.
	23S rRNA, позиция 1027-1043		(1992)
SRB385	Сульфат редуцирующие бактерии	5'-CGGCGTCGCTGCGTCAGG(30%)	Amann et al.
	16S rRNA, позиция 385-402		(1990)
GSB532	Зеленые серные бактерии 16S	5'-TGCCACCCCTGTATC(30%)	Tonolla et al.
	rRNA,		(2003)
	позиция 532-546		
NON338	Отрицательный контроль,	5'-ACTCCTACGGGAGGCAGC(30%)	
	16S rRNA, позиция 338-355		

Благодаря высокой фотоустойчивости карбоцианина (Су-3), образцы можно хранить длительное время (до 4 недель) в готовом виде, в темноте при температуре 4°С.

Готовые препараты исследовались на эпифлуоресцентном микроскопе Zeiss Axioscop 40 (Zeiss, Oberkochen, Германия). Для наблюдения флуоресценции Cy-3 использовали набор светофильтров №15 (Zeiss, 546/12, FT 580, LP 590). Для наблюдения свечения DAPI использовался набор светофильтров № 2 (Zeiss, G365, FT 395, LP 420).

В качестве образцов для сравнения были использованы чистая культура пурпурных серных бактерий *Thiocapsa sp.* Shira_1 (AJ633676 в EMBL/GenBank), выделенных из оз.Шира (Рогозин и др., 2012) и накопительная культура неидентифицированных зеленых серных бактерий из оз. Шунет.

3.2.6 Отбор проб

Пробы отбирали воды ИЗ ЗОНЫ хемоклина с помощью оригинального многошприцевого устройства собственной разработки, подробное описание которого приводится ниже (п. 3.4). Данное устройство позволяет отбирать одновременно 15 или 20 (в зависимости от модификации) проб воды объемом 150 мл через интервал 5 см по глубине (Рогозин, Толомеев, Патент РФ № 2244282; Rogozin, Degermendzhi, 2008). Для точного попадания в зону хемоклина и точного определения глубины ее залегания, к несущей раме данного пробоотборника жестко закреплялся погружной зонд Data-Sonde 4a (Hydrolab, Austin, Texas, USA) или YSI 6600 (Yellow Springs, Ohio, USA). При этом датчики зонда, включая датчик глубины, находились точно на уровне нижнего конца пробоотборника. По резкому изменению знака редокс-потенциала определялась глубина позиционирования редоксзоны. Пробы воды с прочих глубин отбирались стандартными батометрами как описано в п. 2.1 (Глава 2). Отборы проб и полевые измерения осуществлялись в ходе полевых выездов, даты которых приведены в тексте и рисунках, и соответствуют указанным в Таб. 2.1, 2.2. датам регулярного мониторинга.

3.3 Характеристика пурпурных серных бактерий, доминирующих в озерах Шира и Шунет

3.3.1 Таксономическая идентификация штамма пурпурных серных бактерий *Thiocapsa* sp. Shira_1

Из зоны хемоклина оз. Шира в 2000 г. методом предельных разведений на анаэробной агаризованной среде, содержащей сульфид (см.п. 3.2), был выделен штамм пурпурных серных бактерий. Колонии данного штамма имели характерный пурпурный цвет и чечевицеобразную форму (Рис. 3.1). Форма клеток сферическая или овоидная, диаметром около 2 мкм (Рис. 3.2). В клетках бактерий обнаруживались газовые вакуоли и включения серы.



Рис. 3.1 – Колонии клеток *Thiocapsa* sp. Shira_1, выращенные методом предельных разведений на агаризованной среде



Рис. 3.2 – Клетки *Thiocapsa* sp. Shira_1, окрашенные DAPI (А) и флуоресцентным олигонуклеотидным зондом EUB338 (В)

Фотосинтетическими пигментами данной бактерии являлись бактериохлорофилл а (Бхл а) и каротиноиды океноновой серии, как следует из характерных пиков поглощения ацетоновых экстрактов, полученных из суспензии клеток (Рис. 3.3) (Лунина и др., 2007б).



Рис. 3.3 – Спектр поглощения ацетонового экстракта суспензии клеток штамма *Thiocapsa* sp. Shira_1

Филогенетический анализ нуклеотидной последовательности гена 16SpPHK показал, что данный штамм близок к типовому штамму *Thiocapsa roseopersicina* (98.6 %) (Рис. 3.4).

В работах Луниной с соавторами были выделены штаммы ПСБ ShAm01 и ShNAm02 из озер Шира (2001 г.) и Шунет (2002 г.), соответственно, морфологически и филогенетически полностью сходные друг с другом и с данным штаммом (Лунина и др., 2007а, б). Сходство нуклеотидных последовательностей оказалось практически 100%, как показано ниже (Рис. 3.15).



Рис. 3.4 – Филогенетический анализ сходства выделенного штамма *Thiocapsa sp*. Shira_1 с близкородственными штаммами. Планка показывает масштаб отличия в долях различающихся нуклеотидов (Лунина и др., 2007а, б)

Таким образом, применение метода культивирования на свету в присутствии сероводорода по Пфеннигу показало, что в обоих озерах в разные годы присутствует один и тот же штамм ПСБ. Как будет показано ниже методом ПЦР/ДГГЭ, независящим от культивирования, данный штамм доминировал в хемоклине обоих озер в 2005 г. (Рис. 3.14). Как показали методы прямого

микроскопического подсчета, данный вид бактерий доминировал в анаэробной зоне обоих озер в течение всего периода исследований.

3.3.2 Жирнокислотный состав липидов штамма пурпурных серных бактерий *Thiocapsa* sp. Shira_1

Качественный и количественный состав жирных кислот, входящих в состав липидов цитоплазматической мембраны и липополисахаридов клеточной стенки штамма пурпурных серных бактерий *Thiocapsa* sp. Shira_1, выделенных из оз. Шира, приведен в Таб. 3.3. Данный жирнокислотный спектр по основным признакам является типичным для грамотрицательных бактерий (Parsons, Rock, 2013; Wang, Quinn, 2010). К таким признакам относится малое количество разветвленных кислот, присутствие в клеточной стенке гидроксикислот, а также характерный состав кислот, относительный вклад которых наибольший (гексадеценовая 16:1 ω 7, пальмитиновая, Цисвакценовая 18:1 ω 7).

Данный спектр жирных кислот не содержит незаменимых полиненасыщенных кислот, ценных для хищников – потребителей планктона в озере. Следовательно, по жирнокислотному составу пурпурные бактерии не являются ценным кормом для зоопланктона. Полученный нами спектр жирных кислот (Таб. 3.3) приблизительно совпадает со спектром жирных кислот сестона озера Шира для глубин 14, 15 и 16 м (Tolomeev et al., 2010).

Таблица 3.3 – Качественный и количественный состав жирных кислот, входящих в состав липидов цитоплазматической мембраны и липополисахаридов клеточной стенки

	Липиды ЦПМ		ЛПС клеточной стенки	
Название кислоты	1	2	1	2
	повторность,	повторность,	повторность,	повторность,
	%	%	%	%
11:0			0.2	
12:1			1.2	0.2
Лауриновая 12:0	0.2	0.1	7.1	1.1
И-13:0			0.6	0.2
Тридекановая 13:0	0.2		0.5	0.1
β-OH-C10:0			2.6	1.1
Изо-миристиновая и-14:0	0.9	0.2	0.3	0.2
Миристолеиновая 14:1	1.4	0.2		
Миристиновая 14:0	3.3	1.6	4.9	3.3
Антеизо-пентадекановая аи-	0.9	0.8	0.6	0.5
15:0				
Изо-пентадекановая и-15:0	1.9	1.1	0.5	0.7
Пентадекановая 15:0	1.0	1.0	1.9	1.6
β-OH-C12:0		1.0	4.4	4.2
Изо-пальмитиновая и-16:0	0.6	2.5	0.6	1.1
Гексадеценовая 16:1ω7	26.8	17.9	13.9	14.1
Гексадеценовая 16:1 008	1.6	3.1	4.8	2.2
Гексадеценовая 16:1 ю9	1.3	0.6	2.0	1.2
Пальмитиновая 16:0	29.4	30.4	30.7	30.7
И-17:0			0.3	0.5
Гептадекановая 17:0	0.7	0.5	0.8	1.1
2-OH-C14:0			4.6	2.5
β-OH-C14:0			2.0	1.9
Линолевая 18:2 ю6	2.4	0.6	0.8	2.5
Олеиновая 18:1 ю9	7.0	7.4	3.2	7.4
Цис-вакценовая 18:1 ω7	14.0	28.7	3.7	9.5
Стеариновая 18:0	6.4	4.1	5.7	8.6
19:0			2.1	3.5

3.4 Многошприцевой пробоотборник с гидравлическим управлением: описание и принцип действия

В небольших водоемах принципиально важным условием для адекватного представления биохимических процессах И биоте 0 В градиентных зонах (хемоклине, пикноклине, термоклине и т.п.) является высокоточный отбор проб с разрешением в несколько сантиметров по глубине. Неоднократно было показано, что при использовании стандартных батометров были упущены экологически-значимые неоднородности В распределении планктонных микроорганизмов (Baker et al., 1985).

Для высокоточного отбора проб в настоящее время наиболее часто используются различные модификации многошприцевых пробоотборников с пневматическим приводом, позволяющие отбирать пробы одновременно с нескольких глубин через интервал порядка 2-5 см. Подробное описание такого устройства было опубликовано в работе Бэйкера (Baker et al., 1985). Устройства, аналогичные вышеупомянутому, с успехом применяются для исследований стратифицированных водоемов (Overmann, 1997; Tonolla et al., 2003).

Однако, на наш взгляд, применение пневматического привода создает некоторые трудности при отборе проб. Например, при погружении на глубину, воздух в системе привода неизбежно сжимается под давлением столба воды, что может приводить к преждевременному втягиванию поршней, следовательно – к неадекватному отбору проб, особенно при работе на значительных глубинах (свыше 10 м). Еще одна трудность может возникнуть при отборе пробы. А именно: в момент отбора исследователь, находящийся на лодке, откачивает воздух из шланга, создавая разряжение, необходимое для втягивания поршней. Если какой-то из поршней по причине износа или перекоса будет двигаться с трудом, то небольшого разряжения будет недостаточно для его втягивания. При дальнейшей откачке воздуха с целью создания большего разрежения, шланг будет сжиматься под давлением окружающей воды, и движение поршня будет невозможно. В результате, в заклинивший шприц проба не попадет. Мы осуществили усовершенствование многошприцевого пробоотборника, которое, на наш взгляд, позволяет избежать вышеописанных трудностей. За прототип мы взяли устройство, описанное Бэйкером (Baker et al., 1985), однако вместо пневматического привода используем гидравлический (Rogozin, Degermendzhi, 2008; Патент Российской Федерации № 2244282.). Схема нашего пробоотборника приведена на Рис. 3.5. Основу конструкции составляет такой же ряд пластиковых шприцов. Хвостовики поршней обрезаны, каждый шприц герметично закрыт металлической крышкой с резиновой прокладкой. Внутренние объемы всех шприцов с хвостовой стороны сообщаются друг с другом через множитель, который, в свою очередь, через шланг сообщается с насосом, находящимся непосредственно в руках исследователя в лодке (на рисунке не показаны). Весь внутренний объем шланга, множителя и хвостовых частей шприцов заполнен рабочей жидкостью, которая служит для передачи гидравлического давления на поршни шприцов. Для отбора нужно погрузить устройство на заданную глубину, затем откачивать рабочую жидкость насосом, создавая разряжение в системе гидропривода. При этом, также как и при откачке воздуха в варианте с пневматическим приводом, поршни всех шприцов начинают втягиваться, в результате чего вода из водоема поступает через носики в передние части шприцов.

Гидростатическое давление воды зависит только от высоты столба жидкости и ее плотности и не зависит от объема водной толщи. Данное явление известно как «гидростатический парадокс». Следовательно, в нашем случае гидростатическое давление столба рабочей жидкости на поршень с хвостовой стороны шприца на любой глубине равно гидростатическому давлению воды водоема, действующему на тот же поршень со стороны носика. Таким образом, полностью исключена возможность

166

самопроизвольного втягивания поршней во время погружения устройства на любую глубину. Поэтому предлагаемое нами устройство может работать на больших глубинах, где применение пневматического привода ограничено. Незначительная разница давлений все-таки существует из-за неравенства плотностей рабочей жидкости и воды в водоеме, а также из-за того, что насос расположен на лодке несколько выше уровня поверхности водоема. Но эта разница давлений, как показал опыт, пренебрежимо мала и не создает никаких трудностей во время отбора проб.

В качестве рабочей жидкости может быть использована вода, но предпочтительнее использовать 50 - 70 % раствор этилового спирта. Вопервых, это исключает замерзание гидравлической системы во время транспортировки устройства к месту отбора проб при отрицательных температурах В холодные сезоны. Во-вторых, препятствует ЭТО бактериальному обрастанию внутренних объемов шприцов и гидравлической системы, что немаловажно при длительном хранении. Стоит отметить, что авторы пневматического прототипа советуют хранить устройство наполненным водой, чтобы снизить вероятность присыхания поршней после длительного хранения (Baker et al., 1985). В нашем случае устройство всегда заполнено жидкостью, что автоматически уменьшает вероятность присыхания поршней. Опыт показал, что использование спиртового раствора не снижает существенным образом скольжение поршней, если используются медицинские стандартные пластиковые шприцы С резиновыми наконечниками поршней. Применение дополнительной смазки поршней в этом случае не обязательно.

Сразу после отбора пробы и извлечения устройства из воды, мы одеваем на носики всех шприцов герметичные резиновые колпачки. Это позволяет избежать нежелательного контакта проб с окружающей средой. Как правило, извлечение отобранных проб предпочтительнее производить из того или иного шприца по выбору исследователя. Для выборочного извлечения пробы достаточно снять колпачок с носика именно того шприца,

из которого требуется взять пробу, затем накачивать рабочую жидкость обратно в гидравлическую систему через шланг тем же (или другим) насосом. В результате будет двигаться поршень только того шприца, носик которого открыт. После полного извлечения всех проб поршни всех шприцов оказываются перемещенными вплотную к носикам, а шприцы - полностью заполненными рабочей жидкостью, следовательно - устройство готово к следующему циклу отбора.

Как показал опыт, попадание небольшого количества воздуха в систему гидравлического привода не влияет на работу устройства. Кроме того, во время отбора проб пузыри воздуха, ранее случайно попавшие в систему (например, при закачивании рабочей жидкости), движутся вверх по шлангу, стремясь к всплытию, и постепенно покидают систему вместе с откачиваемой жидкостью. Еще одно важное преимущество гидравлического привода заключается в том, что объем откачанной рабочей жидкости всегда равен объему взятых проб воды. Следовательно, по объему рабочей исследователь, жидкости, откачанному В процессе отбора пробы, находящийся на лодке, дистанционно может оценить, сколько шприцов пробами на данный момент. Это избежать заполнилось помогает преждевременного подъема устройства на поверхность в том случае, если по каким-то причинам в одном (или нескольких) шприцах поршни движутся слишком туго.

Стоит отметить, что в качестве насоса мы с успехом используем медицинский шприц объемом 150 мл (шприц Жанэ). Объем рабочей жидкости, который необходимо откачать (закачать) в процессе отбора (извлечения) проб, превышает объем этого шприца, поэтому в процессе отбора (извлечения) требуется периодически отсоединять шприц от шланга, чтобы слить рабочую жидкость или наполнить ею шприц, соответственно. Пока шприц отсоединен от шланга, шланг необходимо держать пережатым во избежание утечки рабочей жидкости и/или попадания воздуха в систему. Для этого достаточно перегибать шланг рукой. Использование шприца

вместо насоса лишь незначительно увеличивает длительность отбора пробы, однако существенно повышает надежность устройства и позволяет избежать технических проблем, возможных при использовании насосов в полевых условиях.

Предлагаемое нами устройство обладает высокой надежностью. Вариант, изображенный на Рис. 3.5 и Рис. 3.6 использовался нами в течение десяти лет для изучения микростратификации микробных сообществ в зонах хемоклина меромиктических озер Шира и Шунет (Rogozin et al., 2005) и ряда других стратифицированных водоемов. За все это время не было ни одного сбоя работе устройств, В при ЭТОМ не производилось никаких профилактических работ по их техническому обслуживанию. В данном варианте используются 15 либо 20 медицинских пластиковых шприцов объемом 150 мл (шприц Жанэ), расстояние между носиками шприцов составляет 5 см.

Таким образом, основные преимущества нашего устройства по сравнению с хорошо известными пневматическими многошприцевыми тонкослойными пробоотборниками:

- невозможность самопроизвольного перемещения поршней, что гарантирует адекватность проб, особенно при отборе проб со значительных глубин (более 10 м);
- возможность дистанционной оценки степени наполнения шприцов пробами;
- стерильность внутреннего объема шприца и всей гидравлической системы при хранении (если в качестве рабочей жидкости используется 70 % этиловый спирт), что немаловажно при использовании проб для микробиологических анализов.
- 4. уменьшение риска «присыхания» поршней после длительного хранения.



Рис. 3.5 – Схема многошприцевого пробоотборника с гидравлическим управлением. Патент РФ № 2244282. Авторы: Рогозин Д.Ю., Толомеев А.П. Патентообладатель Институт биофизики СО РАН (Rogozin, Degermendzhy, 2008)

С помощью стратификационного батометра (Рис.3.5) мы исследовали вертикальные распределения численностей пурпурных серных бактерий

(ПСБ), концентраций кислорода и сероводорода в хемоклине озер Шира и Шунет.

3.5 Микростратификация фототрофных серных бактерий в озере Шунет

3.5.1 Общее описание

Численность ПСБ в хемоклине обоих озер варьировала в течение года, как показано далее при анализе экологии ПСБ в Главе 4. Однако во все сезоны года вертикальный профиль численности пурпурных серных бактерий в озере Шунет характеризовался пиком в зоне хемоклина. Примеры для отдельных дат приведены на Рис. 3.6, 3.7. Все полученные вертикальные распределения за период 2002-2012 приведены в Приложении. ПСБ формировали взвешенный в водной толще так называемый «пурпурный слой», характерный для хемоклина многих стратифицированных озер 1997) 3.6). (Overmann, (Рис. Использование многошприцевого пробоотборника (Rogozin, Degermendzhi, 2008) показало, что «пурпурный слой» формируется в узком интервале глубин - порядка 5 см (Рис. 3.6). Максимальная зарегистрированная численность ПСБ была около 4×10⁸ кл мл⁻¹ (Рогозин и др., 2012).

Вертикальный профиль численности зеленых серных бактерий (ЗСБ) имел четко выраженный максимум в зоне хемоклина под «пурпурным слоем» (Рис. 3.8). В летнее время массовое развитие ЗСБ под слоем ПСБ было видно невооруженным глазом, когда проба воды из хемоклина была аккуратно отобрана вертикальным прозрачным батометром Руттнера. В батометре был слой» виден темный «зеленый толщиной несколько миллиметров, примыкающий снизу к «пурпурному слою», однако количественный анализ пробы из батометра был невозможен без нарушения тонкой стратификации. В пробах, отобранных с помощью многошприцевого пробоотборника во все сезоны года, максимум численности ЗСБ (оцененной по концентрации бактериохлорофиллов d+e) регистрировался либо под максимумом ПСБ, либо



Рис. 3.6 – Многошприцевой пробоотборник с гидравлическим приводом (Rogozin, Degermendzhi, 2008; Патент РФ № 2244282) с отобранными пробами воды из хемоклина оз. Шунет в августе 2004 г. Виден слой пурпурных серных бактерий, совпадающий по глубине с редокс-зоной

Особенно следует отметить, что в предыдущих исследованиях озера Шунет, проведенных с помощью стандартных батометров, нет указаний на наличие «пурпурного слоя» (Дегерменджи и др., 2003; Природные воды..., 2003). В озере Шунет мы проводили отбор проб из хемоклина на одной и той же станции с помощью многошприцевого стратификационного батометра и с помощью обыкновенного батометра Руттнера. При использовании последнего «пурпурный слой» в пробах размывался, и не был виден глазом, тогда как в шприце стратификационного батометра, соответствующем редокс-зоне, вода имела интенсивный пурпурно-розовый цвет из-за массового развития ПСБ (порядка 10⁸ кл/мл).



Рис. 3.7 – Вертикальное распределение ПСБ, кислорода, скоростей сульфатредукции и световой ассимиляции углекислоты в хемоклине озера Шунет 6 августа 2003 г. (из Рогозин и др., 2005)

Пик световой ассимиляции ¹⁴С-углекислоты в хемоклине озера Шунет в точности совпадал с пиком численности ПСБ, что свидетельствует об активном фотосинтезе, осуществляемом ПСБ в этом слое (Рис.3.7). В зоне

173

хемоклина оз. Шунет был зарегистрирован также пик бактериальной сульфатредукции (Рис. 3.7) (см. также Главу 5), который невозможно было бы обнаружить при использовании обычного батометра. Летом 2003 выше глубины 5.2 м была зарегистрирована зона, где ни кислород, ни сероводород аналитически не определялись (Рис.3.7). Вероятно, в этой зоне происходят интенсивные процессы окисления сероводорода кислородом, как химически, так и с участием хемосинтезирующих бактерий.



Рис. 3.8 – Вертикальные распределения Бхл a и Бхл d+e в озере Шунет в 2007 г

3.5.2 Суточная динамика ПСБ в хемоклине озера Шунет

Для выявления суточной динамики ПСБ в хемоклине проводили отборы проб в течение суток с интервалом 6 часов с помощью многошприцевого пробоотборника 26 - 27 июля 2005 г. Было показано, что в течение суток пурпурный слой ПСБ сохранял свою позицию по глубине в

интервале, соответствующем точности пробоотбора (Рис. 3.9). Распределения для 18-ти часов характеризовались некоторым увеличением численности пурпурных серных бактерий в расположенном выше шприце (Рис. 3.9). Однако наблюдаемые изменения вертикального распределения в интервале 5 см могут быть обусловлены несколькими причинами: вертикальными перемещениями бактерий, вертикальным смещением водных масс, а также погрешностью пробоотбора. Аналогичным образом, максимум численности зеленых серных бактерий либо совпадал с таковым для ПСБ, либо располагался на 5 см ниже (Рис. 3.9).



Рис. 3.9 – Суточная динамика вертикальных распределений пурпурных и зеленых серных бактерий в хемоклине оз.Шунет в период с 18 часов 26 июля по 18 часов 27 июля 2005 г

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что заметные суточные вертикальные перемещения ПСБ и ЗСБ в хемоклине оз. Шунет в интервале глубин более 5 см отсутствуют. Возможные перемещения фототрофных серных бактерий имеют меньший масштаб по глубине, и не могут быть зарегистрированы многошприцевым устройством с разрешающей способностью пробоотбора в 5 см.

3.5.3 Анализ распределений зеленых серных бактерий и сульфатредуцирущих бактерий методом FISH

Для выявления состава и пространственной динамики природных микробных сообществ наиболее подходящими являются молекулярногенетические методы, позволяющие идентифицировать микроорганизмы без культивирования на селективных средах. Один из таких методов - метод флуоресцентной *in-situ* гибридизации (fluorescent *in-situ* hybridization, FISH) – был применен нами для анализа тонкой пространственной структуры сообщества микроорганизмов, формирующего слой повышенной активности на границе сероводородной и кислородной зон в хемоклине озера Шунет.

Результаты оценок численностей зеленых серных бактерий (ЗСБ) методом FISH приведены на Рис. 3.10. Вертикальный профиль численности ЗСБ имел достоверный максимум («зеленый» слой) в зоне хемоклина под слоем массового развития пурпурных серных бактерий (ПСБ). Согласно оценкам, проведенным методом микроскопии в отраженном свете в тех же пробах, отобранных с помощью многошприцевого пробоотборника из озера Шунет, максимум численности ЗСБ регистрировался под максимумом ПСБ. Видно, что пики численностей ЗСБ, полученные двумя методами, совпадают (Рис. 3.10).

Таким образом, методом флуоресцентной *in-situ* гибридизации (FISH) с применением олигонуклеотидного зонда GSB532, специфичного к зеленым серным бактериям, было подтверждено, что зеленые и пурпурные серные бактерии проявляют тенденцию к микростратификации в хемоклине озера Шунет в летнее время (Рис. 3.10). Этот же вывод был ранее получен нами на основе анализа спектров фотосинтетических пигментов в образцах, полученных из той же биосъемки (Рис.3.10).

Методом FISH получена оценка численности сульфатредуцирующих бактерий в хемоклине озера Шунет с использованием зонда SRB385, специфичного к сульфатредуцирующим бактериям. Показано, что данная группа бактерий достигает наибольшей численности (около 9 × 10⁶ кл мл⁻¹) на глубине, совпадающей со слоем максимальной численности пурпурных серных

бактерий (т.е. в «пурпурном» слое) (Рис. 3.10). Это свидетельствует о том, что в хемоклине данного озера функционирует локальный биотический круговорот серы.



- -- Общая численность бактерий, DAPI

Рис. 3.10 – Вертикальные распределения бактерий в зоне хемоклина озера Шунет в 18 часов 27 июля 2005 г., оцененные с помощью методов световой микроскопии и флуоресцентной in-situ гибридизации (FISH)

Таким образом, с помощью молекулярных методов, не зависящих от культивирования, получены доказательства устойчивой пространственной неоднородности состава фототрофного бактериального сообщества в хемоклине озера Шунет. Данный факт следует учитывать при создании математической модели серного цикла данного озера.

В 2005 г. нами были проведены исследования динамики бактериального сообщества хемоклина оз. Шунет в течение теплого периода (Рогозин и др., 2010а). Отбор проб воды и сопутствующие измерения физико-химических характеристик проводились 25 мая, 27 июля и 10 сентября 2005 г.

Во все даты отбора проб озеро Шунет характеризовалось четко выраженной стратификацией. Зона хемоклина, определяемая нами как граница между аэробными и анаэробными условиями, располагалась во все даты почти на одной глубине, около 4.9 – 5.1 м (Рис.3.11). В водной толще в зоне хемоклина BO все даты присутствовал взвешенный озера горизонтальный слой повышенной мутности (Рис.3.11), окрашенный в яркопурпурный цвет. Данный «пурпурный» слой толщиной около 5-10 см был виден невооруженным глазом в одном-двух шприцах многошприцевого пробоотборника. Выше «пурпурного» слоя сульфид отсутствовал, в «пурпурном» слое появлялись следы сульфида, ниже концентрация сульфида монотонно нарастала с глубиной, достигая значений около 450 мг л⁻¹ вблизи дна. Ниже «пурпурного» слоя цвет воды постепенно изменялся с глубиной от розово-коричневого до грязно-зеленого.

Фототрофные аноксигенные бактерии. Во все даты вертикальный профиль численности пурпурных серных бактерий (ПСБ) характеризовался отчетливым пиком в зоне хемоклина (Рис.3.11), и совпадал по глубине с «пурпурным» слоем. В хемоклине преобладал морфотип ПСБ, по форме, размерам и характеру агрегирования сходный с ранее охарактеризованным в работе Луниной с соавторами (2007а) видом, родственным *Lamprocystis purpurea* и выделенным нами из оз. Шира штаммом *Thiocapsa* sp. Shira_1 (AJ633676 в EMBL/GenBank).

Наибольшая численность ПСБ, видимых в отраженном свете, наблюдалась в июле, около $(1.8 \pm 0.4) \times 10^8$ кл мл⁻¹. В это время окраска

«пурпурного слоя» была наиболее интенсивной. В мае и сентябре численность этой группы в «пурпурном слое» была около 4×10⁷ кл мл⁻¹.

Вертикальный профиль численности зеленых серных бактерий (ЗСБ) также характеризовался пиком в зоне хемоклина (Рис.3.11). В мае и сентябре максимум ЗСБ был зарегистрирован на 5 см ниже максимума численности ПСБ (в соседнем шприце пробоотборника), а в июле – располагался в «пурпурном слое», однако также тяготел к его нижней границе. Концентрация клеток ЗСБ в мае в пике была около 4.6×10⁶ кл/мл, в июле и августе – около 8×10⁶ кл/мл.

Общая численность микроорганизмов. Численность бактерий, окрашиваемых DAPI, без учета ПСБ, во все даты отбора находилась в пределах от 2×10^8 до 4×10^8 кл/мл. В исследованных интервалах глубин общая численность микроорганизмов была больше над «пурпурным» слоем, снижалась непосредственно в «пурпурном» слое, образуя локальный минимум под этим слоем, затем снова нарастала по направлению ко дну (Рис.3.11).

Цианобактерии. Во всех пробах присутствовали пикопланктонные формы цианобактерий, предположительно относящиеся к роду *Sinechococcus*, выглядевшие как мелкие, менее 0.5 мкм в диаметре, одиночные и реже – парные сферические клетки, ярко флуоресцирующие в оранжевом диапазоне при освещении зеленым светом.



Рис. 3.11 – Вертикальные распределения физико-химических характеристик в водной толще озера Шунет и численностей микроорганизмов в хемоклине данного озера в 2005 г. Общая численность бактерий (DAPI) приведена без учета ПСБ (Рогозин и др., 2010а)

Для данной группы в хемоклине наблюдалась четко выраженная сезонная динамика. А именно – в мае цианобактерии были малочисленны, и распределялись в хемоклине почти равномерно (Рис. 3.11). В июле суммарное количество клеток возросло, и наблюдалась тенденция к снижению численности с глубиной (Рис. 3.11). В сентябре суммарное количество клеток еще больше возросло, и концентрация нарастала с глубиной (Рис. 3.11).

Криптомонады. В хемоклине оз. Шунет во все даты присутствовала плотная популяция криптофитовых фитофлагеллят (Cryptophyta; Cryptomonadaceae), образованная видами *Chroomonas sp., Rhodomonas salina,*
Unidentified cryptomonad, Proteomonas sulcata и Pyrenomonas helgolandii.(Рогозин и др., 2010; Khromechek et al., 2010).

В июле криптофитовые фитофлагелляты образовывали достоверный максимум численности в 10-ти см слое на верхней границе хемоклина. Весной и осенью кривые распределения криптомонад не имели достоверного максимума, популяция распределялась довольно равномерно в 30-ти сантиметровой зоне выше хемоклина. Локализация максимальной плотности популяции криптомонад совпадала с максимумом численности ПСБ («пурпурным» слоем) в июле и мае, тогда как в сентябре криптомонады располагались над «пурпурным» слоем (Рис.3.11).

Пигменты фототрофных микроорганизмов. В спектрах поглощения ацетоновых экстрактов всех проб наблюдался характерный пик поглощения на 486 нм с плечом в районе 510 нм (Рис. 3.12). Аналогичный по форме пик наблюдается и в спектре чистой культуры *Thiocapsa* sp.Shira_1 (Рис. 3.12). Основной пик поглощения Бхл *а* на 772 нм в спектрах присутствовал только в виде следов, поэтому оценить концентрацию Бхл а было невозможно.

Пики на 430 нм и 654 нм, характерные для спектров 3СБ озера Шунет (Лунина и др., 2007 а), в июле отмечались ниже «пурпурного слоя» (Рис.3.12). В июле концентрация *Бхл d* в максимуме численности 3СБ, т.е. на 5 см ниже «пурпурного» слоя, составила 1440 мкг л⁻¹, что соответствует концентрации клеток около 5×10^6 кл/мл (Лунина и др., 2007 а). В мае в «пурпурном» слое (глубина 5.1 м) максимум поглощения Бхл *d* смещался в длинноволновую сторону (659 нм), что указывало на присутствие Хл *a* (см. Обсуждение). Концентрации Хл *a* и Бхл *d*, на этой глубине составили 89 и 81 мкг л⁻¹, соответственно.



Рис. 3.12 – Спектры поглощения ацетоновых экстрактов пигментов фотосинтезирующих микроорганизмов: а) образцов воды из хемоклина оз. Шунет в июле 2005 г., б) культур аноксигенных фототрофных бактерий. *1* –

глубина 5.05 м, 2 – глубина 5.1 м, 3 – глубина 5.15 м, 4 – 5.2 м, 5 – накопительная культура неидентифицированных зеленых серобактерий из оз.

Шунет, 6 – пурпурные серобактерии, штамм *Thiocapsa* sp. Shira_1. (из Рогозин и др., 2010)

Состав бактериального сообщества, выявленный по профилям ДГГЭ. Все вышеупомянутые группы микроорганизмов, т.е. ПСБ, ЗСБ, криптофитовые, цианобактерии и хемотрофные бактерии, были выявлены на профилях ДГГЭ (Рис. 3.11-3.13). Полосы, соответствующие хлоропластам криптофитовых водорослей (Shunet 2005-А на Рис.3.13-3.15), присутствовали в образцах из микроаэрофильной и аэробной зон. Кроме того, в мае полосы отмечались и в верхней части анаэробной зоны, однако во все даты они отсутствовали в глубине анаэробной зоны (Рис.3.13).

Зеленые серные бактерии проявлялись в профилях ДГГЭ во все даты, и тяготели к анаэробной зоне (Shunet 2005-C на Рис.3.13, 3.15). Данные

бактерии оказались филогенетически близкими к *Prosthecochloris sp.* (Рис.3.15).

Полосы цианобактерий, филогенетически родственных видам Synechococcus (Shunet 2005-F на Рис.3.13-3.115), заметным образом проявлялись только в сентябре, и присутствовали в хемоклине на всех глубинах (Рис. 3.13, 3.14). Очень слабые полосы этих организмов были заметны также в июле в верхней части хемоклина.

Во всех дорожках без исключения присутствовали полосы, соответствующие γ-протеобактериям, филогенетически близким к *Halomonas sp.* (Shunet 2005-G) и *Pseudoalteromonas sp.* (Shunet 2005-E) (Рис. 3.13-3.15). Полосы этих же организмов присутствовали и в образце из хемоклина меромиктического оз. Шира (Рис. 3.13). В образцах из анаэробных зон обоих озер для всех дат отмечались слабо видные дорожки дельта-протеобактерий (Shunet 2005-B), родственных некультивируемым бактериям из активного ила очистных сооружений (Рис. 3.13, 3.15).

В геле, полученном с применением градиента денатурирующих веществ от 30 до 70%, полностью отсутствовали полосы ПСБ, однако в дальнейшем при использовании градиента от 40 до 70% (Рис.3.14) эти полосы были выявлены. На Рис. 3.14 видно, что во всех образцах, кроме одного, имеется полоса, точно совпадающая по положению с полосой чистой культуры ПСБ *Thiocapsa* sp. Shira_1. Данный штамм по морфологическим признакам и пигментному составу был наиболее близок к *Lamprocystis purpurea* (Лунина и др., 2007а), а по филогенетическому положению – к видам рода *Thiocapsa* (около 97% сходства, Рис.3.15). Полоса этого вида отсутствовала лишь в образце с глубины 4.9 м (Рис.3.14), т.е. выше «пурпурного слоя», где концентрация ПСБ была значительно ниже, и составляла менее 0.01 % от общей численности бактерий (Рис.3.13).

В целом, как микроскопическими, так и молекулярными методами показано, что в период с мая по сентябрь существенных изменений в бактериальном сообществе хемоклина не происходит, по крайней мере, среди распознаваемых нами форм. Этот вывод справедлив как для численностей, распределений. вертикальных Единственная так И для группа микроорганизмов, для которой была выявлена четкая пространственная течение исследованного периода линамика В _ ЭТО представители автотрофного пикопланктона, а именно – цианобактерии рода Synechococcus (Рис. 3.11, 3.13). Данная группа проявилась в профилях ДГГЭ только в сентябре, когда ее численность на соответствующих глубинах существенно возросла (Рис.3.11). Судя по форме профилей, в сентябре цианобактерии появились в хемоклине в большом количестве вероятнее всего в результате оседания из вышележащих слоев (Рис. 3.11). Развитие цианобактерий рода Synechococcus вблизи хемоклина характерно для меромиктических озер, и обусловлено повышенной концентрацией биогенов (особенно – фосфора) в этой зоне, избеганием выедания хищниками и адаптацией к слабой освещенности (Craig, 1987). Методом ПЦР/ДГГЭ был выявлен только один вид ПСБ, доминирующий в хемоклине озера Шунет. Судя по совпадению полос на профиле ДГГЭ, этот же вид был выделен нами из хемоклина оз. Шира на селективной среде. И этот же вид преобладал в пробах воды из «пурпурного» слоя оз. Шунет, судя по морфологическим признакам. Ранее, Луниной с соавторами (Лунина и др., 2007 а,б) из озер Шира и Шунет были выделены на селективную среду штаммы ПСБ, практически идентичные нашему (Рис. 3.15).

Вместе с тем, как было показано Луниной с соавторами, в 2003 гг. в хемоклине Шунета присутствовал как минимум еще один вид ПСБ (Лунина и др., 2007а). Данный штамм был морфологически сходен с *Lamprobacter modestohalophilus* и филогенетически попадал в кластер со штаммами рода *Halochromatium*, причем на некоторых глубинах данный морфотип доминировал.



Рис. 3.13 – Профиль ПЦР-ДГГЭ бактериальных сообществ хемоклина озер Шира и Шунет, полученный с применением градиента 30-70% (Рогозин и др., 2010а)

В нашей работе во всех исследованных образцах данный морфотип наблюдался при микроскопировании лишь как минорная компонента. Таким образом, сравнивая результаты, полученные методом ПЦР/ДГГЭ с результатами прямых микроскопических наблюдений, пигментного анализа и культивирования, можно утверждать, что доминирующий вид ПСБ в озере Шунет был адекватно выявлен методом ПЦР/ДГГЭ. Однако, по данным Луниной с соавторами (2007а) и аутофлуоресцентной микроскопии (Рогозин и др., 2010а), в сообществе присутствуют и другие, минорные виды ПСБ.

Отсутствие основного пика поглощения Бхл а на 772 нм в спектрах поглощения ацетоновых экстрактов «пурпурного» слоя в июле 2005 (Рис.3.12) является, по-видимому, артефактом. Данный пик всегда наблюдался в спектрах проб из «пурпурного слоя» во все прочие даты исследований (Лунина и др., 2007а,б; Rogozin et al., 2009; Рогозин и др.,

2012). Форма остальной части спектра совпадает со спектром чистой культуры ПСБ и со спектрами, полученными ранее из аналогичных проб (Лунина и др., 2007а,6), поэтому наличие в исследуемых образцах большого количества ПСБ, содержащих Бхл а и окенон, не вызывает сомнения, несмотря на отсутствие характерного для Бхл а пика в спектрах.



Глубина, м

Рис. 3.14 – Профиль ПЦР-ДГГЭ бактериальных сообществ озер Шира и Шунет, полученный с применением денатурирующего градиента 40-70% (Рогозин и др., 2010а)

Единственный вид (филотип) ЗСБ, выявленный в настоящей работе методом ПЦР/ДГГЭ, отличался от ранее выделенного в культуру в работе Луниной (97% сходства, Рис. 3.15). Данное несовпадение можно объяснить сменой доминирующего вида в 2005 г. по сравнению с 2003 г, однако не исключено, что Луниной с соавторами на селективной среде был выделен минорный вид. Аналогичное несовпадение было описано Касамайором для

двух испанских стратифицированных озер, где сиквенсы ЗСБ, полученные из фрагментов на профилях ДГГЭ, отличались от сиквенсов ранее выделенных в культуру видов (Casamayor et al., 2000). Тем не менее, в спектрах поглощения воды глубже «пурпурного» слоя мы наблюдали те же характерные для ЗСБ пики поглощения (Рис. 3.12), какие наблюдались Луниной и в чистой культуре выделенного штамма ShNPel02, и в озере Шунет в 2003 г. (Лунина и др., 2007а). Следовательно, по пигментному составу доминирующие популяции ЗСБ в оба года были сходными, и, кроме того, сходными со штаммом ShNPel02. Метод подсчета численности в отраженном свете не позволил четко распознать форму и размеры клеток ЗСБ, доминирующих в Шунете во время нашего исследования. Метод DAPI и аутофлуоресцентные характеристики также не позволяют однозначно идентифицировать клетки ЗСБ в смешанных природных сообществах, поэтому мы не могли сравнить ЗСБ из наших образцов со штаммом ShNPel02 по морфологическим признакам. Следовательно, в случае ЗСБ мы не можем проверить адекватность применения метода ПЦР/ДГГЭ для выявления доминирующей популяции. Тем не менее, можно утверждать, ЧТО вертикальное распределение численности ЗСБ, характеризующееся четким пиком под «пурпурным» слоем, качественно было отражено в профилях ДГГЭ. Действительно, наиболее интенсивные полосы ЗСБ на профилях ДГГЭ июля и сентября наблюдались в образцах, где численность ЗСБ была максимальной (Рис.3.13). В мае максимум ЗСБ наблюдался на глубине, образец из которой на ДГГЭ не анализировался, однако тенденция к интенсивности полос с увеличением численности увеличению ЗСБ прослеживается и для майской серии (Рис.3.13).

В хемоклине расположенного рядом озера Шира, судя по отсутствию характерных полос (Рис. 3.13), зеленые серные бактерии, криптомонады и цианобактерии не формировали значительных скоплений, что согласуется с данными наблюдений, сделанных прямыми методами (данные не показаны на рисунках). Полоса ПСБ присутствовала в образце из хемоклина озера Шира (Рис.3.14), что согласуется с микроскопическими наблюдениями, численность ПСБ в этом образце составляла 2.5×10^6 кл мл⁻¹.



Рис. 3.15 – Бескорневое филогенетическое древо, показывающее положение штамма *Thiocapsa* sp. Shira_1 и нуклеотидных последовательностей хемоклина оз. Шунет, выявленных с применением метода ПЦР-ДГГЭ (отмечены жирным шрифтом). Цифрами показаны значения "bootstrap"-анализа выше 65% (Рогозин и др., 2010а)

Следует отметить наличие в хемоклине оз. Шунет микростратификации пурпурных и зеленых бактерий, выявленной как по данным прямого счета, так и по распределению пигментов (Рис.3.11, 3.12). Неоднократно показано, что аналогичная микростратификация, т.е. расположение ЗСБ под ПСБ, является характерным явлением для стратифицированных озер с сероводородным монимолимнионом (гиполимнионом). Причины данного явления изучались экспериментально и обобщены в ряде работ (Горленко и др., 1977; Montesinos et al., 1983). ЗСБ строго анаэробны и не переносят присутствия кислорода, в то время как некоторые виды ПСБ способны переходить на хемосинтез в темновых условиях, используя кислород в качестве акцептора электронов (Overmann, Pfennig, 1992б). При этом ЗСБ являются более теневыносливыми, обладая в несколько раз более сильной светособирающей антенной, поэтому способны расти с теми же скоростями при более низкой освещенности в более глубоких слоях, чем ПСБ. Кроме того, ЗСБ переносят более высокие концентрации сульфида, чем ПСБ и не конкурируют за свет с ПСБ, т.к. их пигментные комплексы поглощают свет из других участков спектра (Montesinos et al., 1983). Вышеописанные причины обусловливают наблюдаемую в Шунете и многих других озерах стратификацию фототрофных аноксигенных бактерий.

Судя по спектрам поглощения, в Шунете под слоем ПСБ развиваются в основном «зеленые» ЗСБ, содержащие каротиноид хлоробактин (Лунина и др., 2007а). Данный факт хорошо согласуется с выводом, сделанном Монтесиносом с соавторами о том, что естественный светофильтр, формируемый слоем ПСБ, способствует селективному преимуществу именно этой группы *Chlorobiacea*, в то время как «коричневые» виды ЗСБ получают доминирующее развитие под массовым цветением цианобактерий и зеленых водорослей (Montesinos et al., 1983).

189

По литературным данным, численность ПСБ свыше 10^8 кл мл⁻¹ является экстремально высокой, и известна, кроме Шунета, только для одного озера – Махони (Mahoney), Канада (Overmann, 1997). В хемоклине данного озера условия по потокам сульфида и световой энергии столь же благоприятны, как и в Шунете, что, очевидно, способствует интенсивному развитию ПСБ, а резкий градиент плотности обеспечивает гидрофизическую стабильность, которая способствует накоплению биомассы ПСБ в узком слое (см. Главу 4). Однако, в Махони не отмечается массового развития ЗСБ (Overmann, 1997), что, возможно, обусловлено слабощелочной реакцией воды, неоптимальной для этой группы. Заметим, что в анаэробной зоне оз. Шира условия по рН (8.0 - 8.5) также неоптимальны для ЗСБ, что, возможно, не позволяет данной группе достигать заметной численности в этом водоеме (Лунина и др., 2007, б). В оз. Шунет значения рН в зоне развития ЗСБ составляли около 7.6, что ближе к оптимуму для данной группы бактерий, который составляет около 6.5-7.0 (Pfennig, Truper, 1989).

Наличие крупной популяции криптофитовых водорослей Cryptomonas spp. (Eukaryota; Cryptophyta; Cryptomonadaceae) вблизи хемоклина является характерной чертой многих меромиктических водоемов, причем максимум численности, как правило, формируется в слое массового развития ПСБ (Gasol et al., 1992). В меромиктических озерах хлоропласты криптомонад часто выявляются на профилях ДГГЭ, полученных с применением бактериальных праймеров (например, Casamayor et al., 2000). Массовое скопление криптомонад в редокс-зоне и на верхней границе анаэробной зоны наличием повышенных концентраций объясняется здесь биогенных элементов (азота и фосфора) и снижением давления хищников (аэробных инфузорий) (Pedros-Alio et al., 1995). Криптомонады, населяющие хемоклин, толерантны к слабым концентрациям сульфида и адаптированы к низкой освещенности. До сих пор остается неясным, является ли присутствие ПСБ необходимым для роста Cryptomonas или случайным фактом (Gasol et al., 1992).

Тот факт, что полосы цианобактерий Synechococcus появлись лишь в сентябрьских профилях, но отсутствовали в майских и июльских (Рис.3.14), позволяет нам оценить порог чувствительности метода ДГГЭ. По данным микроскопирования (Рис. 3.13), в мае доля *Synechococcus* составляла сотые доли процента от общего числа бактерий. В июле доля Synechococcus была около 0.3%, а в сентябре составила более 3%. Таким образом, порог случае чувствительности В нашем составил первые проценты, ЧТО согласуется с выводами других авторов. Известно, что, как правило, на профилях ДГГЭ проявляются лишь те организмы, доля которых составляет не менее 1% от общего количества бактерий в сообществе (Muyser, Smalla, 1998). В нашем случае для Synechococcus мы наблюдаем примерно такой же порог.

Стоит отметить, что для ЗСБ правило 1% порога в нашем случае нарушалось. Например, в майской серии доля ЗСБ на глубинах 5.05 и 5.1 м была около 0.8 и 0.3% соответственно, а на глубине 5.0 – вообще была менее 0.1%. В июльской серии на глубинах 5.05 и 5.15 доля ЗСБ также оценивалась нами как 0.2 и 0.8% соответственно. Тем не менее, полосы ЗСБ четко проявлялись на профилях ДГГЭ в соответствующих образцах. Наиболее вероятное объяснение заключается в том, что значения численности ЗСБ, оцениваемые в отраженном свете, являются заниженными. Действительно, в аутофлуоресценции наблюдали пробах свете ΜЫ В тех же аутофлуоресцирующие клетки, по форме и размеру сходные с различными видами ЗСБ, и их численности превышали значения, полученные в отраженном свете (данные не показаны).

Заметим, численность криптомонад во всех образцах не превышала сотых долей процента, а в большинстве случаев составляла тысячные доли процента от общего числа микроорганизмов (Рис.3.11). Если учесть, что в клетке одной криптомонады содержится только два хлоропласта (Карпов, 2001), количество хлоропластов составляло столь же малую долю в сообществе. Тот факт, что полосы, соответствующие хлоропластам *Сгуртотолаs*, четко проявлялись в профилях ДГГЭ (Рис.3.13), противоречит общему правилу порога чувствительности данного метода. Однако аналогичный результат наблюдался и в других исследованиях. Так, в озере Кисо (Сіso, Испания) полоса криптомонад проявлялась на ДГГЭ-профилях, полученных с использованием бактериальных праймеров, несмотря на то, что доля этих организмов в пробе была порядка 0.001% (Casamayor et al., 2000). По-видимому, порог чувствительности метода ДГГЭ для хлоропластов эукариот существенно ниже.

Судя по данным ДГГЭ, в хемоклине Шунета и Шира доминировали одни и те же гетеротрофные бактерии. Представители обоих родов, *Halomonas u Pseudoalteromonas* (полосы Е и G на Рис. 3.13), являются в основном галотолерантными аэробными формами, однако могут переходить на нитратное дыхание (Определитель бактерий Берджи, 1997). Ближайшие к обнаруженному нами виду родственные виды *Pseudoalteromonas* (Рис. 3.15), были обнаружены в полярных регионах океанов. Один из ближайших видов рода *Halomonas* обнаружен в соленом озере в Китае (DQ395131, Рис. 3.15).

Заслуживает внимания тот факт, что, несмотря на существенное различие условий существования в хемоклине Шира и Шунет, в обоих озерах доминируют одни и те же виды гетеротрофных бактерий, и один и тот же вид ПСБ. Если доминирование гетеротрофов может быть артефактом метода ДГГЭ (Muyser, Smalla, 1998; Overmann et al., 1999), то доминирование одного и того же вида ПСБ подтверждается многими независимыми методами. Отметим, что соленость в исследуемой зоне Шунета была в интервале 35-45 г n^{-1} , а в Шира – около 19 г n^{-1} . Температура в хемоклине Шунета была 11°С, а в Шира – около 2°С. Значения рН также различались – в Шунете это 7.5 – 8, а в Шира – около 8.8. Поток сульфида и освещенность в хемоклине Шунета примерно в 10 и 30 раз выше соответственно, чем в хемоклине Шира (см. Главу 4). Таким образом, совпадение доминант бактериального сообщества в хемоклине двух озер обусловлено какими-то другими факторами, например химическим составом солей, который в обоих озерах сходен.

Применение метода ДГГЭ к хорошо распознаваемым глазом объектам, какими являются, например, ПСБ, Synechococcus и криптомонады, показало, что с универсальными бактериальными праймерами метод дает ту же картину распределения доминирующих качественную видов, что И микроскопия. Следовательно – метод применим и к сравнительным исследованиям сезонной динамики нераспознаваемых глазом видов, какими являются гетеротрофные бактерии. Кроме того, очевидно, что применение более специфичных праймеров, например, к группам фототрофных серных бактерий, позволит более полно выявить динамику видового состава и выявить минорные виды ПСБ и ЗСБ, присутствие которых наблюдается при микроскопировании.

3.7 Микростратификация пурпурных серных бактерий в оз. Шира

В озера Шира с зоне хемоклина помощью вышеописанного многошприцевого батометра были обнаружены скопления ПСБ в виде слоя толщиной несколько сантиметров на верхней границе распространения сероводорода (Рогозин и др., 2005). Впервые наличие вертикальной стратификации ПСБ в оз. Шира было зарегистрировано нами в июле 2002 г. (Рис. 3.16, Рогозин и др., 2005), что послужило основанием для исследований сезонной и межгодовой динамики ПСБ с высоким разрешением по глубине в зоне хемоклина. Характерный порядок численности ПСБ в хемоклине и водной толще оз. Шира 10⁵ кл мл⁻¹, что на два порядка ниже, чем в оз. Шунет. Поэтому «пурпурный» слой не виден невооруженным глазом, и может быть обнаружен лишь при микроскопическом либо пигментном анализе.

Скопления ПСБ в хемоклине были обнаружены как в период открытой воды, так и в подледный период, причем в марте 2007 г. был зарегистрирован абсолютный рекорд численности ПСБ для оз. Шира – 67 × 10⁵ кл мл⁻¹ (Rogozin et al., 2009; Рогозин и др., 2009). В это время наличие ПСБ было

видно невооруженным взглядом по бледно-розовой окраске проб воды в соответствующих шприцах многошприцевого батометра. Причины данной вспышки численности обсуждаются подробно в Главе 4.



Бактерии, 10³ кл/мл

—●— Пурпурные серные бактерии ···△··· Кислород —▲— Сероводород

Рис. 3.16 – Вертикальное распределение ПСБ, кислорода и сероводорода в хемоклине озера Шира 17 июля 2002 г (Рогозин и др., 2005)

Летом 2004 г. было проведено две съемки 1 и 3 августа в одной и той же точке. Было показано, что редокс-зона спустя двое суток переместилась

вверх, и пик ПСБ также переместился примерно на 0.8 м вверх, сохраняя положение вблизи границы раздела «кислород-сероводород» (Рис. 3.17).



ПСБ, 10⁵ кл мл⁻¹

Рис. 3.17 Вертикальные распределения пурпурных серных бактерий, кислорода и сероводорода в хемоклине озера Шира 1 и 3 августа 2004 г.

Регулярные исследования в период 2002-2005 показали, что пурпурные серные бактерии в хемоклине оз. Шира не всегда формируют максимум численности в зоне хемоклина (Приложение). В отличие от оз.Шунет, в

некоторые даты исследований максимальные численности ПСБ наблюдались ниже зоны хемоклина (Приложение), причем какой-либо закономерности в вертикальном распределении нами не выявлено.

Тем самым было продемонстрировано, что положение редокс-зоны в озере Шира может быть непостоянным в интервале порядка одного метра. Причина смещения редокс-зоны может заключаться в движении водных масс. В период между 1 и 3 августа 2004 на озере был сильный ветер и волнение. Возможно, это вызвало внутренние волны, что и привело к смещению градиентов в зоне хемоклина.

Тот факт, что максимум ПСБ остался в редокс-зоне после ее перемещения заслуживает особого внимания. Данное явление возможно либо за счет активного перемещения ПСБ в редокс-зону, либо за счет прироста в этой зоне. Оценим удельную скорость роста, необходимую для формирования нового пика в редокс-зоне только за счет прироста клеток. Исходя из уравнения экспоненциального роста, имеем:

$$\mu = \ln \left(X_t / X_0 \right) / \Delta t,$$

где μ – удельная скорость роста (ч⁻¹), X_t – численность клеток в момент времени t (кл мл⁻¹), X₀ – то же в начальный момент времени, Δt – интервал времени, ч.

Предположим, что все клетки ПСБ, присутствовавшие в хемоклине 1 августа 2004 г. (Рис. 3.17), были равномерно перераспределены в интервале глубин от 14 до 12 м в результате некоторого перемешивания.

Проинтегрировав кривую численности ПСБ для 1 августа (Рис. 3.17), и разделив полученное значение на число 200 (число сантиметров в интервале 2 метра), получаем численность 4×10^5 кл мл⁻¹. Если принять это значение за начальную численность после перемешивания (X₀), то для достижения численности X_t = 16×10^5 кл мл⁻¹, наблюдаемой 3 августа 2004 г. в пике на глубине 12.65 м, клетки должны расти с удельной скоростью $\mu = 0.028$ ч⁻¹ в течение двух суток. Если же учесть, что реальный период роста мог быть меньше двух суток, то скорость роста должна быть еще выше. Из

литературных данных известно, что максимальная удельная скорость роста ПСБ, зарегистрированная в лабораторных культурах при оптимальных условиях, составляет для *Chromatium vinosum* 0.195 ч⁻¹ (Sanchez et al., 1996), для *Thiocapsa roseopersicina* 0.072 ч⁻¹ (De Wit, Van Gemerden, 1990). Однако, известные из литературы зарегистрированные скорости роста в хемоклине меромиктических озер существенно ниже. Например, на верхней границе «пурпурного слоя» озера Махони удельная скорость роста ПСБ *Amoebobacter purpureus* составляла около 0.01 ч⁻¹, а в глубине слоя – значительно меньше -0.0007 ч⁻¹ (Overmann, 1997). При этом следует учесть, что в хемоклине озера Махони освещенность на порядок выше, чем в хемоклине оз. Шира, а также значительно выше температура (близки к таковым для оз. Шунет) (см.Главу 4), поэтому действительная удельная скорость роста ПСБ в оз.Шира должна быть значительно ниже наших оценок. Следовательно, маловероятно, что пик ПСБ, зарегистрированный 3 августа 2004 года (Рис.3.17), мог сформироваться только за счет прироста клеток в редокс-зоне, где условия обеспечивают наибольшую скорость роста. Второй возможный механизм формирования пика – перемещение клеток в редокс-зону за счет активного изменения состава газовых вакуолей. Данный механизм был показан для характерным способом других озер И является позиционирования фототрофных серных бактерий на оптимальных глубинах (Overmann, 1997). Третий возможный механизм – пассивное перемещение клеток в зону, где плотность воды равна плотности клеток, если после перемешивания распределение плотности воды изменилось. Несмотря на то, что в обе даты профилей проводили измерения вертикальных температуры И кондуктивности, полученных данных недостаточно ДЛЯ выявления изменений профилей плотности. Очевидно, что в реальности все три механизма могли работать на формирование пика численности ПСБ.

Таким образом, наши наблюдения показывают, что в отличие от оз. Шунет, пики ПСБ в хемоклине озера Шира не являются устойчивыми в пространстве, могут исчезать, вновь формироваться и перемещаться в результате гидрофизических процессов в хемоклине. Очевидно, это обусловлено слабыми градиентами плотности и слабой гидрофизической стабильностью в зоне хемоклина. Следовательно, систематический сезонный мониторинг микростратификации ПСБ в хемоклине озера Шира практически невозможен из-за нестационарного характера данного явления.

3.8 Зеленые серные бактерии в озере Шира

В отличие от озера Шунет, в хемоклине озера Шира ни в одну из дат съемок не было зарегистрировано массового развития ЗСБ. Спектрофотометрический анализ ацетоновых экстрактов не выявил в воде присутствия пигментов зеленых серных бактерий в период наших исследований (Пименов и др., 2003; Лунина и др., 2007а; Rogozin et al., 2009), поэтому мы считаем ЗСБ минорной группой в данном озере.

Другие авторы указывают на присутствие ЗСБ в озере Шира, в частности Заворуевым и Зотиной отмечалось наличие Бхл *с* в воде озера в 1998 г. (Заворуев, Зотина, 2002), а Копыловым с соавторами были выявлены ЗСБ при микроскопическом анализе в отраженном свете (Kopylov et al., 2002). Кроме того, ЗСБ *Chlorobium limicola* были выделены в чистую культуру Саввичевым с соавторами из зимних проб воды оз. Шира (Саввичев и др., 2005). Более подробно этот вопрос обсуждается в Главе 4.

Помимо фототрофных серных бактерий, из озера Шира Чиу с соавторами был выделен и охарактеризован штамм гетеротрофных галофильных бактерий AIS^T (номер доступа в GenBank JF922381) (Chiu et al., 2014). Данный штамм был выделен с глубины 21 м на агаровой среде, содержащей пептон и дрожжевой эсктракт и концентрацию солей 5 %. Штамм был определен как новый вид рода *Aliidiomarina* и назван *Aliidiomarina shirensis* sp.nov. Данный вид является аэробным гетеротрофным галофильным видом гамма-протеобактерий, его экология в озере Шира не изучалась (Chiu et al., 2014).

3.9 Микростратификация пурпурных и зеленых серных бактерий в математической модели

Для модельного описания микростратификации фототрофных бактерий, с помощью модели, разработанной в Институте биофизики СО РАН (Degermendzhy et al., 2002; Prokopkin et al., 2010), в уравнение удельной скорости роста ЗСБ была введена константа пороговой концентрации сероводорода, ниже которой рост прекращается. Биологический смысл подобной модификации заключается в том, что облигатно анаэробные микроорганизмы не могут развиваться в микроаэрофильной зоне, которая в соответствует глубине модельных расчетах нулевой концентрации сероводорода на верхней границе сероводородной зоны. В результате микростратификация была получена и в модельных расчетах (Рис.3.18). Расстояние по вертикали между расчетными пиками биомассы ПСБ и ЗСБ на рис. 5 соответствует минимальному шагу модели (40 см).



-О-Пурпурные серные бактерии -О-Зеленые серные бактерии

Рис. 3.17 – Вертикальные распределения биомасс фототрофных серных бактерий в хемоклине меромиктического озера, рассчитанные с помощью математической модели (Рогозин и др., 2010г; Прокопкин и др., 2010; Prokopkin et al., 2010)

3.10 Основные результаты и выводы Главы 3.

- Усовершенствована стандартная конструкция многошприцевого пробоотборника для прецизионного отбора проб. Впервые применен гидравлический привод вместо пневматического, что повышает надежность устройства и делает его эксплуатацию более удобной.
- С помощью многошприцевого пробоотборника впервые выявлено, что в зонах хемоклина озер Шира и Шунет формируются слои повышенной численности пурпурных серных бактерий в интервале глубин порядка нескольких сантиметров.
- Показано, что в хемоклине и монимолимнионе озера Шунет формируются скопления зеленых серных бактерий, преимущественно расположенных ниже слоя пурпурных серных бактерий.
- 4. Из озера Шира выделен в чистую культуру вид пурпурных серных бактерий *Thiocapsa sp.* Shira_1 (Chromatiaceae). Определен состав жирных кислот данного вида. Показано, что данный вид является филогенетически родственным видам, доминирующим в хемоклине других ранее изученных озер.
- 5. С помощью ПЦР/ДГГЭ анализа фрагментов гена 16SpPHK исследована динамика стратификации планктонных популяций в хемоклине озера Шунет в летний период. Как культуральными методами, так и независящим от культивирования методом показано, что вид *Thiocapsa* sp. Shira_1, являлся доминирующим в хемоклине обоих озер в период 2002-2005 гг. Показано, что в период с мая по сентябрь существенных изменений в бактериальном сообществе хемоклина озера Шунет не происходило.
- 6. Показано, что в хемоклине озера Шира слои повышенной численности пурпурных серных бактерий не стабильны, и формируются не всегда.

3.11 Заключение к Главе 3

Нами впервые обнаружено и охарактеризовано явление микростратификации фототрофных серных бактерий и ряда других планктонных микроорганизмов в зонах раздела «кислород-сероводород» в озерах Шира и Шунет. Явление микростратификации фототрофных бактерий в градиентных зонах является обычным, и описано для множества водоемов (см. Главу 1). Однако, данное явление не было известно ранее для исследуемых нами озер, поэтому ценность и новизна результатов, описанных в данной главе, заключается прежде всего в том, что впервые дана характеристика видового состава и фототрофных пространственного распределения серных бактерий И некоторых других планктонных микроорганизмов в неисследованных ранее водоемах. Картина видового состава и микростратификации в целом соответствует представлениям, сформировавшимся в литературе по другим Особенности биоразнообразия, пространственно-временной водоемам. структуры, закономерности функционирования и экологическая роль микробного сообщества хемоклина позволяют рассматривать это сообщество как отдельную малоизученную подсистему в экосистемах меромиктических озер Хакасии, особенно в озере Шунет, которое можно рассматривать как природную лабораторию по изучению закономерностей стратификации микробных популяций.

ГЛАВА 4. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ДИНАМИКА ФОТОТРОФНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В ОЗЕРАХ ШИРА И ШУНЕТ И ЕЕ СВЯЗЬ С ВНЕШНИМИ УСЛОВИЯМИ

4.1 Материалы и методы

Отбор проб. Отбор проб воды численностей ДЛЯ оценки микроорганизмов проводился во время полевых выездов в те же даты, что и измерения физико-химических характеристик (см. Главу 2, Таб. 2.1, 2.2). Отбор проб из зон хемоклина осуществлялся с помощью многошприцевого пробоотборника с гидравлическим управлением, который позволял отбирать одновременно 20 образцов воды объемом по 150 мл через интервал 5 см по глубине (Rogozin, Degermendzhy, 2008; патент РФ № 2244282) (См. Главу 3). Пробы воды с прочих глубин отбирались с помощью стандартных батометров объемом 0.5 и 6 л, либо с помощью вакуумного насоса и погружного шланга с воронкой на конце (диаметр 10 см). До 2008 пробы из Шира отбирали с помощью многошприцевого зоны хемоклина 03. устройства. Начиная с 2007 г. пробы ниже хемоклина отбирались на стандартных глубинах 12, 13, 15, 17, 19, 21, 23 м. В хемоклине озера Шунет многошприцевое устройство применяли во все даты полевых исследований.

Кислород. Концентрация растворенного кислорода в образцах, отобранных многошприцевым пробоотборником, измерялась с помощью титриметрического тест-набора Aquamerck (Merck, Германия). На остальных глубинах концентрация кислорода измерялась датчиком, встроенным в погружные зонды Data-Sonde 4a (Hydrolab, Austin, Texas, USA) или YSI 6600 (Yellow Springs, Ohio, USA). Датчики поверялись перед каждой съемкой и при необходимости калибровались по насыщенной кислородом воде оз. Шира.

Сероводород. Концентрация сероводорода до 5 мг л⁻¹ определялась с помощью колориметрического тест-набора Microquant (Merck, Германия).

При более высоких концентрациях образцы воды, отобранные в пластиковые емкости с переливом и герметично закрытые без пузырька воздуха во избежание контакта с кислородом, фиксировались основным карбонатом цинка, и концентрация сероводорода определялась иодометрическим методом (Волков, Жабина, 1993) в аналитической лаборатории Института биофизики СО РАН.

Свет. Вертикальный профиль подводной освещенности измерялся с помощью сферического погружного сенсора фотосинтетически активной радиации (ФАР) LI-193, подключенного к регистрирующему устройству LI-COR 1400 (LI-COR Ltd., Nevada, США). Параллельно измерялась поверхностная освещенность датчиком падающей фотосинтетически активной радиации (ФАР) (LI-COR Ltd., Nevada, США). Все значения подводной освещенности нормировались на стандартную поверхностную освещенность 1500 μ E м⁻² c⁻¹ (Rogozin et al., 2009). В подледный период измерения проводились через отверстие во льду, закрытое непрозрачным экраном. Для проверки влияния отверстия во льду на подводную освещенность были проведены специальные измерения при открытой и закрытой лунке. Профили различались лишь до глубины 7-8 м. На больших глубинах значения освещенности совпадали, поскольку угловой размер проекции отверстия на сфере датчика мал по сравнению с площадью сферы. Таким образом, наличие даже открытого отверстия размером около 0.5×0.5 м во льду пренебрежимо мало влияет на значения освещенности на глубинах, соответствующих зоне хемоклина в оз. Шира.

Коэффициенты вертикального ослабления света для интервала глубин водной толщи были рассчитаны по профилям ФАР, измеренным для озер Шира и Шунет (Rogozin et al., 2009), по следующей формуле:

$$K_{\rm d} = ({\rm Lg} I_1 - {\rm Lg} I_2) \cdot ({\rm Z}_2 - {\rm Z}_1)^{-1},$$

где K_d – коэффициент вертикального ослабления (м⁻¹) для интервала глубин от Z₁ до Z₂ (Z₂ > Z₁); I_1 – освещенность на глубине Z₁ (мкЕ м⁻² c⁻¹), I_2 освещенность на глубине Z₂ (мкЕ м⁻² c⁻¹); Z_{1,2} – глубины, отсчитываемые от поверхности (м). Коэффициенты вертикального ослабления для льда рассчитывались по этой же формуле, за I_1 принимали значение освещенности, измеренное на уровне поверхности льда, за I_2 – значение освещенности в воде непосредственно подо льдом, за величину (Z₂ – Z₁) принимали толщину льда (Зыков, 2012).

Численности микроорганизмов. Клетки окрашивались флуорохромом DAPI и подсчитывались под флуоресцентным микроскопом как описано в п. 3.1 (Глава 3).

Хлорофилл *а* и бактериохлорофиллы. Концентрации пигментов оценивались спектрофотометрически в ацетоновых экстрактах как описано в п. 3.1. (Глава 3). Кроме этого, концентрация хлорофилла *а* в водной толще оценивалась, начиная с 2007 г., с помощью флуоресцентного датчика, встроенного в погружной многоканальный зонд YSI 6600 (Yellow Springs, Ohio, USA). Нами было показано, что в присутствии пурпурных серных бактерий флуоресцентный сигнал вышеуказанного датчика значительно возрастает (Рогозин и др., 2008). В обоих озерах ниже редокс-зоны значения флуоресценции возрастали за счет вклада фототрофных серных бактерий, поэтому интегральное количество хлорофилла подсчитывалось в интервале глубин только от поверхности до редокс-зоны.

Дистанционная оценка снегового покрова. Для дистанционной оценки характера снегового покрова озера Шира использовались данные космического спектрорадиометра TERRA-MODIS (продукт MOD09A1 получен с <u>http://edcimswww.cr.usgs.gov/pub/imswelcome</u>). Анализировались многоспектральные 8-дневные композитные спутниковые данные с пространственным разрешением 500 м. В данном продукте влияние атмосферы устранено посредством использования стандартного алгоритма

атмосферной коррекции MODIS. Характер снегового покрова оценивали по коэффициенту отражения для длины волны 858 нм, рассчитанному как отношение отраженной радиации к падающей, умноженное на 100% (Rogozin et al., 2009). Выбор длины волны обусловлен тем, что на данной длине волны был получен наилучший контраст между чистой поверхностью льда и покрытой сплошным снегом в спектрах отражения. Контраст объясняется тем, что максимальное отражение снега наблюдается в видимом диапазоне, а максимум поглощения воды и чистого льда – в ближнем инфракрасном (Hall et al., 2002). Поверхность озера Шира вмещала 162 пикселя масштабом 500×500 м каждый. Коэффициент отражения рассчитывали для каждого пикселя, затем усредняли по всей площади. В большинстве случаев стандартное отклонение не превышало 15 %. Дистанционная оценка снегового покрова для озера Шунет была невозможна из-за малой площади озера (Rogozin et al., 2009). Анализ спутниковых данных осуществлялся сотрудником Института биофизики СО РАН Чернецким М.Ю.

Оценка седиментационных процессов. В 2009 г. в озере Шунет оценивали скорость седиментации пурпурных серных бактерий с помощью седиментационных ловушек. Ловушки представляли собой пластиковые цилиндры, открытые с верхнего конца, размещенные на глубинах 5.2 м, 5.5 м и 6 м на жесткой металлической раме в виде этажерки. Ловушки располагались таким образом, чтобы верхние цилиндры не перекрывали нижние. На каждой глубине экспонировалось по четыре ловушкис 3 по 26 июля (23 суток). В озере Шира ловушки представляли собой пластиковые цилиндры диаметром 7 см и длиной 40 см. Ловушки позиционировались на трех горизонтах: непосредственно под хемоклином, вблизи дна, и между этими глубинами. Для оз. Шира вышеуказанные горизонты составили 17.5 м, 20 м и 22.5 м. На каждом горизонте экспонировалось по три ловушки в течение 57 суток. В обоих озерах ловушки размещали вблизи точек стандартного отбора (см. Главу 2). После экспозиции концентрация клеток ПСБ в каждой из ловушек подсчитывалась двумя методами: 1) прямым счетом на поликарбонатных фильтрах под флуоресцентным микроскопом с помощью окрашивания флуорохромом DAPI, и 2) по концентрации бактериохлорофилла *а* в ловушке, как описано выше. Значения численности и концентрации сравнивалась с соответствующими значениями в воде на соответствующих горизонтах. Скорость оседания клеток (см сут⁻¹) оценивалась по формуле:

$$\nu = \frac{\Delta X}{X^0} \left(\frac{V}{S}\right) \frac{1}{\Delta t}$$

где ΔX – концентрация бактерий в ловушке (кл мл⁻¹), X^0 - концентрация бактерий в воде на той же глубине (кл мл⁻¹), V – объем ловушки (см³), на S – площадь ловушки (см²), Δt –время экспозиции ловушек в озере (сут) (Pedros-Alio et al., 1989). Величина X^0 измерялась дважды - в начале и в конце экспозиции, значения были близки, поэтому в расчетах использовали средние значения.

В 2012 и 2013 гг. осуществляли круглогодичный ежесезонный мониторинг седиментационных потоков бактериохлорофилла а, хлорофилла а, органического и неорганического углерода и общего азота, а также элементного и минералогического состава осадочного материала (см. Главу 7). Седиментационные ловушки представляли собой открытые с верхнего конца полипропиленовые цилиндры длиной 580 мм, диаметром 103 мм с прозрачным днищем из плексигласа. Ловушки экспонировались в центральной глубоководной части озера вблизи точки с координатами 54°30'350 СШ 90°11'350 ВД.

Ловушки размещались на одном капроновом шнуре, установленном на якоре, с буем на верхнем конце для придания шнуру вертикального положения. Буй распролагался на глубине 2-3 м от поверхности воды для снижения воздействия волн, а также во избежание замораживания в лед. В

периоды открытой воды к бую с помощью тонкого шнура крепился дополнительный сигнальный буёк объемом 1.5 л, плавающий на поверхности и служащий для обнаружения ловушек. В подледный период ловушки экспонировались без сигнального буйка, а в мае извлекались методом траления. В период Март-Май 2012 ловушки размещались на горизонтах 15 и 20 м, в остальные периоды – на горизонтах 13, 15 и 20 м. На каждом горизонте располагали по две ловушки, полученные данные для каждого горизонта усредняли.

Даты постановки и снятия ловушек в 2012 и 2013 были примерно одинаковыми (Таб. 4.1).

Таблица 4.1 – Периоды экспонирования седиментационных ловушек в озере Шира

2012 г.	2013 г.			
14 марта – 27 мая	16 марта – 31 мая			
26 мая – 7 июля	31 мая – 8 июля			
8 июля – 4 сентября	10 июля – 3 сентября			
4 сентября – 24 октября	4 сентября – 23 октября			
24 октября 2012 – 31 мая 2013				

В марте 2013, из-за ледового покрова, невозможно было извлечь ловушку, поставленную в октябре 2012. Поэтому количество осадочных компонентов, накопленных в период с октября по март (Рис. 4.4) рассчитывали вычитанием значений, полученных для ловушек, экспонировавшихся с марта 2013 по май 2013 из значений, полученных для ловушек, экспонировавшихся с октября 2012 по май 2013.

После извлечения из воды и транспортировки на берег ловушки выдерживали в вертикальном положении 4 часа, затем сливали верхнюю часть воды через сливные отверстия, расположенные на уровне 100 мм от дна. Остаток тщательно размешивали в оставшемся объеме воды, равном 900 мл, полученную суспензию переливали в пластиковые емкости и герметично закрывали без пузырька воздуха.

оценки углерода и азота определенный объем Для суспензии фильтровали через стекловолоконные фильтры GF/F (Whatman) с диаметром пор 0.2 мкм. Для оценки хлорофилла а и бактериохлорофилла а – фильтровали через нитроцеллулозные мембранные фильтры с диаметром пор 0.2 мкм (Владипор, Россия), на которые предварительно наносили слой ВаСО₃ толщиной около 1 мм. Все фильтры высушивали при комнатной температуре в темноте, и хранили в темноте при - 4 °С до обработки. хлорофилла а бактериохлорофилла а Концентрацию И определяли спектрофотометрически в ацетоновых экстрактах, как описано выше (Рогозин и др., 2010).

Концентрацию углерода определяли на CN – элементном анализаторе FlashEA 1112 NC Soil/MAS 200 (Neolab LLC, USA). Предварительно фильтры разрезали пополам, одну половину выдерживали в течении 2 ч в 0.1 М р-ре HCl при 60 °C для удаления нерастворимых карбонатных минералов (Tiliander et al., 2006), затем прополаскивали водой и высушивали при комнатной температуре. Углерод, измеренный на половинках фильтров, обработанных образом, вышеуказанным интерпретировали как органический углерод (Сорг). Углерод на половинках, не подвергнутых вышеуказанной обработке, интерпретировали как сумму органического и неорганического углерода $(C_{\text{CVMM}}).$ Соответственно, количество неорганического углерода рассчитывали как $C_{\text{неорг}} = C_{\text{сумм}} - C_{\text{орг}}$ (Tylmann et al., 2012). Азот учитывали только для необработанных кислотой половинок фильтров. Одновременно с ловушками все вышеуказанные характеристики измерялись в образцах воды, отобранных с тех же горизонтов и обработанных аналогично материалу ловушек. Анализы содержания углерода и азота осуществлялись сотрудником Института биофизики СО РАН Колмаковой А.А.

Скорости ассимиляции углерода. Скорость темновой и световой ассимиляции неорганического углерода измерялась в 2004 г. радиоизотопным методом с использованием NaH¹⁴CO₃ по стандартной методике (Лунина и др., 2007 а), см. также Главу 5.

Статистический анализ. Анализ влияния внешних факторов на динамику ПСБ проводили методом канонического корреляционного анализа с использованием пакета STATISTICA 7.0.

4.2 Пространственная динамика численности пурпурных серных бактерий в оз. Шира

4.2.1 Сравнение микроскопического и спектрофотометрического методов оценки численностей ПСБ в оз. Шира

Поскольку метод визуального микроскопического подсчета морфологически схожих клеток не является абсолютно надежным для оценки численности конкретной группы микроорганизмов, следует параллельно с микроскопией использовать другие независимые методы, в нашем случае – это пигментный анализ. В целом, профили концентраций Бхл а были качественно схожи с профилями численностей ПСБ, и пики обоих величин совпадали по глубине для всех дат, когда проводились одновременно подсчет численностей и измерения Бхл а (Приложение). Однако, линейная аппроксимация зависимости численности от концентрации Бхл а в клетке была не всегда удовлетворительной (Рис. 4.1). Это могло быть вызвано как систематическим недоучетом Бхл *а* – содержащих клеток при подсчете, так и реальной ситуацией В озере – деструкцией, лизисом клеток, с высвобождением Бхл а в воду и т.п. (Зыков, 2012).

В работе Зыкова было показано, что теоретическое среднее содержание Бхл *а* на клетку, рассчитанное как отношение количества Бхл *а* к числу клеток в одном объеме, различалось как по сезонам, так и по глубинам, по сезонам (Зыков, 2012). Следовательно, концентрация Бхл *а* не может служить

точной характеристикой численности ПСБ, тем более, что кроме ПСБ в обоих озерах существуют минорные виды несерных пурпурных бактерий, которые также содержат Бхл a (Лунина и др., 2007а, б), но при подсчетах нами не учитывались. Кроме того, оценка среднего содержания правомерна только при условии, что содержание пигмента в клетках популяции подчиняется нормальному распределению, т.е. стремится к постоянной величине. В действительности это может быть не так, если часть популяции содержит большое количество Бхл a, а другая часть – очень малое (Зыков, 2012).



Рис. 4.1 – Корреляция между численностью клеток пурпурных серных бактерий и концентрацией бактериохлорофилла *а* в воде озера Шира (из Зыков, 2012)

Для грубой оценки порядка численности ПСБ Зыковым была предложена нижеследующая приближенная формула пересчета концентрации Бхл *а* в численность ПСБ:

ПСБ (10⁵ кл мл⁻¹) =
$$k \times Б$$
хл а (мкг л⁻¹),

где значения коэффициента k составили (0.39 ± 0.22) для озера Шира и (0.75 ± 0.45) для озера Шунет (Зыков, 2012).

В период 2010-2013 гг. вертикальные распределения клеток ПСБ, морфологически схожих с Thiocapsa sp. Shira 1, также положительно коррелировали с вертикальными распределениями концентрации Бхл a (r^2 = 0.97 – 0.63) (на рисунках не показано). Отношение концентрации Бхл а к численности ПСБ варьировало как по глубине, так и по сезонам, однако в целом за весь период исследований между интегральными значениями численности ПСБ, и интегральным содержанием Бхл а в воде наблюдалась значимая положительная корреляция (п. 4.2.2, Рис. 4.4). Следовательно, как прямой подсчет по морфологическим признакам, так И спектрофометрический анализ Бхл а количественно характеризуют биомассу ПСБ в озерах, что повышает надежность выводов относительно динамики ПСБ в данной работе.

4.2.2 Многолетняя динамика пурпурных серных бактерий в оз. Шира: натурные данные

В озере Шира характерные численности ПСБ во все сезоны варьировали в диапазоне порядков $10^4 - 10^6$ кл мл⁻¹ (Рис. 4.2, Приложение). Все измеренные вертикальные профили ПСБ, а также кислорода и сероводорода приведены в Приложении. В период 2002-2005 гг. основное внимание было направлено на изучение тонкой микростратификации в зоне хемоклина (Рогозин и др., 2005), поэтому профили численностей ПСБ во всей водной толще для этого периода не измерялись, за исключением марта 2005 г. (Рис. 4.2). В Главе 3 было показано, что в зоне хемоклина

ПСБ, формируются повышенные численности причем максимум численности расположен в интервале глубин порядка 10 см (см. Главу 3). В летнее время выраженные пики численностей ПСБ были зарегистрированы в хемоклине озера Шира в 2002, 2004, 2005 гг (Рис. 4.2). Наибольшая летняя численность была зарегистрирована в августе 2004 г. и составила порядка 6×10⁶ кл мл⁻¹. В подледный период также обнаруживались повышенные численности ПСБ в узком интервале глубин 2007 и 2008 гг (Рис. 4.2, Приложение), причем численность, зарегистрированная в марте 2007 – около 7×10^{6} кл мл⁻¹ – является максимальной из зарегистрированных в озере, и превышает летние значения (Рогозин и др., 2009; Rogozin et al., 2009). Однако, не всегда ПСБ формировали скопления в зоне хемоклина. Во многих случаях повышенные численности в редокс-зоне не были обнаружены даже с помощью высокоразрешающего отбора проб (Приложение).

Летом 2004 и в мае 2005 было показано, что распределения ПСБ и граница редокс-зоны могут смещаться в интервале глубины около 1 м в течение суток (см. Главу 3). Следовательно, можно считать, что применение высокоразрешающего отбора проб при мониторинге биомассы ПСБ в хемоклине озера Шира неоправданно, поскольку наличие тонких слоев ПСБ в редокс-зоне не является гарантированно устойчивым, по крайней мере, в период открытой воды, вероятно из-за движения водных масс зоне хемоклина, которое нарушает распределения ПСБ. Поэтому, начиная с лета 2008 многошприцевой пробоотборник Г., применяли ΜЫ не при ПСБ, исследованиях вертикальных распределений ограничиваясь стандартным отбором через интервал 1-2 м с помощью батометра (Приложение).

212



Рис. 4.2 – Вертикальные распределения численности пурпурных серных бактерий в центре озера Шира в период 2002-2013 гг. Пунктиром показана редокс-зона. Даты биосъемок показаны вертикальными линиями. Белым фоном выделены участки, где данные отсутствуют (из Зыков, 2012)

Таким ПСБ образом, динамика озере Шира быть В может проанализирована только для периода 2007-2013, когда пробы отбирались на стандартных глубинах по всей вертикали (см. п.4.1). Как видно из суммарных интегрированных по глубине количеств под кв. метром, динамика Бхл а в общих чертах совпадала с динамикой численности (Рис. 4.5 а,б). Между этими величинами наблюдалась значимая положительная корреляция (r^2 = 0.56, n=12, P < 0.01). Поэтому в дальнейшем мы будем анализировать динамику ПСБ, используя только значения численности. За исследуемый период, как для величин интегральной численности, так и для вертикальных распределений ПСБ, не было выявлено четко выраженной ежегодно повторяющейся сезонной динамики, зато наблюдались заметные межгодовые различия (Рис. 4.2, 4.4). В 2007 г количество ПСБ в озере было максимальным, затем наблюдался спад численности с минимумом в 2010 г., затем нарастание с максимумом в 2012 г., и снова спад в 2013г (Рис. 4.2, 4.4). Спад продукции ПСБ в 2013 г. дополнительно подтверждается анализом седиментационного материала: количество БХл а в седиментационных ловушках в 2013 г была заметно ниже, чем в 2012 (Рис. 4.3).



Рис. 4.3 – Седиментационные потоки в оз. Шира в 2012 г и 2013 г., оцененные с помошью седиментационных ловушек, размещенных на глубинах 13, 15 и 20 м: А – углерод органический; Б – углерод неорганический (карбонаты); В – азот ; Г – хлорофилл *a*; Д – бактериохлорофилл *a*



Рис. 4.4 – Динамика характеристик в центральной части озера Шира: **А** – количество клеток ПСБ под кв. м; Б – количество Бхл а под кв. м; **В** – количество сероводорода под кв. м; **Г** - температура в зоне хемоклина

Дата	Лед	Толщина	Позиция	ΦΑΡ	Температура в	Суммарное
	(см)	снега	редокс-зоны	в редокс-зоне	редокс-зоне,	количество
		(см)	(M)	(µЕ м ⁻² с ⁻¹)	°C	снегаб
						(см*сут)
24.02.03	100	12 ⁶	15.3	0.2 (1.64)	-0.3	70
18 02 04	100	2	11.3	_	16	_
10.02.04	100	2	11.5	_	1.0	_
11.03.05	63	20	11.3	-	0.5	1205
12.03.07	77	0	13.0	4.9	1.2	30
16.02.08	85	4	15.9	0.18	0.3	140
22.03.08	90	0	15.8	1.5 (1.98 ²)	0.3	140
12.03.09	102	5	15.7	0.05 (0.62)	-0.17	205
31.03.10	130	0	13.0	2.8	-0.5	208
19.03.11	101	10	11.8	-	-0.4	640
14.03.12	50	30	11.9	0.06	0.16	1830
16.03.13	101	0	14.2	1.64	-0.44	205

Таблица 4.2 – Характеристики озера Шира в подледный период

^{*а*} Значения Φ АР нормированы на стандартную освещенность на поверхности 1500 μ E м⁻²

 c^{-1} (в скобках приведены летние значения для соответствующих лет из Rogozin et al., 2009).

⁶Подсчитано для периода от начала ледостава до середины марта.

^в Снежный покров чередовался с чистыми участками льда, занимавшими ок. 50% площади озера

²Измерено в августе 2006.
Таблица 4.3 – Коэффициенты корреляции между характеристиками озера Шира и количеством ПСБ для всех дат съемок за период 2005-2013 гг. В числителе – для подледных периодов, в знаменателе – для периодов открытой воды

Величина	Количество ПСБ под кв.м	Температура в редокс-зоне	ФАР в редокс- зоне	Кондук- тивность при 25 С°	Положе -ние редокс- зоны	Н ₂ S под кв. м	Толщи- на снега
Температ ура в редокс- зоне	<u>+0.92*</u> +0.81*	1					
ФАР в редокс- зоне	+0.53	+0.45	1				
Кондук- тивность при 25 С°	<u>-0.88*</u> -0.81*	<u>-0.93*</u> -0.78*	-0.28	1			
Позиция редокс- зоны	<u>+0.09</u> -0.01	<u>-0.02</u> -0.40	-0.35	<u>-0.29</u> +0.15	1		
H ₂ S под кв. м	+0.07 + 0.84 *	<u>-0.23</u> + 0.66 **	-0.14	<u>+0.06</u> - 0.66 **	<u>+0.67</u> -0.31	1	
Толщина снега ^б	-0.20	-0.12	-0.50 ^a	+0.56	-0.69	-0.74	1
Лед	-0.19	-0.54	+0.21	+0.84**	+0.32	+0.51	-0.69**

* Значимы для P < 0.01, ** Значимы для P < 0.05, прочие корреляции не значимы.

^а Освещенность измерялась только для подледных периодов.

⁶ Толщина снега в день полевых измерений[.]

4.2.3 Анализ факторов, влияющих на динамику пурпурных серных бактерий в оз. Шира

Анализ влияния внешних факторов на ПСБ проводили отдельно для подледных периодов и периодов открытой воды, поскольку эти периоды существенно различаются по условиям освещенности, а достаточное количество измерений интенсивности света имеется только для подледных периодов. Из общего массива натурных данных, приведенных на Рис. 4.4, для корреляционного и статистического анализа были отобраны только те даты, для которых имелись измерения всех независимых переменных (Таб. 4.4). Исключение составляет хлорофилл, поскольку после мая 2013 г. его не измеряли (флуоресцентный датчик вышел из строя). Между температурой воды и кондуктивностью при постоянной температуре (K_{25} , индикатор солености) была выявлена сильная отрицательная корреляция для обоих периодов (Таб. 4.3, 4.5, 4.8), поэтому кондуктивность была исключена из списка объясняющих факторов как фактор, тесно связанный с температурой (см. далее в Обсуждении).

Период открытой воды. Для оценки влияния каждого фактора был применен метод канонического корреляционного анализа. В случае, когда есть одна зависимая переменная, данный метод является аналогом множественной линейной регрессии. Единственный канонический корень, он же уравнение множественной регрессии, был статистически значим (p<0.05) (Таб.4.6). Силу воздействия отдельного фактора на ПСБ можно оценить по корреляции между его значениями со значением ПСБ, рассчитанным по регрессии. В терминах канонического корреляционного анализа данная величина является канонической нагрузкой, а ее квадрат отражает долю извлеченной дисперсии, объясняемой каждой переменной.

Таким образом, температура и сероводород объясняли около 91 % и 74% извлеченной дисперсии, соответственно, тогда как глубина расположения хемоклина влияла существенно меньше (48%), а хлорофилла *а* практически не влиял (Таб.4.6). Тем не менее, между сероводородом, температурой в редокс-зоне и глубиной редокс-зоны имеются достаточно высокие парные корреляции (Таб. 4.5), поэтому эти факторы нельзя рассматривать как независимые при спецификации модели. Наиболее высокое качество аппроксимации (p = 0.003) было получено после того, как факторы глубины и хлорофилла были исключены из модели, как избыточные. В этом случае доли объясненной дисперсии составили 80 % и 79 % для температуры и сероводорода, соответственно.

Таблица 4.4 – Характеристики озера Шира в период открытой воды

Даты съемок	Переменные							
	ПСБ в	Т	H_2S ,	Глубина	K ₂₅	Хл а		
	водной	в редокс-	Γ М ⁻²	редокс-	В	в водной		
	толще	зоне,		зоны,	редокс-зоне,	толще,		
	10 ⁹ кл м ⁻²	°C		М	мСименс см	мг м-2		
					1			
Июнь 2007	67	7.82	152	11.9	18.87	155		
Июль 2007	116	7.99	283	12.8	19.45	71.49		
Июль 2008	16.7	1.67	162	13.95	21.08	61.08		
Май 2009	8.6	0.8	56	15.55	21.97	57.81		
Июль 2010	8.9	-0.2	74.5	14.3	22.36	94.45		
Сентябрь 2012	43	3.5	175	11.8	21.21	20.99		
Октябрь 2012	37	4.5	187	13.4	20.28	80.55		
Май 2013	19	0.13	168	14.2	22.29	95.42		
Сентябрь 2013	16.8	2.45	63.48	12.2	22	-		
Май 2014	2.4	1.6	31.5	15.7	21.56	-		
Июль 2014	4.2	3.7	45	13.8	20.82	-		

Таблица 4.5 – Коэффициенты парной корреляции между характеристиками оз. Шира в период открытой воды (Таб.1). Выделенные корреляции значимы для р < 0.05. Для хлорофилла n = 8, для прочих переменных n = 11. Обозначения как в Таб. 4.4

Переменная	ПСБ	Т	H_2S	Глубина	K ₂₅
Т	0.85	1			
H_2S	0.84	0.59	1		
Глубина	-0.59	-0.64	-0.51	1	
K ₂₅	-0.77	-0.96	-0.57	0.52	1
Хл а	0.15	0.31	-0.07	-0.13	-0.4

Таблица 4.6 – Результаты канонического корреляционного анализа для периодов открытой воды

		Независимые переменные		Зависимая переменная
				(ПСБ)
Извлеченная дисперси	я, %	53.9		100
Избыточность, %		49		90.8
Число съемок		8		8
	$R^2 = 0.90$	8 $\chi^2(4) = 9.55$	p =	0.049
Фактор	Каноническ	ая нагрузка	Доля объясненной дисперсии, %	
Т		0.95	91	
H_2S		0.86	74	
Глубина		- 0.69		47
Хл а		-0.16	0.02	

Подледные периоды. Для подледных периодов, помимо вышеописанных факторов, анализировались также факторы, потенциально влияющие на количество света, а именно: толщина снега и льда, измеренные в момент съемки, а также суммарное количество снега за зиму. Кроме того, в анализ была включена собственно освещенность в редокс-зоне в момент съемки. Все анализируемые данные приведены в Таб. 4.7

Даты		Переменные								
съемок	ПСБ	Т	H_2S	на	<i>K</i> ₂₅	Хл а	Лёд	Снег,	Снег	
				ıyби			СМ		сумм.,	ΦAP,
				Γ_{J}				СМ	см сут	μЕ м ⁻² с ⁻
										1
Март 2007	77	1.17	158	13.2	20.1	25.3	77	0	30	4.9
Февраль	44	0.31	195	15.9	20.4	36	85	4	140	0.18
2008										
Март 2008	41	0.29	225	15.8	21	28.1	90	0	140	1.5
Март 2009	18	-0.17	143	15.7	22	36.8	102	5	205	0.05
Март 2011	7.5	-0.4	144	11.8	22.2	28.2	101	10	640	0.05
Март 2013	31	-0.44	232	14.2	22.3	63.6	101	0	205	1.64

Таблица 4.7 – Характеристики озера Шира в подледный период

Значимые парные корреляции были выявлены между ПСБ, толщиной льда, кондуктивностью и количеством света (Таб. 4.8). Как уже говорилось выше, кондуктивность сильно анти-коррелирует с температурой В хемоклине, поэтому была исключена как дублирующий фактор. Толщина льда также была исключена, как фактор, влияющий на количество света, и сильно анти-коррелирующий с температурой. Малое количество съемок не позволяет достоверно оценить вклад всех потенциально объясняющих факторов. Корреляция с хлорофиллом была слабой, поэтому данный фактор также был исключен из рассмотрения. Количество съемок было достаточным лишь для оценки влияния трех факторов, поэтому были выбраны наиболее температура, сероводород И освещенность в качестве физиологически важных для ПСБ. Как и для летнего периода, наиболее влиятельным фактором оказалась температура, вторым по степени влияния был свет. В отличие от периода открытой воды, сероводород слабо влиял на количество ПСБ (Таб. 4.9). Таким образом, можно предполагать, что в период открытой воды ПСБ были в большей степени лимитированы сероводородом, тогда как в подледные периоды светом.

Таблица 4.8 – Коэффициенты парной корреляции между характеристиками оз. Шира в подледный период (Таб.4). Выделенные корреляции значимы для р < 0.05. Обозначения как в Таб. 4

Переменная	ПСБ	Т	H_2S	Глуб.	Снег	Лёд	K ₂₅	Снег	ΦΑΡ
								сумм.	
Т	0.93	1							
H ₂ S	0.18	-0.1	1						
Глубина	0.1	0.07	0.44	1					
Снег	-0.72	-0.49	-0.67	-0.42	1				
Лёд	-0.92	-0.96	-0.05	-0.09	0.48	1			
K ₂₅	-0.86	-0.93	-0.04	-0.25	0.42	0.98	1		
Снег сумм.	-0.8	-0.67	-0.38	-0.62	0.86	0.64	0.66	1	
ΦΑΡ	0.87	0.78	0.06	-0.27	-0.66	-0.7	-0.55	-0.57	1
Хл а	-0.23	-0.56	0.55	0.15	-0.28	0.49	0.54	-0.07	-0.17

Таблица 4.9 – Результаты множественного регрессионного анализа для подледных периодов

		Независимые переменные		Зависимая переменная
				(ПСБ)
Извлеченная дисперсия	57		100	
Избыточность, %	55		97	
Число съемок		6		6
	$R^2 = 0.96$	$5 \qquad \chi^2 (3) = 8.58$	p = (0.035
Фактор	Каноническа	ая нагрузка	Доля объясненной дисперсии, %	
Т	0.94			89
H_2S		0.18		3
ΦΑΡ		0.89	78	

Обсуждение факторов, контролирующих динамику ПСБ. Статистический анализ показал, что количество хлорофилла *а* в водной толще миксолимниона не оказывало влияния на количество ПСБ в озере. Следовательно, эффект затенения ПСБ вышерасположенным фитопланктоном в наших исследованиях достоверно не был выявлен.

Отсутствие влияния сероводорода на ПСБ в зимнее время косвенно свидетельствует о том, что в подледные периоды рост ПСБ сдерживается скорее недостатком света, чем сероводородом, тогда как в открытые периоды может быть обратная ситуация (Overmann et al., 1993). Не исключено, что положительная корреляция между сероводородом и температурой в теплое бактериальной время года может быть следствием усиления сульфатредукции температуры верхних при повышении В слоях монимолимниона.

Измерения ФАР в период открытой воды проводились в 2003, 2006 и 2009, причем июльские значения ФАР в хемоклине были меньше, чем при отсутствии снега на льду (сравнить март 2007, февраль 2008, март 2010 в Таб. 4.2). Данное явление объясняется повышением коэффициента вертикального ослабления (снижением прозрачности) водной толщи миксолимниона в теплый период (Rogozin et al., 2009), как будет показано ниже (п. 4.5).

Оценить межгодовые вариации количества света, проникающего под лед, практически невозможно из-за сильно варьирующей поглощающей способности снега. Коэффициент вертикального ослабления K_d для снега варьировал от 3.8 до 35 м⁻¹. Следовательно, даже при наличии данных о динамике снегового покрова, неопределенность в оценках количества света, проникающего сквозь снег, слишком велика. Однако явно выделялись зимы 2006-2007 гг, когда снег полностью отсутствовал почти все время, и 2011-2012, когда всю зиму лежал толстый слой снега (Таб. 4.2, Рис. 2.7). При отсутствии снега на льду мартовские значения освещенности в хемоклине в 2007 г. превышали летние значения, а в 2007 и 2010 гг – были сравнимы с летними (Таб. 4.2). Более подробно освещенность в подледный период будет рассмотрена ниже (п.4.5).

Для периодов открытой воды оценка освещенности затруднена из-за неустойчивого положения хемоклина и поглощения света фитопланктоном.

223

Предполагая, что численность ПСБ подо льдом должна зависеть от суммарного количества света, следовало бы ожидать, что численность ПСБ в марте 2012 будет наименьшей из-за рекордного количества снега в течение всей зимы (Рис.2.7 а, Таб. 4.2). Однако, этого не наблюдалось, и численность не была достоверно ниже, чем в большинстве лет (Рис.4.5). В статистический анализ данные марта 2012 г. не были включены, т.к. для этой даты не делались измерения сероводорода. В марте 2007 г., когда снег отсутствовал в течение всего предыдущего подледного периода, численность ПСБ была высокой (Рис. 4.4, Таб. 4.2., 4.7). В 2010 г. наблюдалась противоположная картина – при отсутствии снега на льду и высоком расположении хемоклина количество ПСБ было минимальным, несмотря на высокую освещенность (Рис. 4.4, Таб. 4.2). Вероятно, в эту зиму сработали другие факторы, в частности, низкая температура и глубокое перемешивание в зоне хемоклина.

В целом, наблюдается заметная отрицательная корреляция между ПСБ и толщиной снега (Таб. 4.8). Сравнение зимних и летних значений ФАР в хемоклине позволяет заключить, что как в период открытой воды, так и в подледный период, ПСБ в оз. Шира могут быть лимитированы светом. Как было показано других меромиктических озер, глубоком для при происходит выброс биогенных перемешивании элементов ИЗ монимолимниона в фотическую зону. Поступление биогенов стимулирует фитопланктона, в результате снижается количество света, цветение проникающего в зону хемоклина (Melack, Jellison, 1998). Не исключено, что подобное явление имело место в озере Шира в 2007 г., когда наблюдалось наиболее глубокое весеннее перемешивание миксолимниона (Глава 2), а количество хлорофилла а в миксолимнионе было наибольшим (Таб. 4.4).

Между температурой в хемоклине и ПСБ наблюдалась значимая положительная корреляция (Таб. 4.3, 4.5, 4.8) как в подледные периоды, так и в периоды открытой воды. Наибольшая температура наблюдалась летом 2007, около +8 °C, и наименьшая – зимой 2003, 2010 и 2012 (-0.5 °C), причем в 2003 и 2010 г. температура оставалась отрицательной даже летом (Рис. 4.4

г). Температура в зоне хемоклина закономерно возрастала в течение года от минимальной в марте до максимальной летом и осенью (Рис. 4.4 г).

Отрицательная корреляция температуры С электропроводностью (Таб. 4.8) (кондуктивностью) 4.3. 4.5. объясняется очевидно перемешиванием. Как было показано в Главе 2, во время весеннего перемешивания теплые и менее соленые воды эпилиминона опускаются вниз и смешиваются, повышая температуру и снижая кондуктивность в зоне хемоклина (примеры – июль 2007 и 2012) (Рис. 2.13, п.2.9). И наоборот, при глубоком зимнем перемешивании (термогалинной конвекции) происходит снижение температуры и повышение солености в миксолимнионе и зоне хемоклина (Рис. 2.8, п.2.9). В результате следующим летом усиливается летняя стратификация, поэтому низкая температура под эпилимнионом сохраняется в течение следующего лета (пример июль 2003, 2010 на Рис. 2.8, 4.4). Суммарный теплозапас монимолимниона и придонная температура демонстрировали синхронную с перемешиванием динамику (Рис. 2.16, 2.24). Резкое повышение придонной температуры летом и осенью 2007 г. очевидно обусловлено перемешиванием (Рис.2.16), глубоким весенним как обсуждалось в Главе 2. Наличие значимой отрицательной корреляции придонной температуры с кондуктивностью в период 2007 - 2013 гг. (r = -0.66, n = 30, p<0.01) свидетельствует, по-видимому, о наличии частичного перемешивания придонных слоев с вышележащими менее солеными слоями.

Поскольку температура не является независимым фактором, нельзя утверждать, что она напрямую влияет на продукцию ПСБ, однако такое влияние возможно. По экспериментальным данным Паркера, удельная скорость роста культуры *Lamprocystis roseopersicina* возрастала в 1.3 раза при повышении температуры от 0 до +5, и снижалась при +15 °C (Parker et al., 1983). Однако отсутствуют экспериментальные данные для отрицательных температур, а также неизвестен более точный оптимум температуры. Кроме того, эксперименты проводили при высокой интенсивности света 200 люкс, каковой не бывает в хемоклине озера. Таким образом, в наблюдаемом диапазоне изменений температуры от -0.5 °C до +8 °C скорость роста ПСБ могла изменяться, вызывая наблюдаемые изменения численности ПСБ (Рис.4.4).

Между численностью ПСБ и кондуктивностью, корректированной на 25 °C (K_{25}) наблюдалась значимая отрицательная корреляция (r = -0.88, p< 0.01, Таб.4.3, 4.5, 4.8). Однако диапазон вариаций кондуктивности был незначительным, от 20.1 до 22.4 мСименс см⁻¹, что соответствует диапазону солености 16.8 – 18.8 г л⁻¹. В хемоклине наблюдалась значимая отрицательная корреляция между кондуктивностью и температурой во все периоды (Таб. 4.3, 4.5, 4.8). На Рис. 2.16 видно, что изменения обоих факторов в хемоклине были практически синхронными, и очевидно, являются следствием процессов перемешивания водных масс. Таким образом, кондуктивность является зависимым фактором, изменяясь в малых пределах синхронно с температурой при перемешивании воды с различной соленостью. В наблюдаемом диапазоне (16-18 г л⁻¹) ПСБ вряд ли чувствительны к изменениям солености, однако мы не располагаем экспериментальными данными по исследованию зависимости удельной скорости роста ПСБ от солености в данном диапазоне.

Глубина расположения редокс-зоны (хемоклина) варьировала в пределах от 11.3 м (июль 2009) до 15.8 м (февраль 2008), и в подледный период точно совпадала с глубиной конвективного слоя, за исключением 2010 г. В 2010 г. сероводород поднялся значительно выше за счет конвективных процессов при глубоком перемешивании (п. 2.6, Рис. 2.8). Наиболее глубокие миксолимнионы наблюдались зимой 2008 и 2009 гг (15.5, 15.7 м), (см.Главу 2, п. 2.6).

Очевидно, что количество света в хемоклине при прочих равных условиях зависит от глубины расположения хемоклина. Температура в хемоклине значимо отрицательно коррелировала с его расположением в периоды открытой воды, и практически не коррелировала в подледные периоды. Слабая положительная корреляция между интегральным количеством ПСБ и глубиной расположения хемоклина наблюдалась только в периоды открытой воды, в подледный период ее практически не было (Таб. 4.3, 4.5, 4.7).

Оптимум pH для лабораторной культуры *Lamprocystis roseopersicina* лежит в пределах 7.8 – 8.4 (Parker et al., 1983). Наша оценка по данным Паркера с соавторами (1983) показывает, что удельная скорость роста лабораторной культуры снижается в 2-2.5 раза при повышении pH с 8.0 до 8.8. Таким образом, ПСБ в оз. Шира находятся в неоптимальных условиях по pH (8.7 – 9.0), а значит – их скорость роста может варьировать при небольших изменениях данной характеристики. К сожалению, значения pH измерялись нерегулярно, поэтому не могут быть проанализированы в данной работе.

Заключение к пп. 4.2.2 – 4.2.3. В целом, как визуальное сопоставление временных рядов с формой профилей, так и статистический анализ всех данных позволяют заключить, что на межгодовую динамику численности ПСБ влияли процессы перемешивания в зоне хемоклина озера.

Гипотетически одним из возможных факторов, непосредственно влияющих на биомассу ПСБ, является температура в зоне хемоклина. Температура может влиять как прямо на рост ПСБ, так и опосредованно, через другие биохимические процессы, например, влияя на скорость сульфатредукции, и, следовательно – на продукцию сероводорода. В свою очередь, причиной снижения температуры в хемоклине является глубокая зимняя циркуляция, как показал анализ вертикальных профилей солености и температуры, наряду с корреляционным анализом.

Таким образом, для периода 2002-2013 показано, что ослабление стратификации в зимнее время способствовало снижению температуры в зоне хемоклина, и соответственно - снижению биомассы ПСБ следующим летом. С другой стороны, в Главе 2 показано, что подъем уровня воды служит фактором, усиливающим стратификацию и снижающим вероятность глубокой зимней циркуляции, следовательно, способствующим сохранению относительно высокой температуры в хемоклине, и накоплению сероводорода в монимолимнионе.

Таким образом, в ходе исследований механизмов стратификации озера и динамики ПСБ нами выявлен один из возможных механизмов отклика биомассы пурпурных серных бактерий на изменения стратификации в озере. А именно – при повышении уровня озера усиливается стратификация, что снижает (хотя и не исключает полностью) вероятность глубокого зимнего перемешивания. Отсутствие глубокого зимнего перемешивания способствует постоянству условий в зоне хемоклина, что, в свою очередь, способствует поддержанию относительно высокой биомассы пурпурных серных бактерий. Следовательно, в периоды повышения уровня озера должна наблюдаться тенденция к увеличению биомассы ПСБ, тогда как в периоды снижения уровня биомасса ПСБ должна снижаться. Выявленная закономерность может быть использована при палео-лимнологических реконструкциях изменений уровня воды в соленых стратифицированных озерах, расположенных в холодных климатических условиях.

4.3 Динамика численностей фототрофных серных бактерий в оз. Шунет: натурные данные

В отличие от оз. Шира, в озере Шунет во все сезоны распределение ПСБ характеризовалось отчетливым «пурпурным слоем», взвешенным на границе редокс-зоны, как это было зарегистрировано с помощью многошприцевого пробоотборного устройства (Rogozin, Degermendzhy, 2008. см. Главу 3). Максимальная численность ПСБ в «пурпурном слое» достигала в летнее время 8×10^8 кл мл⁻¹ (2007 г.), (Рис. 4.5, 4.9), концентрация бактериохлорофилла *а* была свыше 10000 мкг л⁻¹. До настоящего времени нам известно только одно озеро, в котором численность ПСБ и концентрация Бхл *а* выше, чем в оз. Шунет. Это меромиктическое озеро Махони (Mahoney)

228

в Канаде (Overmann et al., 1993; Overmann, 1997). Данное озеро похоже на оз. Шунет по ряду свойств, как это будет показано ниже (п. 4.9).

В отличие от оз. Шира, зеленые серные бактерии были представлены в редокс-зоне и монимолимнионе оз.Шунет в значительном количестве. Для мониторинга динамики ЗСБ мы не применяли прямой микроскопический счет, поскольку морфологические свойства данной группы бактерий не столь отчетливо выражены, как у ПСБ. Поэтому количественная оценка сезонной и межгодовой динамики ЗСБ осуществлялась на основе концентрации Бхл *d* (Рис. 4.6). Вертикальное распределение ЗСБ характеризовалось нарастанием концентрации ко дну и отсутствием четко выраженного пика в редокс-зоне. Микростратификация ПСБ и ЗСБ более подробно была описана и проанализирована в Главе 3. Межгодовая динамика ЗСБ в период 2007-2011 демонстрировала минимум в 2010 г (Рис. 4.6, Таб. 4.10).

В июле 2002 г., мы не применяли многошприцевой пробоотборник, поэтому профиль ПСБ для этой даты неизвестен. Тем не менее, резкий пик мутности в редокс-зоне был зарегистрирован погружным зондом, что указывает на присутствие «пурпурного» слоя на глубине около 5 м (Рогозин и др., 2012).

В подледные периоды 2002-2003 и 2003-2004 гг видимый глазом «пурпурный» слой исчезал (Рис.4.5), а численность ПСБ в хемоклине снижалась ниже видимого глазом порога, составляющего около 10^7 кл/мл по нашим оценкам. Так, максимальная численность ПСБ в хемоклине в марте 2004 составляла около 5×10^6 кл мл⁻¹. В марте 2003 численность ПСБ в хемоклине была около $0.5 - 1 \times 10^6$ кл мл⁻¹, однако, возможно, многошприцевой пробоотборник, позиционированный в редокс зоне, не захватил нижний максимум ПСБ, т.к. редокс-зона поднялась до 4.3 м, т.е. на 0.7 м выше, чем предыдущим летом (Рис.4.5) (Рогозин и др., 2012).

Начиная с 2004 г. «пурпурный» слой сохранялся и в подледные периоды, но был более распределен по глубине, чем в предшествующие летние периоды, а численность ПСБ в пике снижалась примерно на порядок

по сравнению с летними значениями (Рис. 4.5, 4.9). Однако, интегральное количество ПСБ под кв.м, оцененное для интервала от верхней границы хемоклина до глубины 5.5 м, не во все годы было подвержено регулярной сезонной динамике (Рис. 4.7). Лишь в 2003 и 2004 гг. летние значения интегрального количества ПСБ были достоверно больше зимних значений (Рис. 4.7). Таким образом, до 2004 г. наблюдалась стандартная сезонная динамика с летним максимумом и зимним минимумом (Рис.4.5, 4.7). Начиная с 2004 г и до 2011 зимнее значение интегрального количества Бхл *а* под кв.м. никогда не было достоверно ниже летнего (Рис.4.7), о чем свидетельствовала также и визуальная оценка по цвету воды.



Рис. 4.5 – Динамика вертикальных распределений численности пурпурных серных бактерий в центральной части озера Шунет. Пунктиром показана граница раздела кислород-сероводород. Вертикальные линии обозначают даты биосъемок. Белым фоном показаны области, для которых данные отсутствуют (из Зыков, 2012)

Таким образом, несмотря на значительные погрешности, можно утверждать, что с 2003 до 2009 г. имеется тенденция к исчезновению регулярной сезонной динамики и тренд к увеличению интегрального количества ПСБ в исследуемом интервале глубин (Рис.4.8) (Рогозин и др., 2012).

Отсутствовала корреляция между температурой в хемоклине и интегральным количеством ПСБ в водной толще оз. Шунет (Рис. 4.7), в отличие от оз. Шира. Несмотря на аномально холодную зиму 2010 г. (см. Главу 2), температура в хемоклине в подледный период 2010 г. не была ниже обычной, а даже выше (Рис.4.7). Однако, в 2010 г. измерения делались достаточно поздно - 1 апреля (Таб. 4.10), поэтому температура воды могла повыситься за счет весеннего увеличения солнечной радиации, проникающей под лед, чему способствовало отсутствие снега.



Рис. 4.6 – Динамика вертикальных распределений бактериохлорофилла *d* (пигментов зеленых серных бактерий) в центральной части озера Шунет. Пунктиром показана граница раздела кислород-сероводород. Вертикальные линии обозначают даты биосъемок. Белым фоном показаны области, для

которых данные отсутствуют

Кроме того, сама водная толща была более прозрачной ($K_d = 0.23 \text{ м}^{-1}$), чем в большинстве других зим (Таб. 4.10).

Прозрачность водной толщи в 2010 г. была высокой, что обусловило высокую освещенность 7.5 мкЕ м⁻² с⁻¹, несмотря на толстый лед (Таб.4.10), однако это не способствовало увеличению биомассы ПСБ. Например, при такой же освещенности в марте 2008 г. количество ПСБ было больше (Рис. 4.7, Таб. 4.10). Таким образом, причина снижения биомассы ПСБ зимой 2010 г. неясна, однако возможно это влияние низкой температуры, как и в оз. Шира.



Рис. 4.7 – Интегральные количества клеток пурпурных серных бактерий и температура в редокс-зоне в центральной части озера Шунет (Рогозин и др., 2012)

Таблица 4.10 – Характеристика хемоклина, снежно-ледяного покрова, интегральной численности ПСБ и интегрального количества Бхл *d* фототрофных серных бактерий в озере Шунет в зимнее и летнее время (Rogozin et al., 2009)

Дата	Лед,	Снег,	Позиция	ΦAP,	$\mathbf{K}_{d},$	ПСБ,	Бхл <i>d</i> ,
			редокс-				
	СМ	СМ	зоны,	мкЕ м ⁻² с ⁻¹	\mathbf{M}^{-1}	10^{10} кл м ⁻²	мг м ⁻²
			М				
			В подле	дный период			
28.02.03	73	12	4.45	0.97	0.18	0.7	1117
18.02.04	80	2	5.10	-	-	0.9	873
12.03.05	70	19	4.95	-	-	3	-
14.03.07	75	0	4.70	3.1	0.35	8.5	818
15.02.08	87	2^a	4.90	1.3	0.32	12.5	977
21.03.08	87	0	4.90	7.5	0.28	17	1019
13.03.09	86	4.5	4.2-4.6	-	-	45	-
01.04.10	125	0	4.95	7.5	0.23	3.4	-
19.03.11	101	8	4.3-4.7	-	-	16	-
			В летн	ний период			
12.07.02 ⁶			4.70	88	0.17-0.22	-	830
19.07.02 ^e			4.70	-	-	-	1260
03.08.03			5.20	-	-	8	640
05.08.04			5.10	57	0.27	4	-
27.07.05			5.05	40	0.29	5	-
13.06.07			4.95	-	-	68	696
28.07.08			4.75	-	-	17	1175
29.07.09			5.0	36	0.27	33	794
23.07.10			5.05	-	-	9	376
01.07.11			4.9	-	-	29	-
а-снежный п	окров че	ередовался	я с чистыми	участками льд	а, занимавши	ими ок. 50% г	площади
озера							

б-данные из (Дегерменджи, и др., 2003)

^{*в*}-данные из (Лунина О. М., и др., 2007)

4.4 Условия обитания фототрофных серных бактерий в озерах Шира и Шунет: сравнительный анализ

Экология замерзающих водоемов в подледный период изучена сравнительно меньше, чем В открытый период. Это вызвано как трудоемкостью полевой работы в зимнее время, так и традиционным представлением о том, что зима является «мертвым» сезоном ЛЛЯ большинства планктонных микроорганизмов, особенно ЛЛЯ фотосинтезирующих. Гетеротрофная активность также снижается из-за снижения температуры. Однако, для правильного представления 0 функционировании экосистемы требуется исследование физико-химических и биологических процессов во все сезоны года. В частности – это необходимо для прогнозного моделирования поведения экосистем В условиях изменения климата. Как показано выше, в зимнее время численность ПСБ не всегда меньше, чем в летнее (Рис. 4.7, 4.9, 4.10). Проведем сравнительный анализ условий существования данной группы организмов в подледные периоды в обоих озерах.

Как BO всех природных экосистемах, основные факторы, определяющие сезонную периодичность - это свет и температура. Значения температуры и освещенности в хемоклине обоих озер сгруппированы на рис. 4.8. Как видно из Рис. 4.8, в оз. Шунет различия температуры между зимой и летом существенны – зимний период гораздо более «темный» и «холодный», чем период открытой воды. Столь выраженная сезонная периодичность очевидно порождает сезонную периодичность численности ПСБ в зоне их активного развития, т.е. в хемоклине. На Рис. 4.9 видно, что максимальные численности ПСБ в «пурпурном слое» регистрировались в периоды открытой воды, а минимумы – в подледные периоды.

В отличие от оз. Шунет, в оз. Шира количество света, проникающего в зону развития ПСБ в летнее время почти такое же низкое, как и в подледный

период (Рис. 4.8). Летняя температура в хемоклине оз. Шира в большинстве лет также была сравнима с зимней (Рис.4.8). Исключение составляет лишь 2007 г., когда произошла глубокая циркуляция миксолимниона в весеннее время, повысившая температуру зоне хемоклина В (см. Главу 2). Следовательно, в хемоклине оз. Шира амплитуда сезонной периодичности света и температуры небольшая, т.е. условия менее контрастны из-за большей глубины позиционирования редокс-зоны (хемоклина), чем в оз. Шунет. Этим можно объяснить отсутствие выраженной сезонной периодичности количества ПСБ в хемоклине оз. Шира (Рис. 4.10).

Следует особо отметить тот факт, что интенсивность ФАР в хемоклине оз. Шира иногда превышала таковую для летнего времени, а именно – в 2007, 2010 и 2013 гг., когда на поверхности льда не было снега (Таб. 4.2).



Рис. 4.8 – Сравнение температур и интенсивностей ФАР в редокс-зоне озер Шира и Шунет за период 2002-2014. Данные для подледного периода и периода открытой воды сгруппированы отдельно



Рис. 4.9 – Численности ПСБ в редокс-зоне оз.Шунет («пурпурный слой»). Значение для июня 2007 г. указано показано цифрой. Черным показаны значения для подледных периодов



Рис. 4.10 – Численности ПСБ в редокс-зоне оз. Шира. Черным показаны значения для подледных периодов

Данная сезонная «инверсия» света является нестандартным результатом, поэтому требует отдельного анализа (Рогозин и др., 2009; Rogozin et al., 2009).

Итак, при неизменных толщине и поглощающих свойствах льда, интенсивность света, проникающего в зону хемоклина, зависит от трех факторов:

1. Характеристик снежного покрова;

- 2. Глубины расположения хемоклина;
- От коэффициента вертикального ослабления света (K_d) (поглощения света водной толщей)

Рассмотрим эти факторы по отдельности:

Дистанционная оценка характера снегового покрова. Как следует из прямых измерений, в оз. Шира при отсутствии снегового покрова интенсивность ФАР в хемоклине превышала примерно на порядок таковую при наличии снегового покрова (сравнить февраль 2008 и март 2008 в Таб. 4.2). В озере Шунет также зарегистрирована существенная разница между интенсивностями ФАР при наличии и отсутствии снега, в 3- 6 раз (Таб. 4.10). При мозаичном снеговом покрове наблюдались промежуточные значения в обоих озерах. Очевидно, что если количество снега на поверхности льда варьирует от его полного отсутсвия до сплошного покрова, количество ФАР, достигающего редокс-зоны, также сильно различается (Рогозин и др., 2009; Rogozin et al., 2009).

Мы применили дистанционный спутниковый метод для мониторинга состояния снега на поверхности оз. Шира (Рогозин и др., 2009; Rogozin et al., 2009). сопоставлении значения коэффициента отражения При OT поверхности оз. Шира в инфракрасном диапазоне (852 нм) с данными контактных измерений толщины и характера снегового покрова для фиксированных дат. Оказалось, что коэффициент отражения от поверхности достаточно хорошо соответствовал характеру снегового покрова, а именно – было низким при отсутствии снега (март 2007 и 2008 гг) и высоким при сплошном снеговом покрове (март 2005, февраль 2003, 2008) (Рис.4.11). На основании этого можно утверждать, что характер снегового покрова на поверхности озер может отслеживаться дистанционно с помощью спутника. Аналогичный вывод был получен другими авторами при исследованиях Большого Невольничьего Озера и Большого Медвежьего Озера в Канаде (Pour et al., 2012).

Полученные нами спутниковые данные приведены на Рис. 4.11. Легко видеть, что в течение всего подледного периода 2007 г. отражающая способность льда была ниже, чем в другие годы, что вызвано отсутствием сплошного снегового покрова на льду озера в этот период, что согласуется и с данными Гедрометеослужбы (Рис. 2.7 а). Следовательно - в водную толщу озера в течение всего подледного периода 2006-2007 проникало больше света, чем во все остальные годы, что способствовало наибольшему развитию ПСБ в хемоклинах обоих озер по сравнению с другими зимами (Рис. 4.9, 4.10).



Рис. 4.11 – Динамика коэффициента отражения от поверхности оз. Шира на длине волны 852 нм в подледные периоды, полученная с помощью космического спектрорадиометра MODIS. Стрелками указаны даты наземных измерений (из Рогозин и др., 2009; Rogozin et al., 2009)

Глубина позиционирования редокс-зоны. При одинаковых характеристиках снегового покрова и прозрачности водной толщи, интенсивность ФАР в хемоклине оз. Шира менялась в зависимости от глубины расположения хемоклина в несколько раз (сравнить март 2007 и

март 2008 в Таб. 4.2). Таким образом, очевидно, что прогноз положения хемоклина необходим для прогноза продукции ПСБ. Как показано в Главе 2, глубина зимнего хемоклина определяется гидрофизическими процессами, а именно - глубиной конвективного слоя, которая, в свою очередь, зависит от метеоусловий и динамики уровня воды. В отличие от оз. Шира, в оз. Шунет положение редокс-зоны было практически неизменным, около 5 м, что очевидно обусловлено большой разницей плотности между миксолимнионом и монимолимнионом, т.е. устойчивой стратификацией данного водоема. Следовательно, Шунет прогноз для 03. продукции аноксигенного фотосинтеза не требует расчета положения хемоклина (при условии неизменного уровня озера).

Коэффициент вертикального ослабления света. Светопоглощающие свойства водной толщи описываются законом Бугера:

$$I(z) = I_0 10^{-K_d Z}, \qquad (4.1)$$

где I(z) – интенсивность света на глубине z (м), I_0 – интенсивность света на глубине 0 м (в поверхностном горизонте), K_d - эмпирический коэффициент вертикального ослабления (м⁻¹), z – глубина (м).

Как показали измерения, в миксолимнионе оз. Шира коэффициент вертикального ослабления в зимнее время в большинстве случаев был меньше, чем в летнее время (Таб.4.2, 4.11). Очевидно, что увеличение величины K_d в летнее время вызвано увеличением концентрации взвеси, в первую очередь, фитопланктона. Аналогичные значения (0.2 м⁻¹) для летнего периода были получены и другими авторами (Gaevsky et al., 2002) в термоклине, т.е. на глубине максимальной концентрации Хл *а*. В зимнее время водная толща значительно более прозрачна, именно поэтому в зону хемоклина может проникать больше света, чем летом, несмотря на толстый ледовый покров (Рогозин и др., 2009; Rogozin et al., 2009).

Таблица 4.11 – Коэффициенты вертикального ослабления света в миксолимнионе озера Шира

Дата	K_d ,	Дата	К _{<i>d</i>} ,
	M^{-1}		M ⁻¹
В подледн	ый период	В летни	й период
24.02.03	0.15	24.05.03	0.21
13.03.07	0.12	29.07.05	-
16.02.08	0.13	01.08.06	0.14-0.21
22.03.08	0.12	12.06.07	-
12.03.09	0.2-0.14	27.07.08	-
31.03.10	0.13	29.07.09	0.21

Таким образом, в марте 2007 г в оз. Шира сочетание основных факторов было наиболее благоприятным из всех зим: отсутствие снега на льду и высокое положение хемоклина обеспечили высокую освещенность. Кроме того, температура в хемоклине была также высокой относительно других лет (Таб. 4.2). Вероятно, этим и обусловлена рекордная численность ПСБ в хемоклине, наблюдаемая в марте 2007 г. (Рис. 4.10).

В оз. Шунет нами не были выявлены достоверные сезонные различия в количестве ЗСБ (Рис. 4.6). Снижение интенсивности света из-за ледового покрова может быть скомпенсировано уменьшением численности ПСБ в вышележащем «пурпурном» слое. В результате, световые условия для ЗСБ ниже редокс-зоны могут быть в зимнее время достаточно благоприятными. Например, в феврале 2003 г. освещенность под хемоклином была максимальной из-за отсутствия слоя ПСБ и более высокого положения редокс-зоны (Таб. 4.10).

Таким образом, нами показано, что условия по температуре и свету хемоклине озера Шира варьируют существенно меньше, чем в Шунете, а при малом количестве снега интенсивность света в хемоклине может достигать летних значений. Данный вывод может быть справедлив для других меромиктических водоемов умеренного пояса с достаточно глубоким расположением хемоклина.

В озере Шунет летние условия для ПСБ гораздо более благоприятны, чем зимние, из-за того, что относительно неглубокое расположение хемоклина вызывает сильные сезонные колебания основных факторов – температуры и света (Rogozin et al., 2009; Рогозин и др., 2012).

4.5 Оценка доли подледной продукции аноксигенного фотосинтеза в обоих озерах

Изотопные измерения скорости фотосинтеза проводились в обоих озерах в 2001-2003 гг. (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005). Было показано, что в обоих озерах доля аноксигенного фотосинтеза фототрофных серных бактерий в первичной продукции невелика (см. Главу. 5).

Однако, зимние измерения проводились только в 2003 г., когда из-за толстого снега световые условия были неблагоприятными. Несмотря на отсутствие прямых измерений в другие зимы, из проделанного выше анализа (пп. 4.2 – 4.5) следует, что продукция фототрофных серных бактерий может варьировать в зависимости от внешних факторов. Если считать, что свет является основным лимитирующим фактором для фотосинтеза, то интенсивности аноксигенного фотосинтеза в подледный период в оз. Шира могут быть выше, чем летом.

Как правило, в стратифицированных водоемах основным фактором, лимитирующим рост фототрофных серных бактерий, является недостаток света (Overmann et al., 1991; Van Gemerden, Mas, 1995). Исходя из этого предположения, мы оценили вклад продукции ПСБ за подледный период в общую годовую продукцию этой группы бактерий. Для верхней оценки достаточно было сравнить суммарное количество квантов ФАР, достигающих зоны хемоклина, в подледный период и в период открытой воды. Динамику ФАР на глубине хемоклина оценивали, исходя из динамики ФАР на поверхности и ее ослабления льдом и водной толщей согласно закону Бугера (Рогозин и др.. 2012). Изменение толщины льда в течение подледного периода задавали согласно расчетам Геновой с соавторами (Genova et al., 2010), см. Главу 2. Согласно этим расчетам, толщина льда монотонно нарастала к середине марта, затем монотонно снижалась до нуля (Рис. 4.12 А). При этом расчетная толщина льда хорошо соответствовала измеренной (Рис. 2.7 б). Данная модель была разработана для оз.Шира, однако мы применили эти расчеты и к оз.Шунет, поскольку на оз. Шунет измеренная толщина льда всегда была близка таковой на оз.Шира (Таб. 4.2, 4.10).

Для упрощения рассматривали идеальную ситуацию, когда снег отсутствовал в течение всего времени, глубина хемоклина оставалась постоянной, и облачность была нулевой. Условно позиция хемоклина была выбрана 12 м для оз. Шира и 4.9 м для оз.Шунет, исходя из усредненных наблюдаемых значений. Значения солнечной радиации, падающей на поверхность водоема, рассчитывали с помощью программы Solrad.xls (G.Pelletier, Washington State Department of Ecology, Olympia, WA). B программе задавались соответствующие географические координаты озер и их высота над уровнем моря. Расчетные количества поверхностной ФАР хорошо совпадали с измеренными в полевых условиях в соответствующие даты. Суточные количества поверхностной ФАР усреднялись за каждые 8 дней, доля ФАР составляла 48% от общего потока солнечной радиации, доля отраженной радиации составляла 1% (Prokopkin et al., 2010). Условный подледный период длился с с 9 ноября по 1 мая (Рогозин и др., 2012). Коэффициент вертикального ослабления света (К_d) в оз. Шира для периода с мая по сентябрь брали 0.21 м⁻¹, с ноября по апрель 0.12 м⁻¹, согласно натурным данным (Таб. 4.11, Рис. 4.12 А). В период с сентября по ноябрь предполагали линейное снижение K_d с 0.21 до 0.12 м⁻¹ (Рис. 4.12А). В озере Шунет K_d в течение всего года принимали как 0.28 м⁻¹ (Таб. 4.10).

На Рис. 4.13 показана расчетная динамика квантового потока ФАР в зону хемоклина оз. Шира. Как видно из рисунка, интегральное количество квантов ФАР за весь подледный период составляет около 30 % от общего годового количества. Следовательно, доля фотосинтетической продукции, также не должна превышать это значение. В то же время в оз. Шунет количество квантов ФАР за подледный период составило около 7 % от (Рис. 4.13). общегодового количества Следовательно, И доля фотосинтетической продукции в подледный период в хемоклине Шунета не может превышать 7 % от годовой. При этом реальная доля должна быть еще меньше, т.к. в хемоклине оз. Шунет, в отличие от оз. Шира, зимой существенно понижается температура, а с ней – и интенсивность всех микробных процессов (Рогозин и др., 2012; Зыков, 2012).

Расчеты показали, что осенью, в период снижения К_d, вызванного, повидимому, оседанием фитопланктона, может возникать локальный пик освещенности в хемоклине (Рис. 4.12), который может способствовать ПСБ увеличению продукции В ЭТО время. Сезонная динамика седиментационного потока ПСБ, оцененная в 2012-2013 гг., косвенно подтверждает это предположение (Рис. 4.3): повышенные концентрации Бхл а в седиментационных ловушках наблюдались осенью 2012 и 2013 гг. Наибольший поток оседающего фитопланктона, оцененный по концентрации Хл а в тех же ловушка, был также зарегистрирован в осеннее время (Рис. 4.3), что объясняет снижение K_d в подледный период по сравнению с летом.

Абсолютное количество квантов ФАР в хемоклине Шунета, тем не менее, на порядок больше, чем в хемоклине Шира (сравнить Рис. 4.12 и 4.13). Поэтому и абсолютные значения годовой продукции ПСБ под кв. м в Шунете должны быть существенно выше, чем в Шира.

243



Рис. 4.12 **А** – Сезонная динамика коэффициента К_{*d*} и толщины льда, используемая при расчетах сезонной динамики ФАР в хемоклине оз. Шира; **Б**: Расчетное количество ФАР, достигающее верхней границы хемоклина оз.

Шира в течение года при ясной погоде и отсутствии снега на льду



Рис. 4.13 – Расчетное количество ФАР, достигающее верхней границы хемоклина оз. Шунет в течение года при ясной погоде и отсутствии снега на льду. А – в период открытой воды, Б – в подледный период

4.6 Оценка скорости седиментации пурпурных серных бактерий

Оценка скоростей оседания планктонных организмов необходима для прогнозного моделирования пространственной динамики планктона в водных экосистемах, поскольку наблюдаемая концентрация планктонной популяции на заданной глубине является следствием динамического равновесия между процессами роста и элиминации. Один из основных процессов элиминации ПСБ из продукционной зоны – оседание на дно (Pedros-Alio et al., 1989).

Летом 2009 г. нами была оценена скорость оседания ПСБ в обоих озерах с помощью седиментационных ловушек (см. п. 4.1). Значения скорости оседания, полученные для озера Шира (Таб. 4.12), оказались близки к таковым для ПСБ рода *Lamprocystis* из других озер, порядка 1 см сут⁻¹ (Pedros-Alio et al., 1989). В оз. Шунет эти значения были на порядок меньше (Таб. 4.12), около 0. 1 см сут⁻¹, что очевидно объясняется резким градиентом

плотности в зоне хемоклина данного озера, образующим «жидкое дно», т.е. препятствующим быстрому оседанию частиц (см. Главу 2). Значения скорости оседания, оцененные по Бхл *a*, были в основном выше, чем при прямом счете. Вероятно, это объясняется процессами деструкции в ловушках во время экспозиции. Основной пик поглощения Бхл *a* на 772 нм был смещен на 759 нм, что указывает на присутствие бактериофеофитина а, являющегося продуктом деструкции Бхл a (Coolen, Overmann, 1998).

Таблица 4.12 – Скорости оседания пурпурных серных бактерий в озерах Шира и Шунет летом 2009 г. (из Зыков, 2012)

	Оз. Шира			Оз. Шунет	
	Скорость см с	оседания, сут ⁻¹		Скорость см с	оседания, cyт ⁻¹
Глубина, м	По ПСБ	По Бхл <i>а</i>	Глубина, м	По ПСБ	По Бхл <i>а</i>
17.5	0.21±0.08	1.56±0.12	5.2	0.16±0.08	0.07 ± 0.02
20	0.32±0.17	1.14±0.13	5.5	0.006 ± 0.006	0.10 ± 0.01
22.5	0.75±0.43	0.52±0.01	5.8	0.004 ± 0.002	0.14±0.02

Усредненные по всем значениям скорости оседания составили:

для оз. Шунет (0.12 ± 0.09) см сут⁻¹,

для оз. Шира (0.75 ± 0.16) см сут⁻¹.

Полученные значения могут использоваться в прогнозных математических моделях, описывающих вертикальные распределения планктона в стратифицированных озерах (Degermendzhy et al., 2002; Prokopkin et al., 2010).

4.7 Плотностно-зависимый эффект самозатенения ПСБ в хемоклине оз. Шунет

По значениям скоростей ассимиляции неорганического углерода, полученным методом ¹⁴С в склянках *in situ* для оз. Шира (Пименов и др., 2003, Саввичев и др., 2005) и Шунет (Рогозин и др., 2005; Лунина и др., 2007; Рогозин и др., 2012), нами были оценены удельные скорости роста ПСБ в обоих озерах. Численности клеток пересчитывались в углерод с использованием коэффициента перевода 1.21×10^{-13} гС мкм⁻³ (Watson et al., 1977). Диаметр клеток был принят 2 мкм, исходя из усредненных оценок при микроскопических наблюдениях, объем клеток рассчитывали по формуле для шара.

В предположении, что все клетки делятся с одинаковой скоростью, удельная скорость роста в «пурпурном» слое в августе 2003 г. должна была составить 0.02 сут⁻¹ (время удвоения 33 сут). В 2004 г. склянки инкубировались не в хемоклине, а на 30 см выше хемоклина. Интенсивность ФАР на данном горизонте примерно на 20% больше по сравнению с таковой на границе пурпурного слоя (при $K_d = 0.28 \text{ м}^{-1}$). Удельная скорость роста возросла при этом до 0.14 сут⁻¹ (время удвоения 5 сут), т.е. в 7 раз. Это показывает, что ПСБ в «пурпурном» слое лимитированы светом. Однако, насыщающая интенсивность ФАР для чистых культур ПСБ составляет около 50 мкЕ м⁻² с⁻¹ (Overmann et al., 1991), тогда как в хемоклине оз. Шунет эта величина иногда даже выше (Таб. 4.10). Следовательно, на верхней границе «пурпурного» слоя в оз. Шунет ПСБ света достаточно. Клетки, находящиеся в глубине слоя, лимитированы светом, тогда как клетки, находящиеся на поверхности слоя, могут испытывать недостаток сероводорода, как это показано для оз. Махони (Overmann et al., 1991). Таким образом, можно предполагать, что клетки ПСБ, находящиеся в «пурпурном» слое, подвержены эффекту самозатенения, несмотря на достаточное количество ФАР, проникающее сквозь водную толщу до хемоклина.

Как показано Ван Гемерденом, минимальная интенсивность ФАР для генеративного роста лабораторных культур ПСБ, составляет 0.4 μ E м⁻² c⁻¹ (Van Gemerden et al., 1989). Следовательно, используя значение коэффициента ослабления ФАР пурпурными бактериями *Lamprocystis purpurea* $K_b = 0.050 \text{ м}^2 (\text{мгБхл } a)^{-1}$ (Overmann et al., 1991), можно оценить количество ПСБ под кв. м, необходимое для ослабления квантового потока до этого минимального значения. По закону Бугера-Бэра:

$$I_L = I_T \exp\{-K_b B\},$$
 (4.2)

где I_l - нижнее значение интенсивности ФАР (0.4 мкЕ м⁻² с⁻¹), I_T - интенсивность ФАР на верхней границе «пурпурного слоя», K_b - коэффициент ослабления ФАР клетками ПСБ (м² (мгБхл *a*)⁻¹), *B* - количество Бхл *a* под кв. м (мгБхл *a* м⁻²).

Если в летнее время интенсивность ФАР на верхней границе «пурпурного слоя» составляет около 50 µЕ м⁻² с⁻¹ (Таб. 4.10), то из формулы (4.2) получаем количество Бхл *a*, достаточное для ослабления потока ФАР до порогового значения: B = 96.6 мгБхл *a* м⁻². Количество Бхл *a* в Шунете летом значительно превышает полученное расчетное значение, а максимальное значение было около 480 мгБхл *a* м⁻² (июнь 2007 г, Rogozin et al., 2009). Следовательно, летом только часть популяции ПСБ находится в условиях, достаточных для генеративного роста. В частности, в июне 2007 г. эта часть составила около 20 % (Рогозин и др., 2012).

4.8 Причины аномально высокой численности фототрофных серных бактерий в озере Шунет

Массовые скопления фототрофных серных бактерий являются типичным явлением в зонах хемоклина стратифицированных водоемов (Горленко и др., 1977; Overmann et al., 1997; Montesinos et al., 1983).

Численности этих бактерий, как правило, составляют 10^5 - 10^7 кл мл⁻¹ (Tonolla et al., 2003), а их рост в глубинах водоемов лимитирован недостатком света (Parkin, Brock, 1980; Van Gemerden, Mas, 1995). Озеро Шунет является уникальным водоемом: в отличие от большинства исследованных озер, численность ПСБ в его редокс-зоне аномально высока, свыше 10^8 кл мл⁻¹, (Rogozin et al., 2009; Рогозин и др., 2012). До настоящего времени известно только одно озеро, в котором численность ПСБ сравнима и даже выше, чем в Шунете – это озеро Махони в Канаде (Рогозин и др., 2005; Overmann, 1997). В данном озере ПСБ также формируют «пурпурный» слой (Overmann et al., 1991; Overmann, 1997). Виды ПСБ, доминирующие в хемоклинах озер Шунет и Махони, фенотипически и филогенетически схожи (Рогозин и др., 2010; Рогозин и др., 2012). Следовательно, интересно сравнить условия обитания ПСБ в обоих озерах.

По условиям освещенности в зоне хемоклина оба озера близки. Глубина хемоклина в оз. Махони составляет 6.7 м, в Шунете – 5 м, а интенсивность ФАР на верхней границе хемоклина в обоих водоемах относительно высока, около 50 мкЕ м⁻² с⁻¹ (Overmann, 1997; Rogozin et al., 2009). Поэтому клетки на верхней границе «пурпурного» слоя в летнее время не лимитированы светом. Тем не менее, для озера Махони также был продемонстрирован эффект самозатенения ПСБ в плотном слое. Оверманном было показано, что в озере Махони генеративный рост могут осуществлять лишь около 10 % клеток, находящихся в «пурпурном» слое (Overmann, 1997).

Поток сероводорода в зону хемоклина, рассчитанный по закону Фика для коэффициента молекулярной диффузии сероводорода $D = 1.52 \times 10^{-5}$ см² с⁻¹ (Jorgensen, Revsbech, 1983), составил в оз. Шунет около 90 ммольS м⁻² сут⁻¹. Скорость сульфатредукции (т.е. продукции сероводорода) в хемоклине составляла около 1.6 ммольS м⁻² сут⁻¹, как было оценено по данным Каллистовой с соавторами (Каллистова и др., 2006). Скорость фотосинтеза в августе 2003 составляла около 24 ммольС м⁻² сут⁻¹ (Рогозин и др., 2012). Исходя из обобщенного уравнения аноксигенного фотосинтеза (Pfennig, Truper, 1992):

$$H_2S + 2HCO_3^{-} = 2[CH_2O] + SO_4^{-2}$$

поток сероводорода, поступающего в зону хемоклина, в 7 раз выше потребности аноксигенного фотосинтеза, т.е. клетки ПСБ в целом не лимитированы сероводородом, если не учитывать плотностно-зависимые эффекты в плотной популяции. Аналогично, в оз. Махони ПСБ также не испытывали недостатка в сероводороде, за исключением начала лета, т.е. периода наиболее интенсивного фотосинтеза (Overmann, 1997).

Следовательно, потоки света и сероводорода в хемоклин обоих озер достаточны для поддержания максимальных скоростей роста ПСБ в период открытой воды, если бы не плотностно-зависимые эффекты, приводящие к глубокому лимитированию, т.е. к снижению скоростей роста внутри «пурпурного» слоя.

Очевидно, что накоплению клеток ПСБ В «пурпурном» слое способствует не только их высокая продукция, но и низкая скорость элиминации. Было показано, что в оз. Махони скорость оседания ПСБ низка из-за того, что клетки регулируют плотность изменением объема газовых вакуолей и внутриклеточного содержания углеводов (Overmann, 1997). Как показали исследования на чистых культурах, клетки ПСБ способны увеличивать объем газовых вакуолей в 9 раз при попадании в темновые условия (Overmann, Pfennig, 1992). Плотность клеток с высоким содержанием газовых вакуолей составляла 1.002 г мл⁻¹, что значительно меньше плотности воды в хемоклине (1.015 г мл⁻¹). В Шунете плотность воды на верхней границе хемоклина была около 1.04 г мл⁻¹, и нарастала по направлению ко дну до 1.08 г мл⁻¹. Очевидно, что столь высокая плотность замедляет седиментационные процессы, чем и обусловлена низкая скорость оседания ПСБ в оз. Шунет. Заметим, что в оз. Шира, где скорость оседания ПСБ на порядок выше, плотность меняется от хемоклина ко дну от 1.02 до 1.03 г мл⁻¹ (п. 4.7).

Высокая гидрофизическая стабильность водных масс в зоне хемоклина также способствует сохранению «пурпурного» слоя. Как видно из сезонной динамики кондуктивности и плотности воды, процесс конвективного перемешивания распространяется в оз. Шунет лишь до глубины 4.5 м (Глава 2), т.е. не захватывает «пурпурный» слой, следовательно – не разрушает его (Рогозин и др., 2012а). Недоступность клеток для выедания зоопланктоном из-за высокой концентрации сероводорода также может способствовать накоплению ПСБ (Рогозин и др., 2012).

Низкая скорость оседания ПСБ способствует тому, что значительная часть клеток ПСБ должна утилизироваться не в процессе седиментации, а наоборот - выше зоны хемоклина. Данное явление имеет место в оз. Махони. Там В осеннее время BO время циркуляции миксолимниона был зарегистрирован массовый апвеллинг ПСБ, регистрируемый по появлению видимых глазом хлопьев агрегированных клеток на поверхности озера. Всплывшие клетки ПСБ подвергаются затем аэробной деструкции, вызывая вспышку численности гетеротрофных бактерий (Overmann, 1997). Не исключено, что в оз. Шунет аналогичное явление также имеет место, но кратковременный характер данного явления не позволил выявить его в процессе регулярного рутинного мониторинга. Таким образом, возможно утилизация биомассы ПСБ происходит в аэробной зоне озера Шунет, аналогично оз. Махони (Overmann, 1997).

О наличии апвеллинга ПСБ свидетельствует тот факт, что осенью 2003 и зимой 2004 в Шунете наблюдались заметные снижения численности по сравнению с предыдущими летними периодами (Рис. 4.9). Уровень озера до лета 2003 г. был ниже примерно на 0.4 м, вследствие чего глубина миксолимниона была меньше. Возможно, при этом осенняя циркуляция захватывала часть клеток ПСБ, что и приводило к снижению численности. В дальнейшем, начиная с 2004 г., уровень озера возрос, вследствие чего осенняя циркуляция перестала достигать зоны хемоклина и разрушать «пурпурный» слой. Данное предположение согласуется с многолетней динамикой ПСБ в оз. Шунет (Рис. 4.5, 4.7).

Основные результаты и выводы Главы 4.

1. На основе многолетнего сезонного мониторинга выявлена и описана пространственная динамика пурпурных серных бактерий в озерах Шира и Шунет. Показано, что в хемоклине оз. Шунет четко выражена сезонная периодичность численности ПСБ, что обусловлено сезонными колебаниями температуры и света. В оз. Шира отсутствует выраженная сезонная периодичность численности ПСБ, т.к. сглажены сезонные колебания температуры и света из-за глубокого расположения хемоклина.

2. Показано, что в озере Шира в подледный период интенсивность света может быть сравнима с летней, поскольку ослабление света ледовым покровом компенсируется повышением прозрачности водной толщи. В результате интенсивность света на глубинах более 10 м может превышать летние значения при условии отсутствия снежного покрова.

3. Показано, что возможен дистанционный мониторинг динамики снежного покрова на поверхности озера Шира с помощью оценки коэффициента отражения солнечной радиации, полученного по спутниковым снимкам.

4. На основе статистического анализа многолетних данных показано, что наилучшим предиктором для суммарного количества пурпурных серных бактерий в озере Шира во все сезоны является температура воды в зоне хемоклина, вторыми по значимости фактором в подледные периоды являлся свет, тогда как в периоды открытой воды – сероводород. Поскольку межгодовые изменения температуры в редокс-зоне обусловлены перемешиванием водных масс, именно прогноз процессов перемешивания является ключевой задачей для прогноза биомассы ПСБ в озере Шира.
5. Показано, что суммарное количество хлорофилла *а* в фотической зоне озера Шира не влияло на количество ПСБ, т.е. эффект «затенения» ПСБ вышерасположенным фитопланктоном не был выявлен.

6. Показано, что в оз. Шира динамика ПСБ не монотонна, а демонстрирует урожайные и неурожайные годы. Неурожайные годы совпадают с глубоким зимним перемешиванием миксолимниона. Факторы, непосредственно вызывающие снижение численности ПСБ, остаются невыясненными, однако в качестве одной из основных причин может рассматриваться снижение температуры в зоне хемоклина. Соответственно, наоборот - вспышки численности ПСБ совпадали с повышением температуры в зоне хемоклина.

7. На основе вышеописанной закономерности и ранее выявленной связи между глубиной зимнего перемешивания и изменением уровня озера предложена концепция реконструкции колебаний уровня озера по распределениям концентрации окенона в донных отложениях: максимумы концентрации окенона соответствуют периодам роста уровня озера, а минимумы – наоборот, периодам снижения.

8. Показано, что оз. Шунет является уникальным объектом с рекордной концентрацией ПСБ в зоне хемоклина. Причинами этого явления является сильный градиент солености в зоне хемоклина в сочетании с относительно неглубоким его расположением. Вышеуказанное сочетание обусловливает высокую освещенность, высокую температуру, устойчивое положение редокс-зоны, высокую концентрацию сероводорода, низкую скорость оседания. Все эти факторы приводят к накоплению ПСБ в виде тонкого «пурпурного» слоя с аномально высокой численностью.

9. Показано, что в «пурпурном» слое клетки ПСБ испытывают эффект самозатенения, т.е. свет является плотностно-зависимым фактором для данной популяции.

253

Заключение к Главе 4.

В настоящей Главе мы впервые описали и частично объяснили пространственно-временную картину существования пурпурных серных бактерий в анаэробных зонах озер Шира и Шунет. Задача объяснения пространственной динамики популяций в природных экосистемах (которую можно назвать основной задачей экологии, по аналогии с механикой) чрезвычайно сложна и до настоящего времени не решена, поскольку невозможно учесть влияние огромного числа факторов, взаимодействующих между собой. Тем не менее, мы попытались выявить основные причины наблюдаемых различий и изменений численностей и распределений конкретной группы микроорганизмов в отдельно взятых экосистемах. Актуальность такой постановки задачи обусловлена, во-первых, необходимостью прогноза качества воды. Поскольку данная группа бактерий отвечает за процессы нейтрализации токсичного соединения - сероводорода, ee активность должна учитываться и рассчитываться в прогнозных моделях стратифицированных математических водоемов, являющихся важными рекреационными и бальнеологическими объектами.

Во-вторых, данная группа бактерий является признанным палеоиндикатором наличия сероводорода в водной толще водоемов, следовательно – ее следы в донных отложениях помогают выявить наличие стратификации в прошлом исследуемых озер. Однако, при анализе распределений пигментов или ДНК фототрофных серных бактерий донных отложениях В исследователи, как правило, ограничиваются констатацией того, что стратификация озера была более или менее устойчивой (Overmann, 1997; Dressler et al., 2007; Shmidt et al., 2002). Наши результаты подтверждают, что стратификации увеличению биомассы ПСБ усиление ведет К В исследованных озерах, и наоборот. Таким образом, обоснована постановка задачи прогноза плотностной стратификации в зависимости от изменений уровня водоема, и на этой основе возможность решения обратной задачи – реконструкции колебаний уровня по остаткам ПСБ в донных отложениях.

Показанная нами «инверсия» освещенности в подледный период является контр-интуитивным явлением. Нам не известны аналогичные наблюдения для других озер, хотя очевидно, что в глубоких водоемах умеренной зоны такое явление может иметь место.

Именно в данной работе были впервые раскрыты, описаны и частично объяснены свойства озера Шунет как уникальной природной «лаборатории» по изучению экологии планктонных микроорганизмов в стратифицированных водоемах, особенно – их микростратификации в хемоклине. Выяснение путей утилизации биомассы ПСБ и их вклада в трофическую цепь данного озера представляет собой актуальную задачу для дальнейших исследований.

Глава 5. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНЫХ ПРОЦЕССОВ КРУГОВОРОТА СЕРЫ И УГЛЕРОДА В ОЗЕРАХ ШИРА И ШУНЕТ

5.1 Введение

Целебные свойства меромиктических озер обусловлены деятельностью сульфидогенных (выделяющих сероводород) микроорганизмов, которых приводит биогеохимическая деятельность К накоплению сероводорода в водной толще и формированию сульфидных грязевых отложений на дне таких водоемов. В меромиктических водоемах одновременно с сульфидогенной микрофлорой, представленной в основном (СРБ), сульфатредуцирующими бактериями развиваются популяции микроорганизмов, окисляющих сероводород, и тем самым, снижающих концентрацию этого соединения в экосистеме. К таким организмам относятся пурпурные серные бактерии (ПСБ), зеленые серные бактерии (ЗСБ), а также многочисленные формы бесцветных серных бактерий, осуществляющих хемосинтез на восстановленных соединениях серы, в том числе и на сероводороде. Эти микроорганизмы окисляют сероводород до нейтрального сульфат-иона либо до элементной серы, которые, в свою очередь восстанавливаются в результате деятельности СРБ до сероводорода. Такова грубая схема микробного цикла серы. Очевидно, что для прогноза качества воды И содержания сероводорода необходима оценка количественных характеристик этого цикла.

Наряду с сульфатредукцией, терминальной фазой разложения органического вещества в анаэробных условиях является метаногенез, осуществляемый особой группой микроорганизмов – метаногенными археями. Метаногенез является источником поступления метана в атмосферу, где он является важным парниковым газом. Концентрация метана стала расти в последние столетия (предположительно в результате увеличения пахотных

земель и пастбищ и выжигания лесов, использования древесины для отопления, увеличения поголовья домашнего скота, количества нечистот, выращивания риса). Некоторый вклад в поступление метана дают утечки при разработке месторождений природного газа. Его способность поглощать инфракрасное излучение больше чем у углекислого газа в 21 раз (на единицу массы). В связи с активизацией многочисленных положительных обратных связей, вклад метана в потепление может возрасти очень сильно, возможно даже катастрофически сильно (Lelieveld et al., 1998). Поэтому оценка скоростей образования метана в природных экосистемах чрезвычайно важна. Химическое окисление метана в природных условиях почти не происходит, однако его биологическое окисление осуществляют специализированные группы микроорганизмов (Гальченко, 1989). В аэробных условиях это метанотрофные бактерии, а в анаэробных – особый микробный консорциум, состояший ИЗ нескольких взаимодействующих видов прокариот сульфатредукторов (Заварзин, 2004). метаногенов И Деятельность метанокисляющих микроорганизмов (т.е. скорость окисления ими метана) также требует оценки для вычисления баланса метана в экосистеме.

В данной Главе представлены результаты исследований интенсивности основных продукционных процессов и анаэробной деструкции органики, осуществляемых микроорганизмами в озерах Шира и Шунет. К таким процессам оксигенный фотосинтез, осуществляемый относятся: фитопланктоном В аэробной зоне озер, аноксигенный фотосинтез, сульфатредукция, метаногенез и метаноокисление.

5.2 Материалы и методы 5.2.1 Отбор проб

Для оценки скоростей фотосинтеза, сульфатредукции, метаногенеза и метаноокисления пробы воды отбирались с помощью батометров, вблизи основной центральной станции для каждого озера, координаты приведены в

Главе 2. Для оценки скоростей вышеперечисленных процессов в хемоклине озера Шунет пробы отбирались с помощью многошприцевого пробоотборника.

Для оценки скоростей сульфатредукции на литорали озера Шира пробы отбирали на нескольких станциях по периметру озера, как показано на Рис. 5.4. Описание станций приведено в Таблице 5.4.

Пробы донных отложений на центральной станции озера Шира 29-30 июля 2001г отбирали с помощью коробчатого дночерпателя SBS-100 (Kosolapov et al., 2003), захватывающего квадратный участок дна размером 160×160 мм, максимальная глубина погружения в донные осадки 440 мм. В остальные даты донные отложения в обоих озерах отбирали с помощью гравитационного лимнологического стратометра, разработанного в Институте микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН (ИНМИ) (г. Москва), с рабочей трубкой внутренним диаметром 30 мм и максимальной глубиной отбора 400 мм. Из кернов донных отложений отбирали образцы через интервалы 2-10 см в зависимости от консистенции и состава осадка.

В летнее время распределение проб по флаконам, определение основных химических параметров, введение меченых субстратов и фиксацию образцов проводили после отбора проб непосредственно на лодке, а в подледный период – в специально оборудованной палатке, установленной на льду над лункой. Температура в палатке во время проведения исследований в феврале-марте 2003 г. варьировала в пределах от - 4°C до - 5°C, за пределами палатки – от – 15°C до – 25°C (Саввичев и др., 2005).

5.2.2 Измерения скоростей микробных процессов

Интенсивности микробных процессов: световой и темновой ассимиляции углекислоты, сульфат-редукции, метаноокисления и метаногенеза определяли радиоизотопным методом с использованием соединений NaH¹⁴CO₃, Na₂³⁵SO₄, ¹⁴CH₄, ¹⁴CH₃COONa, добавляемых в пробы

воды или донных отложений (Гальченко, 1989). В заполненные озерной водой стеклянные флаконы вносили соответствующие радиоактивномеченые соединения (см. ниже), и инкубировали в условиях *in situ*, вывешивая на капроновом фале на те же горизонты, с которых были отобраны пробы воды. Пробы донных отложений инкубировали в 5-мл пластиковых шприцах с резиновым поршнем и обрезанным краем (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005), либо в стеклянных трубках диаметром 1 см и длиной 10 см (Kosolapov et al., 2003). После наполнения образцом ненарушенных отложений, шприцы либо трубки закрывали резиновыми газонепроницаемыми пробками без доступа воздуха (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005). Инкубацию донных осадков проводили либо в придонных горизонтах озер на тех же станциях (Саввичев и др., 2005), либо при температурах, соответствующих температуре в придонных горизонтах (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005; Каллистова и др., 2006; Kosolapov et al., 2003). Лабораторная обработка проб и измерения радиоактивностей проводилась сотрудниками Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН (г. Москва) и Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (п. Борок Ярославской области).

Фотосинтез и темновая ассимиляция углекислоты. Для измерения скорости фотосинтеза (световой ассимиляции углекислоты) в заполненные озерной водой 30-мл стеклянные флаконы вносили 0.1-0.2 мл радиоактивномеченого бикарбоната NaH¹⁴CO₃ (конечная активность в склянке 10мкКи). В контроля качестве темнового (темновая ассимиляция углекислоты) использовали флаконы, которые сразу после отбора пробы заворачивали в алюминиевую фольгу и вывешивали на те же горизонты. В зимнее время склянки вывешивали через ледовую лунку, которую на время экспозиции закрывали сверху куском льда (Саввичев и др., 2005). На каждом горизонте использовали по 2 светлых и 1 затемненную фольгой склянки. Длительность инкубации составляла 6-12 часов светлого времени. После завершения инкубации с меченым субстратом пробы воды фиксировали, добавляя 0.5-1

мл 10% фосфорной кислоты (Лунина и др., 2007а) либо разбавленной HCl (Саввичев и др., 2005). Затем образцы фильтровали через капроновые фильтры с диаметром пор 0.2 мкм, двукратно промывали 5% фосфорной кислотой, высушивали при комнатной температуре и просчитывали их активность на сцинтилляционном счетчике Rack-Beta-1219 (LKB, Швеция) (Лунина и др., 2007а). Значение щелочного резерва определяли непосредственно после отбора пробы тест-набором Aquamerck (Германия).

Сульфатредукция. 29-31 июля 2001 г. скорость сульфатредукции оценивали следующим образом. В 60-ти миллилитровые склянки с озерной водой либо в стеклянные трубки с донными отложениями добавляли шприцем 100 мкл раствора Na2³⁵SO₄ (10 мкКи мл⁻¹). Одну из склянок с каждой глубины фиксировали добавлением формальдегида до конечной концентрации 2% для контроля. После 24-27 часов инкубации в склянки добавляли 1 мл насыщенного раствора КОН и 2 мл 10% ацетата цинка (Kosolapov et al., 2003). Для анализа соединений серы образцы воды и донных отложений сразу после отбора обрабатывались 20% ацетатом цинка. Сероводород, кислото-отгоняемые сульфиды, элементную серу, сульфиты и сульфаты определяли по методу Волкова и Жабиной (1990). Концентрация сульфат-иона в воде и поровой воде донных отложений, полученной путем центрифугирования, измерялась спектрофотометрически (Kosolapov et al., 2003). Кислото-растворимые сульфиды отгонялись потоком азота и собирались в ловушки, содержащие 5% ацетат цинка. Радиоактивность сульфидов кислоторастворимых измерялась на жидкостном сцинтилляционном счетчике Mark-II (Nuklear, Chicago, USA) (Kosolapov et al., 2003).

В остальные даты фиксацию осуществляли добавкой 0.5 - 1 мл насыщенного раствора КОН. Лабораторная обработка после инкубации осуществлялась в Институте микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН (г. Москва) по стандартным методикам, описанным в работах Гальченко (1989, 1994), Иванова с соавторами (1992), Русанова с соавторами (1998). Концентрацию сульфата определяли на ионном хроматографе Biotronik (Германия) (Саввичев и др., 2005).

Метаногенез и метаноокисление. Скорость метаногенеза определяли ¹⁴CH₃COONa лобавки образцы В качестве субстратов путем В NaH¹⁴CO₃ метаногенез) или (гидрогенотрофный (ацетокластический метаногенез), как описано выше для сульфатредукции. Для оценки скорости метаноокисления использовали в качестве субстрата ¹⁴СН₄. Добавляли 100 – 200 мкл водных растворов меченых соединений. Длительность инкубации составляла 24 часа. Фиксацию проводили добавкой 0.5 - 1 мл насыщенного раствора КОН (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005). Для определения содержания метана использовали "head-space" метод отбора проб воды и осадков в соответствии с методикой фазово-равновесной дегазации (Большаков, Егоров, 1987). Концентрацию метана в пробах определяли на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором «Хром-5» (Пименов и др., 2003). Подробное описание методик приведено в работах Гальченко (1989), Большакова и Егорова (1987).

Скорости всех процессов рассчитывали по формуле (Гальченко, 1989):

$$I = r \cdot C \cdot (R \cdot \varDelta t)^{-1},$$

где:

I –скорость процесса (мкг С (или S) π^{-1} сут⁻¹);

C – концентрация метана, CO_2 , или сульфата в воде или донных отложениях озера (мкг C(или S) л⁻¹);

r – радиоактивность продукта, т.е. образовавшихся метана, CO₂, соединений серы, биомассы бактерий и экзометаболитов (имп мин⁻¹);

R – радиоактивность субстрата, т.е. внесенного метана, бикарбоната или сульфата (имп мин⁻¹).

 Δt – время экспозиции пробы (сут).

Изотопный состав серы. Определение состава стабильных изотопов серы сульфатов и сероводорода проводили на масс-спектрометре МИ-1202 (Украина) по методике, описанной в работе Есикова (1980). Определение проводилось сотрудниками Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН (г. Москва). Изотопный состав выражали в виде отклонения состава исследуемого образца от стандартного эталона по формуле (Галимов 1984):

$$\delta^{34}$$
S = [(R_x- R_{ct})/ R_{ct}]*10³, ⁰/₀₀,

Где:

 $R_x = {}^{34}S/{}^{32}S$ – отношение изотопов в измеряемом образце, $R_{cr} = {}^{34}S/{}^{32}S$ – отношение изотопов в стандарте.

5.2.3 Оценка численности бактерий

Сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) в озере Шира оценивалась в июлеавгусте 2001 г. (Kosolapov et al., 2003) методом посева на анаэробную питательную среду Постгейта "С", содержащую 7% NaCl (Postgate, 1984). После отбора образцы воды либо донных отложений несколько раз подряд десятикратно разводили вышеуказанной жидкой средой. Затем пробирки с разведенными образцами заполнялись до верха агаровой средой того же состава, содержащей лактат в качестве питательного субстрата. После заполнения пробирки закрывались резиновыми пробками и икубировались при + 20°C в течение двух месяцев. Колонии черного цвета принимались за колонии сульфатредуцирующих бактерий и подсчитывались визуально (Kosolapov et al., 2003).

Оценка численностей бактерий методом FISH-TSA. В образцах воды и донных отложений, отобранных из озер Шира и Шунет в июле 2002 г., были оценены численности СРБ и архей, а также общая численность микроорганизмов домена Eubacteria методом флуоресцентной *in situ*

гибридизации с усилением сигнала тирамидом (FISH-TSA) (Каллистова и др., 2006). Гибридизацию клеток проводили с мечеными пероксидазой хрена олигонуклеотидными зондами, специфичными для доменов Bacteria (EUB338 (Amann et al., 1990)), Archaea (ARCH915 (Stahl, Amann, 1991)), а также для Desulfovibrionaceae (SRB385Db (Rabus al.. 1996)) семейств et И Desulfovibrionaceae-Desulfobulbaceae (SRB385 (Amann et al., 1990)). Ha основе стандартных методик (Amann et al., 1992; Pernthaler et al., 2002) в Институте микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН были подобраны условия для гибридизации клеток из высокоминерализованных образцов исследуемых озер (Каллистова И др., 2006). Общую численность микроорганизмов определяли с помощью универсального красителя DAPI (0.5 нг мкл⁻¹) (см. Главу 3). Клетки бактерий подсчитывались в 20-40 полях зрения флуоресцентного микроскопа Zeiss (Германия) при 1000-кратном увеличении с использованием наборов светофильтров №2 (для DAPI) и HQ-Cy3 (AHF, "Analysentechnik", Германия) для клеток, гибридизовавшихся с олигонуклеотидными зондами.

5.3 Изотопный состав серы в озерах Шира и Шунет

Для выяснения вопроса, является ли сероводород в озерах Шира и Шунет биогенным или абиогенным, был исследован изотопный состав серы, входящей в состав сульфата и сульфида. Величины δ³⁴S для летнего времени в озере Шира представлены в Таб. 5.1.

Глубина, м	δ^{34} S-SO ₄ ²⁻ , ⁰ / _{oo}	δ^{34} S-H ₂ S ⁻ , $^{0}/_{oo}$
0	16.8	
7	17.6	
11	17.2	
14	17.7	
16	17.5	-43.9
18	18.2	-45.8
22,5	17.5	-39.6

Таблица 5.1 – Изотопный состав сульфатов и сероводорода в водной толще озера Шира в августе 2001 (Пименов и др., 2003)

Из данных Таблицы 5.1 видно, что сульфид существенно обеднен тяжелым изотопом ³⁴S по сравнению с сульфатом, что является признаком биогенного происхождения сульфида. В зимнее время прослеживалась та же тенденция (Таб. 5.2). Известно, сульфат-редукции ЧТО В процессе бактерии восстанавливают в первую очередь те молекулы сульфата, в состав которых входит более легкий изотоп серы, что приводит к обогащению сульфида легким изотопом. При этом величина фракционирования изотопов серы при сульфатредукции обратно пропорциональна скорости процесса (Kaplan, Rittenberg, 1964; Canfield, 2001). Увеличение скорости сульфатредукции сопровождается утяжелением остаточного сульфата, однако, в озере Шира из-за высокой концентрации сульфатов в водной толще чувствительности масс-спектрометрического анализа недостаточно для регистрации таких изменений (сравните порядок концентраций: (мг л⁻¹) для сульфида и (г л⁻¹) для сульфата).

Габлица 5.2 – Изотопный состав серных соединений в водной толще и	-
донных осадках оз. Шира в феврале 2003 (Саввичев и др., 2005)	

Глубина,	δ^{34} S-H ₂ S,	δ^{34} S-SO ₄ ²⁻ ,	Горизонт осадка,	δ^{34} S-H ₂ S,
М	‰	%0	СМ	‰
16	- 37.3	28.4	0 – 3	- 0.1
16.5	- 40.9	17.4	3 – 8	- 3.9
19	-41.0	14.0	10 – 15	- 11.6
21.5	-41.2	20.3	17 – 23	- 7.5
			25 - 30	- 10.2

Аналогичная ситуация наблюдалась и в оз. Шунет, где сульфид также был обеднен тяжелым изотопом серы ³⁴S по сравнению с сульфатом, однако величина фракционирования была в среднем меньше, что может быть следствием более высоких скоростей сульфатредукции, чем в оз. Шира (Таб. 5.3).

Таблица 5.3 – Изотопный состав серных соединений в водной толще и донных осадках оз. Шунет (февраль – март 2003 г.) (Саввичев и др., 2005)

Глубина, м	δ^{34} S-H ₂ S,	δ^{34} S-SO ₄ ²⁻ ,	Горизонт осадка,	δ^{34} S-H ₂ S, ‰
	‰	%0	СМ	
4,5	- 36.4	16.6	0-5	- 3.0
4,75	- 32.2	15.0	5 - 10	- 16.9
5,35	- 19.3	15.4	12 – 15	- 19.3

Таким образом, показано, что сульфид, содержащийся в водной толще и донных отложениях обоих озер, имеет явное биогенное происхождение, т.е.

является продуктом жизнедеятельности бактерий (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005).

5.4 Скорости микробных процессов в озере Шира 5.4.1 Сульфатредукция в водной толще озера Шира: натурные данные и математическая модель.

Измерения скоростей бактериальной продукции сульфида, т.е. сульфатредукции, проводились нами в водной толще и донных отложениях озера Шира в июле 2001 г. (Kosolapov et al., 2003), августе 2001 г. (Пименов и др., 2003), июле 2002 г. (Каллистова и др., 2006) и в феврале 2003 г. (Саввичев и др., 2005). Измерения проводились изотопным методом с использованием радиоактивно-меченого сульфата Na₂³⁵SO₄.

На Рис. 5.1 приведены все имеющиеся данные по вертикальному распределению скорости сульфат-редукции в водной толще центральной части озера Шира (станция 3 на Рис. 5.4). Несмотря на то, что профили для разных дат различаются, наблюдается общая тенденция в распределении активности этого процесса. А именно: в редокс-зоне или непосредственно под ней всегда наблюдается локальный максимум сульфатредукции, ниже которого интенсивность процесса снижается (Рис. 5.1). В придонных слоях вновь наблюдается усиление активности сульфат-редуцирующих бактерий. Подобный профиль с двумя максимумами, один из которых локализован в второй вблизи хемоклине, а _ дна. является характерным ЛЛЯ стратифицированных озер (Горленко и др., 1977). Верхний максимум формируется в зоне максимального потока органики, который складывается из двух составляющих: 1) оседания из верхних аэробных слоев и 2) продукции органического вещества фототрофными аноксигенными бактериями непосредственно в этой зоне. Показано, что фототрофные бактерии выделяют до 40% синтезированных органических веществ в окружающую среду (Czeczuga, Gradzki, 1973). Кроме того, редокс-зона в озере Шира, как и в большинстве меромиктических озер, расположена на глубине «ступеньки» солености. Здесь из-за скачка плотности резко замедляется скорость оседания детрита, что приводит к накоплению органических остатков (эффект «жидкого дна»), и как следствие – усилению активности гетеротрофных бактерий, в том числе и сульфатредуцирующих. Увеличение же суммарной активности сульфатредукторов вблизи дна (придонный пик сульфатредукции) вызвано тем, что здесь накапливается наиболее трудно разлагаемое оседающее органическое вещество, которое подвергается постепенной анаэробной деструкции, конечным звеном которой является сульфат-редукция.

Вышеописанный формирования вертикальных механизм неоднородностей был формализован в одномерной математической модели вертикальной структуры оз. Шира, созданной в Институте биофизики СО PAH (Degermendzhy et al., 2002) и модернизированной Прокопкиным с соавторами (Прокопкин и др., 2010; Prokopkin et al., 2010). С помощью данной модели нами были проведены расчеты вертикального распределения скорости сульфатредукции в летнее время. На Рис. 5.2 видно, что расчетное вертикальное распределение качественно и количественно достаточно хорошо соответствует измеренному (Рис. 5.2). Следовательно, модель адекватно описывает процесс сульфатредукции и механизм формирования ее вертикального распределения, и может служить инструментом ДЛЯ количественного прогноза. Наблюдаемое нами в оз. Шира характерное распределение скорости сульфатредукции с двумя максимумами является типичным для стратифицированных водоемов (Сорокин, 1966; Горленко и др., 1977).

Профиль численности сульфат-редуцирующих бактерий (СРБ) в водной толще был оценен методом посевов на селективную среду (Рис. 5.1 Е) (Kosolapov et al., 2003). Видно, что характер вертикального распределения численности практически совпадал с профилем сульфат-редукции (Рис. 5.1,

267

сравнить Д и Е). Данное совпадение объясняется тем же вышеизложенным механизмом формирования максимумов активности сульфатредуцирующих бактерий, и также является типичным явлением. Как показано в работах Чеботарева (1975), интенсивность сульфатредукции в стратифицированных озерах коррелирует с численностью сульфатредуцирующих бактерий (Чеботарев, 1975, цит. по Горленко и др., 1977).



Рис. 5.1 – Профили скоростей сульфат-редукции в водной толще оз. Шира. А:
25 августа 2001 (Пименов и др., 2003); Б: 13 июля 2002 (Каллистова и др., 2005); В: 24 февраля 2003 г. (Саввичев и др., 2005); Г: 25 июля 2001 (Kosolapov et al., 2003); Д: 5 августа 2001 (Kosolapov et al., 2003); Е:
Численность колоние-образующих единиц (КОЕ) сульфат-редуцирующих бактерий 5 августа 2001 г. (Kosolapov et al., 2003)



Рис. 5.2 – Расчетная (а) и измеренная (б) скорость сульфатредукции в водной толще озера Шира для августа 2001 г.

5.4.2 Сульфатредукция в донных отложениях озера Шира

В центральной части озера вертикальный профиль сульфатредукции в донных осадках измерялся 29 июля и 9 августа 2001 г. (Kosolapov et al., 2003), 26 августа 2001 г. (Пименов и др., 2001), и 24 февраля 2003 г. (Саввичев и др., 2005). Профили приведены на Рис.5.3. Максимальная валовая скорость сульфатредукции наблюдалась в верхнем слое донных осадков, затем резко снижалась. Профиль является типичным для донных отложений, граничащих с анаэробными водами (Горленко и др., 1977). Высокая активность сульфатредуцирующих бактерий на поверхности ила объясняется скоплением здесь органики, оседающей из водной толщи, и служащей субстратом для гетеротрофных микроорганизмов, в том числе – По сульфатредукторов. мере проникновения вглубь для осадков легкодоступная органика исчерпывается, что приводит к снижению валовой скорости сульфатредукции (Рис. 5.3). Однако, распределение численности сульфатредуцирующих бактерий по глубине донных отложений характеризовалось дополнительным максимумом в более глубоких слоях (Рис.5.3), для объяснения которого у нас недостаточно данных.



Рис. 5.3 – Скорости сульфатредукции в донных отложениях профундали оз. Шира (станция 3 на Рис. 5.4)

Скорость восстановления сульфатов в иловых отложениях сублиторали (ст. 9 на Рис. 5.4), отобранных с 12-метровой глубины, была примерно такой же, как в илах профундали (Таб. 5.4). Она изменялась в пределах 0.214-0.918 мг S кг⁻¹ сут⁻¹ и также была максимальной в поверхностном слое. Иловые отложения глубоководной части озера содержали высокие концентрации кислоторастворимых сульфидов (373-1092 мг кг⁻¹) и элементной серы (175-2746 мг кг⁻¹).

Наибольшая сульфатредукции скорость Шира была В 03. зарегистрирована в песчаных грунтах литорали вблизи впадения р. Сон (станция 1) и выпуска бытовых сточных вод (станция 5), где она составляла 1.43-12.06 мг S кг⁻¹ сут⁻¹ (Табл. 5.4). Здесь активизация деятельности сульфатредукторов может быть вызвана поступлением в донные отложения легкоокисляемых органических веществ, В основном антропогенного высокой температурой $(22.0-23.1^{\circ}C).$ происхождения, И относительно Восстановление сульфатов в песках этих литоральных участков происходило с высокой скоростью, хотя концентрация акцептора электронов – сульфата в них была в несколько раз ниже, чем в иловых отложениях глубоководной части – 1.20-3.36 г кг⁻¹ и 6.15-9.80 г кг⁻¹, соответственно.



Рис. 5.4 – Схема размещения станций отбора проб для измерений скоростей сульфатредукции 29-31 июля 2001 г. (Kosolapov et al., 2001)

Скорость сульфатредукции в донных осадках прибрежных мелководий, источников поступления аллохтонного удаленных ОТ органического вещества (станции 8, 7, Рис. 5.4), была примерно на 2 порядка ниже и изменялась в пределах 0.056-0.386 мг S кг⁻¹ сут⁻¹. По-видимому, такая низкая скорость процесса при наличии больших количеств сульфатов и высокой температуре обусловлена недостатком органических субстратов. Заметной интенсификации процесса в грунтах, отобранных близи пляжа курорта (ст. 7 на Рис. 5.4), не наблюдалось (Таб. 5.4). Вероятно, питательные вещества антропогенного происхождения, поступающие участке, на ЭТОМ утилизируются в водной толще.

Таким образом, наиболее высокая скорость сульфатредукции в оз. Шира наблюдалась в донных осадках литорали вблизи впадения р. Сон и выпусков бытовых сточных вод поселка, т.е. в местах поступления органических субстратов и биогенных соединений (Таб. 5.4). В песках прибрежных мелководий, удаленных ОТ источников аллохтонного органического вещества и участков, не зарастающих высшей водной растительностью, интенсивность восстановления сульфатов была относительно невелика, хотя температура (20-23°C) благоприятствовала протеканию процесса.

Условия обитания сульфатредукторов в литорали и профундали оз. Шира существенно отличаются. Профундаль характеризуется стабильностью физико-химических условий, постоянным анаэробиозом и экстремально низкой температурой. Микробное восстановление сульфатов происходит здесь в диапазоне температур 1.1-1.4°С. Песчаные осадки в литорали контактируют с кислородсодержащей водой и испытывают резкие сезонные и суточные колебания температуры. Вероятно, эти биотопы населяют разные популяции сульфатредукторов, адаптированные к различным условиям существования. В профундали могут развиваться психрофилы и/или психротрофы, а в литорали – мезофилы, причем более аэротолерантные. В литорали оз. Шира высокая скорость восстановления сульфатов была зарегистрирована в верхних слоях донных осадков, которые омываются кислородсодержащей водой. Восстановленные условия, благоприятные для жизнедеятельности сульфатредукторов, существуют в глубине донных отложений, но там резко уменьшается содержание легкоокисляемого органического вещества.

Однако известно, что в окисленных грунтах сульфатредукция может Pfennig, происходить В анаэробных микронишах (Bak, 1991). Сульфатредукторы обладают ферментами, такими как суперокиддисмутаза и каталаза, которые защищают их клетки от токсического воздействия молекулярного кислорода позволяют В аэробных И ИМ выживать

местообитаниях, например, в морской воде. Более того, установлено, что в микроаэрофильных условиях эти микроорганизмы способны использовать для дыхания нитрат или даже кислород (Dilling, Cypionka, 1990).

Таблица 5.4 – Численность сульфатредукторов и скорость сульфатредукции в донных осадках литорали и сублиторали озера (по Kosolapov et al., 2003)

	Место отбора		Тип донных			SO ₄ ²⁻ ,	СРБ,	
	проб	Глубина воды, м	отложений		Горизонт грунта, см	г/кг	КОЕ мл ⁻¹	Сульфатредукция, мг S кг ⁻¹ сут ⁻¹
			Темный крупный	22.0	0-3	3.36	1000	12.060
1	Устье р. Сон	1.0	песок с галькой и остатками макрофитов		3-8	1.49	_*	2.133
0	У северного	1.1	Крупный песок с	22.0	0-3	1.83	20	0.056
8 берега	1.1	галькой		3-8	1.44	-	0.204	
7 У пляжа 7 курорта	1 1	Крупный песок с	22.0	0-3	1.92	100	0.276	
	1.1	галькой		3-8	2.16	-	0.386	
	Залив у		Темный крупный	22.2	0-3	1.88	200000	8.241
5	выпуска стоков санатория	1.0	песок с галькой		3-8	2.01	-	4.662
	Залив у		Сверху - светлый	23.1	0-3	1.77	180000	1.428
впадения 6 загрязненного	0.9	песок с галькой,		3-8	1.20	-	2.800	
	загрязненного		глубже - темный		8-12	1.68	-	4.226
	ручья		песок с илом					
	Сублитораль		Темно-серый вязкий	1.2	0-3	7.05	8000	0.918
9	напротив	12	12 ил		3-9	7.32	-	0.214
	стационара				9-15	7.01	-	0.404

* Прочерки означают отсутствие данных

5.4.3 Метаногенез и метанокисление в озере Шира.

В водной толще оз. Шира скорость метаногенеза характеризовалась локальным пиком в зоне хемоклина как в летнее, так и в зимнее время (Рис.5.5). Однако зимой скорость метаногенеза в водной толще была значительно меньше, чем летом (см. Таб. 5.6, 5.7) и нарастала по направлению ко дну (Рис.5.5., А, Б).



Рис. 5.5 – Скорость метаногенеза в оз. Шира

А – в водной толще летом: 1 – август 2001 (Пименов и др., 2003); 2 – июль 2002 (Каллистова и др., 2006).

Б – в водной толще зимой, февраль 2003 (Саввичев и др., 2005).

В – в донных отложениях летом: 1 – август 2001 (Пименов и др., 2003); 2 – июль 2002 (Каллистова и др., 2006).

Г – в донных отложениях зимой, февраль 2003 (Саввичев и др., 2005).

Пунктиром показана редокс-зона

В донных отложениях продукция метана была на порядок интенсивнее, чем в водной толще (Рис. 5.5). При этом, как в воде, так и в донных отложениях, зимой метаногенез протекал существенно медленнее, чем летом (Рис. 5.5. В,Г).



Рис. 5.6 – Скорость окисления метана в оз. Шира

А – в водной толще летом, август 2001 (Пименов и др., 2003); 1 – скорость окисления метана, 2 – концентрация метана.

Б – в водной толще зимой, февраль 2003 (Саввичев и др., 2005); 1 – скорость окисления метана, 2 – концентрация метана

В - в донных отложениях, август 2001 (Пименов и др., 2003).

Г - в донных отложениях, февраль 2003 (Саввичев и др., 2005)

Летние профили метаногенеза в донных отложениях 2001 года по неизвестной причине отличались от таковых для 2002 (Рис. 5.5 В, Г).

Концентрация метана в водной толще была на одном уровне зимой и летом, и характеризовалась нарастанием с глубиной, начиная от хемоклина (Рис. 5.6 А, Б). Данное распределение может объясняться тем, что основной поток метана идет из донных отложений, как следует из наших оценок скорости метаногенеза. Летом окисление метана в аэробной зоне было сравнимо по скорости с таковым в анаэробной зоне, однако зимой анаэробное окисление метана явно преобладало над аэробным (Рис. А, Б). В верхней части донных отложений оз. Шира скорость метаноокисления была на порядок выше, чем в воде и зимой и летом. Максимальные скорости окисления метана как летом, так и зимой были зарегистрированы в самых верхних слоях, на границе с водой (Рис. 5.6 В,Г). Таким образом, как метаногенез, так и метаноокисление в озере Шира в зимних условиях протекают медленнее, чем летом. Поскольку температура в анаэробной зоне и донных отложениях озера практически не меняется по сезонам (см. Главу 2), то основной причиной снижения скоростей, вероятно, является снижение поступления органических субстратов в результате снижения первичной продукции в подледный период (см. п. 5.7). Соответственно, снижение продукции метана порождает снижение его окисления метаноокисляющими анаэробных процессов, бактериями. В отличие от протекающих В монимолимнионе и донных отложениях, на процесс метаноокисления в аэробной зоне озера, по-видимому, существенно влияет сезонное изменение температуры: в летнее время скорости аэробного метаноокисления в верхних слоях были заметно выше чем зимой (Рис. 5.6 А,Б). Сравнительный анализ баланса потоков углерода и серы за счет различных процессов приводится далее в п. 5.3.6.

5.4.4 Численности сульфатредуцирующих и метаногенных микроорганизмов в водной толще оз. Шира

Как было показано в п.п. 5.3.1-5.3.2, в водной толще озера численность бактерий-сульфатредукторов (СРБ), вырастающих на питательной среде с лактатом в качестве субстрата, не превышала 200 КОЕ мл⁻¹ (КОЕ – колоние-5.1 E). Наибольшее образующие единицы) (Рис. ИХ количество регистрировалось в нижней части хемоклина и у дна (Рис. 5.1 Е). Количество сульфатредукторов в донных отложениях профундали озера, которые были представлены темно-серыми и черными илами с сильным запахом сероводорода, было существенно выше - достигало в поверхностном горизонте 10^4 КОЕ мл⁻¹ и уменьшалось с глубиной (Рис. 5.3).

Известно, что метод посевов на селективные среды, как правило, сильно занижает истинную численность микробных клеток в природных местообитаниях (Заварзин, 2004). Поэтому в настоящее время для оценки численностей тех или иных микроорганизмов применяются методы, независящие от культивирования. В частности, модификация метода флуоресцентной *in-situ* гибридизации (FISH-TSA) была применена для оценки общей численности бактерий, архей и сульфатредуцирующих бактерий и в оз. Шира (Рис. 5.7). Численность СРБ, оцененная Каллистовой с соавторами (Каллистова и др., 2006) этим методом в хемоклине озера, была на 4 порядка больше, чем оцененная ранее методом посева (Рис. 5.7). Однако, по данным метода FISH-TSA, вертикальное распределение СРБ было почти равномерным, в то время как при использовании метода культивирования был выявлен резкий пик численности в районе хемоклина.



Рис. 5.7 – Вертикальное распределение микроорганизмов по профилю хемоклина озера Шира, определенное методом FISH-TSA (Каллистова и др., 2006)

(А): Общая численность микроорганизмов (▲) (DAPI), численность доменов Васteria (Δ) (зонд EUB338), Archaea (●) (зонд ARCH915) и общую численность СРБ (○) (зонды SRB385 + SRB385Db).
(Б) Численность семейств СРБ *Desulfobacteriaceae* (■) (зонд SRB385Db) и

Desulfovibrionaceae (□) (зонд SRB385)

Возможно, повышенная активность СРБ в зоне хемоклина создает предпосылки для более успешного роста на селективной среде, что привело к выявлению пика численности на Рис. 5.1 Е. Другое возможное объяснение – недостаточная селективность метода FISH-TSA, в результате которой за СРБ могли быть приняты другие бактерии. Известно, что зонд SRB385 обладает специфичностью не только к СРБ, но и к большому числу дельта-протеобактерий (Zarda et al., 1997; Tonolla et al., 2000).

В донных отложениях профундали озера численность микроорганизмов также была оценена методом FISH-TSA. Результаты приведены в Таблице 5.5.

Таблица 5.5 – Количественная идентификация микроорганизмов в слое осадков озера Шира, проведенная с помощью метода FISH-TSA (Каллистова и др., 2006)

Глубина,	Численность микроорганизмов, х 10 ⁸ кл г ⁻¹ осадка				СРБ:	
СМ	DAPI*	Бактерии**	Сульфатредукторы		Археи	Археи
			SRB385***	SRBDb385****		
1-2	307±15.4	124.6±6.2	20.6±1	88±4.4	80.2±4	1: 0.74
2-5	70.4±3.5	19.6±1.0	0.7±0.07	3.2±0.3	3.2±0.3	1: 0.82
5-10	51.5±2,6	9.6±1	0.5±0.05	1.5±0.15	2.5±0.25	1: 1.25
10-15	16.4±0.8	1.9±0.2	0.05 ± 0.005	0.08 ± 0.008	0.15±0.015	1: 1.15
20-25	8.5±0.4	0.7 ± 0.07	0.03±0.003	0.05 ± 0.005	0.08±0.008	1:1
25-30	6.4±0.3	0.3±0.03	0	0.01±0.001	0.05±0.005	1:5
30-35	3.4±0.2	0.3±0.03	0	0	0.03±0.003	-

* - общая численность микроорганизмов, определенная с помощью флуоресцентного красителя DAPI.

** - общая численность бактерий, определенная при гибридизации с зондом EUB338, специфичным для домена Bacteria.

***- численность семейства *Desulfovibrionaceae*, определенная при гибридизации с зондом SRB385.

****- численность семейства *Desulfobacteriaceae*, определенная при гибридизации с зондом SRB385Db.

Численности, оцененные методом FISH-TSA в донных отложениях также оказались на несколько порядков выше, чем оцененные по посевам, однако тенденция вертикального распределения в обоих случаях одинакова – максимальные численности микроорганизмов были зафиксированы в верхнем слое донных отложений (Таб. 5.5, Рис. 5.3).

В поверхностных горизонтах песчаных грунтов литорали озера численность сульфатредукторов оценивалась только по посевам. Как правило, она была относительно невелика и составляла 20-100 КОЕ мл⁻¹ (Таб. 5.4). Увеличение численности СРБ на несколько порядков величины наблюдалось в местах поступления в озеро аллохтонного органического вещества: вблизи впадения р. Сон (Станция 1, 10^3 КОЕ мл⁻¹) и у выпуска бытовых сточных вод курорта и поселка (Станции 5,6 ($1.8 \div 2.0$) × 10^5 КОЕ мл⁻¹) (Табл. 5.4).

В работе Каллистовой с соавторами (2006) было обнаружено одновременное сосуществование СРБ и архей в близком количественном соотношении, как для водной толщи, так и для донных отложений (Рис.5.7, Таб. 5.5). Предполагается, что в данной экосистеме все обнаруженные археи относятся к метаногенам, т.к. с одной стороны в исследуемых озерах показано высокое содержание СН₄ и интенсивный метаногенез, с другой стороны физико-химические свойства местообитания не благоприятны для активности других представителей домена Archaea (экстремальных галлофилов и термофилов). Следует отметить, что взаимоотношения СРБ и метаногенных архей (МА) достаточно хорошо изучены для пресноводных и морских местообитаний. В морских экосистемах, где поддерживается высокий уровень сульфата, СРБ вытесняют МА при конкуренции за ацетат и Н₂ (Кузнецов и др., 1985). Отличительной особенностью исследованных озер является высокое содержание сульфата, в несколько раз превышающее его значения в морских местообитаниях. В связи с этим следовало бы ожидать преобладание СРБ над МА. Однако в хемоклине Шира было обнаружено одновременное сосуществование активных СРБ и архей в близком количественном соотношении (Рис. 5.7). Несмотря на то, что на отдельных глубинах хемоклина СРБ численно преобладали над МА и наоборот, утверждать о доминировании какой либо группы не следует, поскольку разница в абсолютных значениях слишком мала. Такое сосуществование МА и СРБ возможно, если эти группы не лимитированы по субстрату и(или)

используют разные источники углерода. Действительно, было обнаружено, что в водной толще и верхнем слое осадков озера Шира вклад ацетокластического метаногенеза не превышал 19% (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005), т.е. большая часть метана образовывалась из водорода, а меньшая - из ацетата.

5.4.5 Первичная продукция органического вещества в оз. Шира: натурные данные и математическая модель

Первичная продукция органики измерялась в озере Шира в летнее и зимнее время радиоизотопным методом с использованием меченого углерода в составе NaH¹⁴CO₃ (Пименов и др., 2003; Лунина и др., 2007; Саввичев и др., 2005). Вертикальные распределения скорости ассимиляции углерода приведены на Рис. 5.8. Световая ассимиляция характеризует скорость фотосинтеза, в то время как темновая ассимиляция складывается из двух процессов – хемосинтеза и гетеротрофной ассимиляции углекислоты. Мы предполагаем, что темновая ассимиляция углекислоты в зоне хемоклина обусловлена в основном хемосинтезом, т.к. в этой зоне наблюдается одновременное присутствие окислителя О₂ и восстановленных соединений серы и азота, что создает благоприятные условия для хемосинтезирующих бактерий, таких как бесцветные серные бактерии, нитрификаторы и пр. В аэробной зоне темновая ассимиляция может быть связана главным образом с гетеротрофными процессами (Кузнецов и др., 1985).

Из анализа распределений световой ассимиляции видно, что основная продукция органики в оз. Шира осуществляется в аэробной зоне в процессе оксигенного фотосинтеза (Рис. 5.8). В летнее время в аэробной зоне наблюдалось два максимума фотосинтеза – непосредственно под поверхностью (около 2-4 м), и в зоне термоклина (около 8 м).



Рис. 5.8 – Ассимиляция углекислоты в водной толще оз. Шира. 1 – световая ассимиляция (фотосинтез), 2 – темновая ассимиляция. А – август 2001 (по Пименов и др., 2003); Б – июль 2002 (световая – по Лунина и др., 2007б; темновая – Пименов, неопубл.); С – февраль 2003 (Саввичев и др., 2005). Пунктирной линией показана редокс-зона

Данное распределение является типичным для глубоких водоемов (Горленко 1977). Третий максимум световой И др., ассимиляции, расположенный в зоне хемоклина, обусловлен аноксигенным фотосинтезом, осуществляемым фототрофными аноксигенными бактериями, развивающимися на верхней границе распространения сероводорода (См. Главу 3). В зимнее время интенсивность процессов оксигенного и аноксигенного фотосинтеза заметно снижалась (Рис. 5.8 С), что, несомненно, вызвано значительным снижением освещенности под ледяным покровом, а также температуры. Следует заметить, что зимой 2003 г., когда проводились измерения, на поверхности льда было относительно много снега (см. Главу 4), и освещенность подо льдом было низкой. В те зимы, когда снеговой покров отсутствовал или был слабым, количество света, проникающего в водную толщу сквозь лед, увеличивалось на порядок (Рогозин и др., 2009; Rogozin et al., 2009), однако скорость фотосинтеза не оценивалась.

Полученное нами распределение скорости фотосинтеза в летнее время в целом совпадает по величине и распределению с измеренным Копыловым с соавторами летом 1999 г. (Коруlov et al., 2002б).

Темновая ассимиляция углекислоты также характеризовалась наличием максимума в хемоклине, как летом, так и зимой (Рис. 5.8). Данный максимум обусловлен в первую очередь активностью хемосинтезирующих бактерий, окисляющих кислородом восстановленные соединения, поступающие снизу из анаэробного монимолимниона (Горленко и др., 1977; Кузнецов и др., 1985). Наличие четкого максимума темновой фиксации углекислоты в зоне хемоклина оз. Шира также было зарегистрировано Копыловым с соавторами летом 1999 г. (Коруlov et al., 2002б).

профили Вертикальные процессов ассимиляции углерода, рассчитанные с помощью математической модели, созданной в Институте биофизики CO PAH (Degermendzhy et al., 2002; Prokopkin et al., 2010), в целом по порядку величины и характеру расположения пиков совпадали с а именно: в зоне хемоклина на границе аэробных и измеренными, анаэробных слоев воды наблюдается четкий максимум аноксигенного фотосинтеза и хемосинтеза (Рис. 5.9). Именно в этой зоне условия по основных лимитирующих компонентов (света, кислорода и потокам сероводорода) наиболее благоприятны для фототрофных серных бактерий и хемосинтезирующих тионовых бактерий, соответственно (Degermendzhy et al., 2002). Однако, в данной модели скорость оксигенного фотосинтеза демонстрировала максимум только В гиполимнионе, вблизи зоны термоклина, в то время как максимум, регистрируемый вблизи поверхности (Рис. 5.8) отсутствовал, что указывает на несовершенство модели.





Рис. 5.9 – Примеры вертикальных распределений скоростей микробных процессов оксигенного и аноксигенного фотосинтеза, а также хемосинтеза, рассчитанных с помощью одномерной математической модели озера Шира

5.4.6 Анализ сопряженности потоков серы и углерода в микробных процессах в озере Шира

На основе измеренных вертикальных распределений нами были оценены интегральные потоки углерода и серы под кв. м., расходующиеся на соответствующие процессы (Таб. 5.6). Таблица 5.6 – Интегральные потоки углерода и серы, участвующие в микробных процессах в озере Шира для августа 2001 (лето) и февраля 2003 (зима)

Процессы	Оз. Шира, дето ммольС(S)м ⁻² сут ⁻¹	Оз. Шира, зима <u>ммольС(S)м² сут⁻¹</u>
Оксигенный фотосинтез	72.2	14.8
Аноксигенный фотосинтез	4.9	0.5
Хемосинтез в хемоклине	1.5	1.3
Сульфатредукция в воде	27.3	2.4
Сульфатредукция в осадках	1.5	4.6
Метаногенез в воде	0.13	0.003
Метаногенез в осадках	0.07	0.006
Окисление метана	0.04	0.013

Оценим степень сопряжения серного цикла с циклом углерода, используя обобщенное уравнение сульфатредукции (Пименов и др., 2003):

$$2[CH_2O] + SO_4^{2-} > H_2S + 2HCO_3^{-}$$
.

Из данного уравнения следует, что на восстановление одного моля серы расходуется 2 моля органического углерода. Зная продукцию восстановленной серы (Таб. 5.6), можно рассчитать расход органического углерода на восстановление сульфатов, а затем сравнить его с продукцией органического углерода. Соответственно, обобщенная схема потоков углерода в озере Шира для летнего времени представлена на Рис. 5.10. На данном рисунке приведены валовые скорости под м² для оз. Шира в летнее

время, данные взяты из Таблицы 5.6, скорость сульфатредукции пересчитана в скорость расхода углерода.



Рис. 5.10 – Схема потоков углерода в озере Шира в летнее время. Стрелками показаны потоки, прямоугольниками - резервуары. Пунктиром обозначены резервуары и потоки, которые не оценивались в данной работе. Цифрами показаны потоки углерода (ммольС м⁻² сут⁻¹) в составе соответствующих соединений. Все данные для августа 2001 г по Пименову с соавторами (Пименов и др., 2003)

Легко видеть, что в озере Шира в летнее время за счет сульфатредукции минерализовалось около 73% органического углерода, образующегося в при оксигенном и аноксигенном фотосинтезе, а также хемосинтезе (Рис. 5.10). В зимнее время эта величина составила 83% (по данным Таб. 5.6).

Таким образом, можно заключить, что в озере Шира процессы продукции органического вещества и анаэробной деструкции согласованы и протекают примерно с одинаковым соотношением в течение года. Однако, остаются неизвестными скорости аэробной деструкции и поступление аллохтонного органического вещества в экосистему оз. Шира, поэтому полностью количественно описать круговорот углерода не представляется возможным.

Наряду с сульфатредукцией, терминальной фазой разложения органического вещества является процесс метаногенеза, который в озере Шира происходит преимущественно на водороде (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005). Из сопоставления значений скоростей цикла метана и серы видно, что в целом круговорот метана играет незначительную роль в экосистеме озера Шира, составляя доли процента от расхода органического углерода на сульфатредукцию (Рис. 5.10, Таб. 5.6), а основной терминальной фазой анаэробной деструкции является восстановление сульфатов, что объясняется большим количеством сульфата в исследуемых экосистемах (Пименов и др., 2003).

Существенные сезонные изменения касаются масштабов процессов микробного метаногенеза (МГ) и метаноокисления (МО) (Табл. 5.6). Интенсивность СН₄ образования от лета к зиме в водной толще оз. Шира уменьшается в 41 раз, а в донных осадках – в 11 раз. Примечательно, что МГ в водной толще является наиболее изменяемым сезонным параметром. Рассматривая деятельность анаэробных микроорганизмов в целом, можно

287

утверждать, что общий процесс анаэробной деструкции ослабляется в зимний сезон и при этом перераспределяется от МГ в пользу сульфатредукции.

Интенсивности процесса анаэробного МО претерпевают сезонные изменения подобно процессу сульфатредукции. В монимолимнионе процесс ослабляется (от лета к зиме) в 2.3 раза, а в донных осадках усиливается в 1.6 раза. В 15 раз уменьшается процесс классического (аэробного) МО, при этом столь значительное ослабление протекает на фоне одинакового (летом и зимой) содержания метана. Можно предположить, что процесс аэробного метанокисления значительной регулируется В мере температурным фактором, как уже было сказано в п. 5.3.3. С другой стороны, понижение активности микробных процессов в гиполимнионе и донных осадках нельзя связывать с температурными особенностями зимнего сезона, т.к. в этих слоях поддерживаются стабильно холодные условия.

Сероводород является необходимым компонентом фотосинтеза ПСБ, поэтому важно выяснить, может ли сероводород в оз. Шира стехиометрически лимитировать продукцию аноксигенного фотосинтеза.

В озере Шира скорость молекулярно-диффузионного потока сульфида из анаэробной зоны в зону хемоклина, оцененная по профилю концентрации сероводорода по первому закону Фика для величины коэффициента молекулярной диффузии 1.52×10^{-5} см² с⁻¹ (Jorgensen, Revsbech, 1983), варьирует в пределах 3-78 мкМ S м⁻² сут⁻¹, в то время как потребность аноксигенного фотосинтеза в сероводороде, рассчитанная исходя из интегральной скорости аноксигенного фотосинтеза, измеренной в 2001-2003 гг методом ¹⁴С (Пименов и др., 2003; Саввичев и др., 2005), составляет около 0.5 - 4 мМ S м⁻² сут⁻¹. Таким образом, если бы сероводород поступал в зону фотосинтеза ПСБ только за счет молекулярной диффузии из нижележащих слоев, его было бы явно недостаточно для наблюдаемой в озере интенсивности фотосинтеза. Даже максимальный поток сероводорода был бы на порядок меньше требуемого количества. Следовательно, значительное
количество сероводорода, необходимого для фотосинтеза ПСБ, должно либо производиться непосредственно в зоне развития ПСБ, т.е. в хемоклине, либо переносится в зону хемоклина из глубинных слоев за счет турбулентных процессов.

Исходя из обобщенного уравнения аноксигенного фотосинтеза (Горленко и др., 1977):

$$2CO_2 + H_2S + 2H_2O = 2[CH_2O] + H_2SO_4$$

для синтеза 2-х молей органического углерода требуется окислить 1 моль восстановленной серы, т.е. стехиометрически это процесс, обратный сульфатредукции. Следовательно, зная скорость аноксигенного фотосинтеза, можно рассчитать потребность этого процесса в сероводороде. Как видно из сравнения потребности в сульфиде для фотосинтеза, интенсивности продукции сероводорода как правило превышали либо были сравнимы с потребностью ПСБ (Рис. 5.11). В тех случаях, где сульфатредукция превышала потребность, как летом 2001 г. и зимой 2003 (Рис. 5.11), можно утверждать, что фотосинтез не был литмитирован сероводородом. В тех же случаях, когда скорость сульфатредукции равна потребности, можно говорить о лимитировании. Случай, когда продукция фотосинтеза в склянках превышала продукцию сероводорода, как это было летом 2002 г. (Рис. 5.11), означает, что в склянках фотосинтез протекал частично без участия сероводорода. Возможно, это связано с фотосинтезом несерных бактерий, которые тоже присутствуют в озере (Лунина и др., 2007б), либо это артефакт, вызванный несовершенством скляночного эксперимента.

Таким образом, из наших оценок следует, что продукция сероводорода непосредственно в хемоклине оз.Шира не является избыточной по отношению к аноксигенному фотосинтезу, и, следовательно, может лимитировать рост ПСБ. А значит, изменения количества сероводорода в период 2007-2012 (Рис.4.5, Глава 4), могли быть причиной изменения численности ПСБ, как обсуждалось в Главе 4. Однако, наблюдаемое интегральное количество сероводорода в водной толще зависит в большей степени от его концентрации в толще монимолимниона и в придонных слоях. Поэтому нельзя однозначно утверждать, что вспышка численности ПСБ в 2007-2008 гг обусловлена увеличением продукции сероводорода, тем более что прямых измерений продукции в этот период не проводили.



Рис. 5.11 – Потребность фототрофных серных бактерий в восстановленной сере, рассчитанная на основе уравнения фотосинтеза и измеренной скорости фотосинтеза () и скорость сульфатредукции () на различных глубинах озера Шира

Интегрирование измеренных распределений показало, что в зимнее время в профундали оз. Шира суммарная продукция сульфида в воде и донных осадках была примерно в 4 раза меньше, чем в летнее (Таб. 5.6). Кроме того, наблюдалось сезонное перераспределение интенсивности сульфатредукции между водой и донными осадками. А именно, в летнее время основное количество сероводорода образовывалось в водной толще, а в зимнее время – в донных осадках. Так, суммарная продукция сульфида летом в водной толще была в 8 раз выше, чем в донных осадках по данным Косолапова с соавторами (Kosolapov et al., 2003), и в 18 раз выше - по данным Пименова с соавторами (Пименов и др., 2003). В зимнее время, наоборот, интегральная скорость продукции сульфида в водной толще была примерно в 2 раза ниже, чем в донных осадках (Саввичев и др., 2005).

5.5 Скорости микробных процессов в озере Шунет 5.5.1 Сульфатредукция в водной толще озера Шунет

Скорость сульфатредукции измерялась изотопным методом в июле 2002 г., августе 2003 г. и 1 марта 2003 (Каллистова и др., 2006; Лунина и др., 2007а; Саввичев и др., 2005). Сульфатредукция летом 2002 была зарегистрирована только в зоне хемоклина и анаэробной зоне, тогда как зимой этот процесс был обнаружен на всех глубинах, в отличие от оз. Шира (Рис. 5.12), несмотря на аэробные условия в миксолимнионе. Интегральное значение сульфатредукции в водной толще зимой было примерно в два раза меньше, чем летом (Таб. 5.7). В августе 2003 г. сульфатредукция измерялась только в зоне хемоклина с помощью многошприцевого пробооторника (см. Главу 3). В результате было зарегистрирован отчетливый максимум данного процесса вблизи редокс-зоны, причем этот максимум располагался на 10 см выше «пурпурного слоя» (Рис. 5.12, Рис. 3.7). Таким образом, показано, что в редокс-зоне наблюдается резкое усиление биогеохимических процессов круговорота серы в узком интервале глубин, и эта миксростратификация должна учитываться при прогнозном моделировании химического состава воды в данном озере и подобных ему стратифицированных водоемах.

По непонятной причине скорости сульфатредукции, зарегистрированные в донных отложениях оз. Шунет летом 2002 г., были более чем на порядок ниже, чем зимой (Рис. 5.13). Учитывая, что условия в придонных слоях монимолимниона в оз. Шунет по сезонам меняются незначительно, а температура и продукция органики летом повышаются (см. Главы 2, 4), данное несоответствие трудно объяснить с точки зрения

колебаний внешних факторов. Возможно, артефакт сезонных ЭТО эксперимента. Следует отметить, что максимально высокая скорость л⁻¹ cvr⁻¹ данного озера -12160 мкгS была сульфатредукции для зарегистрирована в августе 2003 г. в надосадочной жидкости на глубине 5.9 м, т.е. непосредственно вблизи дна (на рисунках на показано).



Рис. 5.12 – Скорости сульфатредукции в водной толще озера Шунет в июле 2002 (Каллистова и др., 2006), августе 2003 (Лунина и др., 2007а) и марте 2003 (Саввичев и др., 2005), численность сульфатредуцирующих бактерий (FISH-TSA) в июле 2002 (Каллистова и др., 2006). Пунктиром показана граница сероводородной зоны

5.5.2 Метаногенез и метаноокисление в озере Шунет

Метаногенез в зимнее время был зарегистрирован во всей водной толще, включая аэробную зону (Рис. 5.14). В летнее время метаногенез измерялся только в 2002 г. в зоне хемоклина с интервалом 0.25 м, и скорость процесса была на два порядка выше, чем зимой (Рис. 5.14). Летом в редоксзоне наблюдался максимум скорости данного процесса, который совпадал по глубине с максимумом численности микроорганизмов домена Archaea, выявленных методом FISH-TSA (Рис. 5.14) (Каллистова и др., 2006).



Рис. 5.13 – Скорости сульфатредукции в донных отложениях озера Шунет в июле 2002 (Каллистова и др., 2006) и марте 2003 (Саввичев и др., 2005)

Предположительно, большинство архей в данной зоне принадлежит к группе метаногенов, поскольку профиль метаногенеза коррелирует с профилем численности архей (Рис. 5.14) (Каллистова и др., 2006).

В донных отложениях скорость метаногенеза в летнее время была примерно вдвое выше, чем зимой (Таб. 5.7, Рис. 5.15), причем в обоих случаях профиль характеризовался убыванием от верхней границы вглубь осадка (Рис. 5.15). В донных отложениях зимой скорость метаногенеза превышала таковую в водной толще примерно в 3.5 раза (Таб.5.7), для лета такое сравнение невозможно, т.к. профиль метаногенеза для лета неполный (Рис. 5.14).

Скорость метаноокисления измерялась только зимой 2003 г. (Саввичев и др., 2005). Данный процесс в водной толще протекал в основном в анаэробной зоне (Рис. 5.16 А). В донных отложениях скорость метаноокисления была на два порядка выше, чем в водной толще (Рис. 5.16). Содержание метана в анаэробной зоне увеличивалось по направлению ко

дну, как и в озере Шира (Рис. 5.6Б), однако концентрация была на порядок выше.



Рис. 5.14 – Скорости метаногенеза в водной толще озера Шунет в июле 2002 (Каллистова и др., 2006) и марте 2003 (Саввичев и др., 2005), численность архей в июле 2002 (Каллистова и др., 2006). Пунктиром показана граница сероводородной зоны



Рис. 5.15 – Скорости метаногенеза в донных отложениях озера Шунет в июле 2002 (Каллистова и др., 2006) и марте 2003 (Саввичев и др., 2005)



Рис. 5.16 – Скорости метаноокисления в озере Шунет в марте 2003 г. : A – в водной толще, Б – в донных отложениях (Саввичев и др., 2005). 1 – скорость метаногенеза, 2 – содержание метана. Пунктиром показана граница сероводородной зоны

Таким образом, как и в озере Шира, сульфатредукция преобладала над метаногенезом в процессах анаэробной деструкции органики (Таб. 5.7), что характерно для водоемов с большим количеством растворенного сульфата (Кузнецов и др., 1985).

5.5.3 Первичная продукция органического вещества в оз. Шунет

Скорость оксигенного фотосинтеза в миксолимнионе была максимальной в верхних слоях водной толщи, и снижалась по направлению ко дну (Рис. 5.17). Наблюдалась закономерная сезонная дифференциация – в зимнее время интегральная скорость фотосинтеза в водной толще снижалась более, чем в 30 раз (Таб.5.7). Продукция оксигенного фотосинтеза в летнее время существенно превышала продукцию фотосинтеза в оз. Шира, тогда как

в зимнее время эти величины различались незначительно (сравнить Таб. 5.7 с Таб. 5.6).

В зоне хемоклина в августе 2003 г. оценка скорости фотосинтеза осуществлялась с интервалом 5 см с помощью многошприцевого пробоотборника (Глава 3).



Рис. 5.17 – Скорость ассимиляции углекислоты в оз. Шунет: 1 – световая (фотосинтез), 2 – темновая (Лунина и др., 2007а; Саввичев и др., 2005)



Рис. 5.18 – Скорость ассимиляции углекислоты в зоне хемоклина оз. Шунет в августе 2003 г. (Лунина и др., 2007а)

В результате были зарегистрированы отчетливые слои повышенной световой и темновой ассимиляции CO₂ точно на границе раздела «сероводород-кислород» (Рис. 5.18), т.е. совпадающие с максимумом сульфатредукции и численности ПСБ («пурпурным» слоем) (Рис. 5.12, 5.18, 3.7).

Таблица 5.7 – Интегральные потоки углерода и серы, участвующие в микробных процессах в озере Шунет для июля 2002 (лето) и марта 2003 (зима)

Процессы	Оз. Шунет, лето 2003, 2002 ммольС(S)м ⁻² сут ⁻¹	Оз. Шунет, зима 2003 ммольС(S)м ⁻² сут ⁻¹
Оксигенный фотосинтез	332	9.2
Аноксигенный фотосинтез	24	0
Хемосинтез в хемоклине	1.0	2.3
Сульфатредукция в воде	19.0	6.8
Сульфатредукция в осадках	-	4.2
Метаногенез в воде	-	0.009
Метаногенез в осадках	0.074	0.032
Окисление метана	-	0.134

Оценим степень сопряженности потоков сероводорода и аноксигенного исходя из уравнений фотосинтеза и сульфатредукции, фотосинтеза, приведенных 5.3.6, и полученных нами значений скоростей В П. соответствующих процессов для августа 2003 г. В хемоклине максимальная скорость производства сероводорода составила 42 мкмоль S л⁻¹ сут⁻¹ (1350 мкгS л⁻¹ сут⁻¹, Рис. 5.12), в то время как скорость фотосинтеза оценивалась в 140 мкмоль С л⁻¹ сут⁻¹ (1680 мкгС л⁻¹ сут⁻¹ на Рис. 5.18). Исходя из уравнений сульфатредукции и фотосингтеза, на 1 моль серы расходуется 2 моля углерода. Следовательно, зарегистрированная скорость сульфатредукции зарегистрированную потенциальную потребность удовлетворяет аноксигенного фотосинтеза в сероводороде на 60%. Разумеется, полученные значения являются оценочными, однако в целом можно утверждать, что в

хемоклине оз. Шунет процессы продукции сероводорода и его окисления фототрофными серными бактериями сбалансированы, хотя не исключено, что в отдельные периоды сероводород может являться лимитирующим фактором. В работе Оверманна с соавторами было показано, что в похожем по стратификации озере Махони (Канада) ПСБ не испытывают недостатка в сероводороде в течении большей части года, однако в период наиболее интенсивного фотосинтеза потенциальная потребность в восстановленной сере превышала ее продукцию, как в нашем случае (Overmann et al., 1993).

5.6 Основные результаты и выводы Главы 5

- В воде и донных отложениях озера Шира и Шунет радиоизотопными методами оценена сезонная динамика оксигенного и аноксигенного фотосинтеза, сульфатредукции, метаногенеза и метаноокисления.
- Показано, что в обоих водоемах оксигенный фотосинтез играет основную роль в первичной продукции органики, доля аноксигенного фотосинтеза в 2001-2003 гг не превышала 7%.
- Показано, что в обоих водоемах доминирующим терминальным процессом анаэробной деструкции органического вещества является сульфатредукция. Доля метаногенеза составляла менее 1% от сульфатредукции.
- Показано, что в зоне хемоклина обоих озер наблюдаются повышенные скорости ассимиляции неорганического углерода и сульфатредукции, что свидетельствует о существовании активного микробного круговорота серы и углерода в этой зоне.
- 5. Вертикальные распределения скоростей ассимиляции неорганического углерода и сульфатредукции в анаэробной зоне озера Шира адекватно описываются одномерной математической моделью, основанной на уравнениях турбулентной диффузии и кинетических характеристиках

роста соответствующих групп микроорганизмов. Следовательно, данная модель может использоваться для расчетов динамики сероводородной зоны при различных сценариях биогенной нагрузки и климатических изменений.

5.7 Заключение к Главе 5

В данной главе описываются и обсуждаются оценочные значения скоростей биогеохимических процессов, полученные помощью С радиоактивных изотопов. Метод меченых атомов является наиболее подходящим измерения кинетики потребления ДЛЯ ИЛИ выделения соответствующих субстратов, однако, его применение к измерениям интенсивностей природных процессов ограничено недостатками скляночного метода. Действительно, оценка интенсивностей проводится в изолированных образцах воды или донных отложений, при этом в ходе пробоотбора и инкубации естественные условия существования микробного сообщества in situ могут нарушаться. Таким образом, полученные численные значения являются существенно приближенными. Тем не менее, выводы, полученные точностью ДО порядка величин, могут быть использованы С ДЛЯ характеристики исследуемых нами экосистем.

В данной главе показано, что изучаемая нами группа фототрофных серных бактерий не дает значительного вклада в продукцию фотосинтеза в данных водоемах.

Известно, что продукция этих бактерий в принципе не является «первичной» в полном смысле этого слова, поскольку для синтеза биомассы вместо воды используется продукт неполного окисления органики – сероводород. Показано, что круговорот «аноксигенный фотосинтезсульфатредукция» не может поддерживаться бесконечно долго без дополнительной подпитки органическим веществом, синтезированным в каком-либо другом месте, и разлагаемым с участием сульфатредукторов (Overmann, 1997). Поэтому продукция аноксигенного фотосинтеза называется «вторичной первичной продукцией» (secondary primary production) (Pfennig, 1978).

Однако, в пищевых цепях меромиктических озер в определенные сезоны ПСБ могут играть ключевую роль, как это показано для оз. Махони (Overmann et al., 1996), см. Главу 1. Кроме того, массовые скопления фототрофных серных бактерий в редокс-зонах стратифицированных озер играют окислительных «фильтров», роль которые препятствуют проникновению токсичного сероводорода в вышележащие слои водной толщи. Следовательно, количественные оценки интенсивности ИХ деятельности необходимы. Наши оценки показали, что в целом скорость продукции сероводорода и аноксигенного фотосинтеза в исследуемых озерах сбалансированы, однако вопрос, является ли сероводород лимитирующим фактором, остается открытым. Для его выяснения необходимы специальные скляночные эксперименты с добавками сероводорода.

Согласно принципу аутостабилизации фонового уровня лимитирующего фактора (Дегерменджи и др., 1979) (см. Главу 6), если в хемоклине весь поток сероводорода постоянно расходуется на аноксигенный фотосинтез, а его концентрация практически нулевая, увеличение потока сероводорода привело бы к увеличению биомассы фототрофных серных бактерий. Если же сероводород не является лимитирующим фактором, увеличение его потока никак не сказалось бы на биомассе бактерий.

Таким образом, количественные оценки скоростей процессов необходимы для верификации прогнозных моделей. В нашем случае полученные расчетные значения скоростей сульфатредукции, аноксигенного фотосинтеза, хемосинтеза в целом находились в соответствии с измеренными, что указывает на адекватность разработанной в Институте биофизики СО РАН модели вертикальной структуры озера Шира (Degermendzhy et al., 2002; Prokopkin et al., 2010).

301

ГЛАВА 6. ПЛОТНОСТНО-ЗАВИСИМЫЕ ФАКТОРЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ РОСТ МИКРОБНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОИСКА В ХЕМОСТАТЕ И ПРИРОДНЫХ ВОДОЕМАХ

6.1 Введение

Изучение механизмов, регулирующих численности видов и структуру сообщества является одной из главных и нерешенных проблем в современной экологии. Теоретические разработки в этом направлении стимулируются практическими задачами, такими направленное как изменение и управлением видовым составом экосистем, искусственное создание новых сообществ с заданной видовой структурой (например, для систем жизнеобеспечения), прогноз изменений состояния замкнутых экосистем при различных внешних нагрузках, оценка границ устойчивости к 1975). веществам антропогенного происхождения И (Одум, Т.П. Вышеуказанные проблемы актуальны и по отношению к сообществам микроорганизмов. Даже культивирование монокультуры (нестерильное) фактически является культивированием сообщества микроорганизмов. Понятно, что для получения продукта заданного качества или для увеличения эффективности того или иного биотехнологического процесса поликультура должна иметь определенный видовой состав, управлять которым нельзя, не зная законов формирования и механизмов регуляции структуры сообщества. В решении этих задач наиболее приемлемым является метод математического моделирования, особенно в исследованиях водных экосистем (Свирежев и др., 1978). Наиболее эффективно сочетание математических методов с полевыми исследованиями и экспериментами, когда на основе теоретических построений, выполненных с привлечением абстрактных моделей, производятся специальные измерения ранее не регистрируемых характеристик, а интерпретация результатов приобретает новый характер (Гладышев, 1999).

Одна из ключевых задач при исследованиях природных экосистем – выявление лимитирующих факторов. Простейшей моделью природной популяции микроорганизмов одного трофического уровня является хемостат (Печуркин, 1978). Для хемостата было строго доказано, и подтверждено в экспериментах фундаментальное свойство аутостабилизации – фоновая концентрация лимитирующего рост фактора всегда находится на одном и том же уровне, зависящем только от кинетических характеристик популяции, и не зависящем от вариаций входного потока (Дегерменджи и др., 1979) (см. Главу 1). В природных экосистемах принцип аутостабилизации проявляется в отсутствии корреляции между фоновым уровнем лимитирующего фактора и биомассой популяций. Примером аутостабилизации в водных экосистемах является тот факт, что в период «цветения» фитопланктона фоновые концентрации минерального фосфора находятся на очень низком уровне, близком к аналитическому нулю, и практически не меняются (Гладышев, 1999).

Печуркиным с соавторами был выявлен критерий микроэволюции, заключающийся в том, что в режиме хемостата мутант, способный расти с той же скоростью при меньшей концентрации субстрата, неизбежно вытесняет исходную популяцию, в результате чего фоновая концентрация лимитирующего субстрата обязательно снижается (Печуркин и др., 1990). Нами было показано, что при одновременном лимитировании несколькими субстратами микроэволюционный процесс не может приводить к снижению всех фоновых концентраций, т.е. фоновая концентрация одного из веществ должна увеличиться (Рогозин, Дегерменджи, 1998).

На основе принципа аутостабилизации был разработан универсальный метод поиска плотностно-зависимых лимитирующих рост факторов в многокомпонентных системах. Метод основан на оценке коэффициента чувствительности (КЧ), равного отношению изменения стационарной

фоновой концентрации к изменению входного потока (Печуркин, 1978; Дегерменджи и др., 1979). При строгом лимите фоновая концентрация аутостабилизирована, коэффициент лимитирующего вещества т.е. нулю. Для случая чувствительности равен нескольких видов И лимитирующих факторов было показано, что величина КЧ находится в интервале от нуля до единицы. В работе Адамовича с соавторами (1987) было показано, что сумма коэффициентов чувствительности в идеальном хемостате равна целому числу, а именно – разности между числом факторов и числом видов. Данная теорема, названная теоремой об «экологическом квантовании» была доказана в предположении линейного вида функций удельных скоростей роста (Адамович и др., 1987).

В данной Главе нами теоретически проанализирована математическая модель хемостата для случая многовидового сообщества с произвольными функциями УСР, обобщен принцип аутостабилизации, и предложен универсальный метод определения КЧ для произвольных сообществ. Теоретические основы эффекта аутостабилизации применены к природному объекту – популяциям фототрофных серных бактерий в хемоклине меромиктических озер.

6.2 Свойство плотностно-зависимых факторов в модели хемостата – эффект «квантования» фоновых уровней

Как было показано в Гл. 1, отличительным признаком плотностнозависимых контролирующих рост факторов (ПКРФ) от прочих компонентов среды является отличный от единицы коэффициент чувствительности. Поэтому для выявления полного списка ПКРФ в лабораторном хемостате, где культивируется некая монокультура либо поликультура микроорганизмов, требуется экспериментально определить КЧ тех компонентов, которые в принципе могут играть роль ПКРФ, а затем исключить из рассмотрения те компоненты, для которых КЧ окажется равным единице (Рогозин, 1998).

Проанализируем математическую модель, описывающую динамику сообщества микроорганизмов в хемостате с постоянным протоком. Пусть в первом приближении скорость потребления или выделения того или иного вещества растущей популяцией пропорциональна биомассе этой популяции и ее активности (т.е. удельной скорости роста), согласно классической модели Моно-Герберта (Monod, 1949; Herbert et al., 1956). Тогда система уравнений, связывающая концентрации ПКРФ и биомассы, будет иметь вид:

$$\begin{cases} \frac{dX_i}{dt} = (\mu_i(A_1, \dots, A_m) - D)X_i; \\ \frac{dA_j}{dt} = (A_j^0 - A_j)D + \sum_{i=1}^n a_{ij} \mu_i(A_1, \dots, A_m)X_i; \end{cases}$$
(6.1)

где i = 1,2,....,n – номер вида; j = 1,2,...,m – номер контролирующего рост фактора; X_i – концентрация биомассы в ферментере (г π^{-1}); $\mu_i = \mu_i(A_1, A_1, ..., A_m)$ – удельная скорость роста i – го вида (ч⁻¹); D – скорость протока (ч⁻¹); A_j^0 – концентрация j – го фактора в питательной среде на входе в ферментер (г π^{-1}); A_j – концентрация этого же фактора в культуральной среде (= фоновая концентрация) (г π^{-1}); a_{ij} – коэффициент трансформации j – го фактора биомассой i – го вида (г г⁻¹).

В стационарном состоянии концентрации биомасс и факторов постоянны, система (6.1) превращается в систему алгебраических уравнений вида:

$$\begin{cases} \mu_i (\overline{A}_1, \overline{A}_2, \dots, \overline{A}_m) = D, \\ \overline{A}_j - A_j^0 = \sum_{i=1}^n a_{ij} \overline{X}_i, \end{cases}$$
(6.2)

где \overline{A}_{j} , \overline{X}_{i} - концентрации j – го фактора и i-го вида в стационарном состоянии, соответственно. В работе Адамовича с соавторами была проанализирована система (6.2) в предположении, что удельная скорость роста (УСР) всех видов, сосуществующих в данной системе, имеет линейный вид (Адамович и др., 1987):

$$\mu_i = G_i + \sum_{j=1}^m g_{ij} A_j, \tag{6.3}$$

где G_i, g_{ij} – соответствующие коэффициенты. Авторами этой работы было обнаружено и строго доказано, что сумма всех КЧ системы (6.1) при условии (6.3) равна целому числу, а именно:

$$\sum_{j=1}^{m} K^{j} = m - n, \tag{6.4}$$

где m – число ПКРФ в системе, n – число видов. Свойство (6.4), таким образом, позволяет определить число сосуществующих в хемостате популяций только на основе знания списка ПКРФ и экспериментального определения их КЧ. Напомним, что сумма всех КЧ в выражении (6.4) не может быть отрицательной, поскольку расширенный принцип конкурентного исключения Гаузе, описанный в Главе 1, запрещает стационарное сосуществование n видов в системе (6.1) в тех случаях, когда n>m (Дегерменджи, 1981). Однако, линейное разложение (6.3) ограничивает адекватность описания динамики реальных микробных популяций и, как правило, не применяется при их моделировании. Возникает вопрос: насколько справедливо выражение (6.4) при более сложном и более «правдоподобном» виде функций $\mu_i(A_1, \dots, A_m)$?

Проанализируем систему (6.1) для произвольного вида функций УСР. Рассмотрим простейший случай, когда два ПКРФ контролируют рост единственной популяции. Система уравнений для этого случая имеет вид:

$$\begin{cases} \dot{X} = (\mu (A_1, A_2) - D)X; \\ \dot{A}_1 = (A_1^0 - A_1)D + a_1\mu(A_1, A_2)X; \\ \dot{A}_2 = (A_2^0 - A_2)D + a_2\mu(A_1, A_2)X; \end{cases} (6.5)$$

где точки означают производные по времени, a_1 , a_2 – коэффициенты трансформации (индекс, соответствующий номеру вида, опущен); остальные обозначения как для системы (6.1). В стационарном состоянии имеем:

$$\begin{cases} \mu\left(\overline{A}_{1},\overline{A}_{2}\right) = D\\ \overline{A}_{1} - A_{1}^{0} = a_{1}\overline{X};\\ \overline{A}_{2} - A_{2}^{0} = a_{2}\overline{X}; \end{cases}$$
(6.6)

Исключив \overline{X} из двух последних уравнений, получим:

$$\overline{A}_2 = A_2^0 + \frac{a_2}{a_1} \overline{A}_1 - \frac{a_2}{a_1} A_1^0.$$
(6.7)

Из первого уравнения системы (6.6) можно выразить:

$$\overline{A}_1 = f(\overline{A}_2), \tag{6.8}$$

где *f* – некоторая функция. По определению теоретическое значение коэффициента чувствительности для фактора A_i определяется выражением:

$$K^{j} = \frac{\partial \overline{A}_{j}}{\partial A_{j}^{0}} \tag{6.9}$$

Тогда, пользуясь определением (6.9) и правилом дифференцирования сложной функции, найдем выражение для КЧ 1-го фактора. Из выражения (6.8) получим:

$$K^{1} = \frac{\partial f}{\partial \overline{A}_{2}} \frac{\partial \overline{A}_{2}}{\partial A_{1}^{0}} \tag{6.10}$$

Из выражения (6.7) найдем:

$$\frac{\partial \overline{A}_2}{\partial A_1^0} = \frac{a_2}{a_1} (K^1 - 1) \tag{6.11}$$

Подставим (6.11) в (6.10) и выразим:

$$K^{1} = \frac{\frac{a_{2}}{a_{1}\partial\overline{A}_{2}}}{1 - \frac{a_{2}}{a_{1}\partial\overline{A}_{2}}}$$
(6.12)

Теперь из выражения (6.7) найдем К²:

$$K^2 = 1 + \frac{a_2}{a_1} \frac{\partial f}{\partial A_2^0} ,$$
 (6.13)

причем из (6.8):

$$\frac{\partial f}{\partial A_2^0} = \frac{\partial f}{\partial \overline{A}_2} \mathbf{K}^2. \tag{6.14}$$

Подставив (6.14) в (6.13) и выразив К², получим:

$$\mathbf{K}^2 = \frac{1}{1 - \frac{a_2 \,\partial f}{a_1 \partial \overline{A}_2}}.\tag{6.15}$$

308

Сложим (6.15) и (6.12) и получим:

$$K^1 + K^2 = 1$$

Таким образом, не зная конкретного вида функции $\mu(A_1, A_2)$, мы выразили в неявном виде все КЧ системы (6.5) и получили, что их сумма равна целому числу, в данном случае – единице (Рогозин и др., 1999).

6.3 Доказательство свойства «квантования» коэффициентов чувствительности для системы с произвольным числом видов и ПКРФ

Аналогично доказательству, приведенному в п.6.1, не зная явного вида функций $\mu_i(A_1, ..., A_m)$, можно выразить все КЧ для системы (6.1) произвольной размерности (но при условии m \geq n), и убедиться в справедливости выражения (6.4) (Рогозин и др., 1999). Ниже мы приводим строгое доказательство данного обобщения (Рогозин, 1998).

Распишем более подробно систему (6.1) из n микробных популяций, удельная скорость роста которых контролируется числом m независимых ПКРФ в хемостате с постоянным протоком (m≥n):

$$\begin{cases} \frac{dX_{1}}{dt} = (\mu_{1} - D)X_{1}; \\ \frac{dX_{2}}{dt} = (\mu_{1} - D)X_{2}; \\ \dots \dots \dots \dots \dots \\ \frac{dX_{n}}{dt} = (\mu_{1} - D)X_{n}; \\ \frac{dA_{1}}{dt} = D(A_{1}^{0} - A_{1}) + a_{11}\mu_{1}X_{1} + a_{12}\mu_{2}X_{2} + \dots + a_{1n}\mu_{n}X_{n}; \\ \frac{dA_{2}}{dt} = D(A_{2}^{0} - A_{2}) + a_{21}\mu_{1}X_{1} + a_{22}\mu_{2}X_{2} + \dots + a_{2n}\mu_{n}X_{n}; \\ \frac{dA_{m}}{dt} = D(A_{m}^{0} - A_{m}) + a_{m1}\mu_{1}X_{1} + a_{m2}\mu_{2}X_{2} + \dots + a_{mn}\mu_{n}X_{n}, \end{cases}$$
(6.16)

Здесь все обозначения как в п.6.1, однако, в дальнейшем доказательстве, поскольку анализируются только стационарные состояния системы (6.16), через X_i и A_j будем обозначать стационарные концентрации биомассы и

ПКРФ, соответственно. В стационарном состоянии имеем:

$$\begin{cases}
\mu_1(A_1, A_2, \dots, A_m) = D; \\
\dots \dots \dots \dots \dots \\
\mu_n(A_1, A_2, \dots, A_m) = D;
\end{cases}$$
(6.17a)

Введем обозначение: $(A_j - A_j^0) = \Delta_j$. Тогда получаем систему:

$$\begin{cases} \Delta_{1} = a_{11}X_{1} + a_{12}X_{2} + \dots + a_{1n}X_{n}; \\ \Delta_{2} = a_{21}X_{1} + a_{22}X_{2} + \dots + a_{2n}X_{n}; \\ \dots \\ \Delta_{n} = a_{n1}X_{1} + a_{n2}X_{2} + \dots + a_{nn}X_{n}; \\ \Delta_{n+1} = a_{n+1,1}X_{1} + a_{n+1,2}X_{2} + \dots + a_{n+1,n}X_{n}; \\ \dots \\ \Delta_{m} = a_{m1}X_{1} + a_{m2}X_{2} + \dots + a_{mn}X_{n}; \end{cases}$$
(6.18)

Из первых n уравнений системы (6.18) найдем X₁, ..., X_n по правилу Крамера и подставим полученные выражения в оставшиеся (m-n) уравнений системы (6.18). После раскрытия определителей и приведения подобных слагаемых оставшиеся (m-n) уравнений примут вид:

$$\begin{cases} \Delta_{n+1} = \frac{d_{n+1,1}}{d} \Delta_1 - \frac{d_{n+1,2}}{d} \Delta_2 + \dots + (-1)^{n+1} \frac{d_{n+1,n}}{d} \Delta_n \\ \dots \\ \Delta_m = \frac{d_{m1}}{d} \Delta_1 - \frac{d_{m2}}{d} \Delta_2 + \dots + (-1)^{n+1} \frac{d_{mn}}{d} \Delta_n \end{cases}$$
(6.19)

где d – детерминант матрицы системы первых n уравнений системы (6.18), составленный из коэффициентов трансформации a_{ij} ($i,j = 1 \div n$), d_{pi} – детерминант матрицы, полученной из d путем замены i-й строки на строку из коэффициентов трансформации, стоящих в выражении для Δ_p (p = (n + 1) \div

m) в системе (6.18). Обозначим:

$$\frac{d_{pi}}{d} = r_{pi}$$

и перепишем систему (6.19) в более наглядном виде

$$\begin{cases} A_{n+1} - A_{n+1}^{0} = r_{n+1,1}(A_{1} - A_{1}^{0}) - r_{n+1,2}(A_{2} - A_{2}^{0}) + \dots + (-1)^{n+1}r_{n+1,n}(A_{n} - A_{n}^{0}); \\ \dots \\ A_{m} - A_{m}^{0} = r_{m1}(A_{1} - A_{1}^{0}) - r_{m2}(A_{2} - A_{2}^{0}) + \dots + (-1)^{n+1}r_{mn}(A_{n} - A_{n}^{0}); \\ (6.20) \end{cases}$$

Таким образом, мы выразили последние (m-n) стационарных концентраций через первые n. Теперь выразим первые n стационарных концентраций через последние (m-n) из системы (6.17) при условии (6.17а). Предполагается, что факторы независимы, т.е. не существует таких переменных Z_1 ,, Z_p , зависящих от A_1 ,...., A_m (p<m), что μ_i могут быть выражены как функции Z_1 ,, Z_p . Дегерменджи было доказано, что из условия независимости факторов A_1 ,...., A_m следует, что ранг функциональной матрицы (6.20а) равен n (Дегерменджи, 1981):

$$\frac{D(\mu_{1,\dots,\mu_{n}})}{D(A_{1,\dots,A_{m}})} = \begin{pmatrix} \frac{\partial\mu_{1}}{\partial A_{1}} & \cdots & \frac{\partial\mu_{1}}{\partial A_{m}} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial\mu_{n}}{\partial A_{1}} & \cdots & \frac{\partial\mu_{n}}{\partial A_{m}} \end{pmatrix}$$
(6.20a)

т.е. наибольший порядок минора, отличного от нуля, равен n. Из теории неявных функций следует, что первые n переменных (A₁,....,A_n) можно выразить как функции остальных из системы (6.17а):

$$\begin{cases}
A_1 = f_1(A_{n+1}, \dots, A_m); \\
A_2 = f_2(A_{n+1}, \dots, A_m); \\
\dots, \dots, \dots, A_m); \\
A_n = f_n(A_{n+1}, \dots, A_m);
\end{cases}$$
(6.21)

Запишем теперь выражения для коэффициентов чувствительности (КЧ) первых п факторов. Из системы (6) имеем:

Из системы (6.20) получим выражение для КЧ остальных факторов. С учетом (6.21) имеем:

$$\begin{cases} K^{n+1} = 1 + r_{n+1,1} \frac{\partial f_1}{\partial A_{n+1}^0} - r_{n+1,2} \frac{\partial f_2}{\partial A_{n+1}^0} + \dots + (-1)^{n+1} r_{n+1,n} \frac{\partial f_n}{\partial A_{n+1}^0}; \\ K^m = 1 + r_{m1} \frac{\partial f_1}{\partial A_m^0} - r_{m2} \frac{\partial f_2}{\partial A_m^0} + \dots + (-1)^{n+1} r_{mn} \frac{\partial f_n}{\partial A_m^0}; \end{cases}$$
(6.23)

Рассмотрим, например, выражение для K^1 в системе (6.22). Найдем вначале $\frac{\partial A_{n+1}}{\partial A_1^0}$ из системы (6.20):

$$\frac{\partial A_{n+1}}{\partial A_1^0} = r_{n+1,1}(K^1 - 1) - r_{n+1,2}\frac{\partial f_2}{\partial A_1^0} + \dots + (-1)^{n+1}r_{n+1,n}\frac{\partial f_n}{\partial A_1^0}.$$
 (6.24)

Теперь найдем все $\frac{\partial f_k}{\partial A_1^0}$ (k = 2÷n), воспользовавшись соотношениями (6.21):

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial f_2}{\partial A_1^0} = \frac{\partial f_2}{\partial A_{n+1}} \frac{\partial A_{n+1}}{\partial A_1^0} + \dots + \frac{\partial f_2}{\partial A_m} \frac{\partial A_m}{\partial A_1^0};\\ \frac{\partial f_n}{\partial A_1^0} = \frac{\partial f_n}{\partial A_{n+1}} \frac{\partial A_{n+1}}{\partial A_1^0} + \dots + \frac{\partial f_n}{\partial A_m} \frac{\partial A_m}{\partial A_1^0}; \quad (6.25)$$

Подставив выражения системы (6.25) в выражение (6.24), после приведения подобных слагаемых, получим линейное уравнение вида:

$$r_{n+1,1}(K^{1}-1) = h_{n+1}^{n+1} \frac{\partial A_{n+1}}{\partial A_{1}^{0}} + h_{n+1}^{n+2} \frac{\partial A_{n+2}}{\partial A_{1}^{0}} + \dots + h_{n+1}^{m} \frac{\partial A_{m}}{\partial A_{1}^{0}},$$

где:

$$\begin{split} h_{n+1}^{n+1} &= -1 + \sum_{i=1}^{n} (-1)^{i} r_{n+1,i} \frac{\partial f_{i}}{\partial A_{n+1}}, \\ h_{n+1}^{p} &= \sum_{i=2}^{n} (-1)^{i} r_{n+1,i} \frac{\partial f_{i}}{\partial A_{p}}, \qquad (p = (n+2) \div m). \end{split}$$

Аналогичным образом можно расписать остальные производные $\frac{\partial A_{n+2}}{\partial A_1^0}, \dots, \frac{\partial A_m}{\partial A_1^0}$ в выражении для K^1 , воспользовавшись системами (6.21) и

(6.20). В результате получим систему (*m*-*n*) линейных уравнений вида:

$$\begin{cases} r_{n+1,1}(K^{1}-1) = h_{n+1}^{n+1} \frac{\partial A_{n+1}}{\partial A_{1}^{0}} + \dots + h_{n+1}^{m} \frac{\partial A_{m}}{\partial A_{1}^{0}}; \\ \dots & \dots & \dots \\ r_{m1}(K^{1}-1) = h_{m}^{n+1} \frac{\partial A_{n+1}}{\partial A_{1}^{0}} + \dots + h_{m}^{m} \frac{\partial A_{m}}{\partial A_{1}^{0}}; \end{cases}$$
(6.26)

из которой по правилу Крамера можно найти все $\frac{\partial A_p}{\partial A_1^0}$, $(p = (n+1) \div m)$:

$$\frac{\partial A_p}{\partial A_1^0} = (K^1 - 1) \frac{V_1^p}{V_1},$$

где V_1^p, V_1 - соответствующие определители. Таким же образом можно найти остальные $\frac{\partial A_p}{\partial A_1^0}, \dots, \frac{\partial A_p}{\partial A_n^0}$, $(p = (n+1) \div m)$ и, подставив их в систему (6.22),

получить систему для первых *n* коэффициентов чувствительности:

Аналогично, пользуясь соотношениями (6.21) и затем (6.20), можно получить (*m-n*) систем *n* линейных уравнений, из которых найдем все $\frac{\partial f_i}{\partial A_p^0}$, (i = 1 ÷ n, p

 $= (n+1) \div m)$ для системы (6.23) и, подставив их в (6.23), получить систему:

$$\begin{cases} K^{n+1} = 1 + r_{n+1,1} \frac{W_{n+1}^1}{W_{n+1}} K^{n+1} - \dots + (-1)^{n+1} r_{n+1,n} \frac{W_{n+1}^n}{W_{n+1}} K^{n+1}; \\ \dots \\ K^m = 1 + r_{m1} \frac{W_m^1}{W_m} K^m - \dots + (-1)^{n+1} r_{mn} \frac{W_m^n}{W_m} K^m; \end{cases}$$
(6.28)

где W_p^i , W_p – соответствующие определители. Выразим K^i и K^p из систем (6.27) и (6.28) соответственно:

$$\begin{cases} K^{n+1} = \frac{-W_{n+1}}{-W_{n+1}+r_{n+1,1}W_{n+1}^{1}-\dots+(-1)^{n+1}r_{n+1,n}W_{n+1}^{n}};\\ K^{m} = \frac{-W_{m}}{-W_{m}+r_{m1}W_{m}^{1}-\dots+(-1)^{n+1}r_{mn}W_{m}^{n}}. \end{cases}$$
(6.30)

Рассмотрев частные случаи системы (6.16) для m = 2,3,4 и n = 1,2, можно показать, что, раскрыв определители в знаменателе, например, выражения для K^1 и перекомпоновав слагаемые, можно получить любой другой знаменатель систем (6.29) и (6.30). Проще говоря, все знаменатели в системах (6.29) и (6.30) равны. Обозначим знаменатель как V и сложим все K^j :

$$\sum_{j=1}^{m} K^{j} = \frac{\varphi_{1} + \varphi_{2} + \dots + \varphi_{n} + (-W_{n+1} - W_{n+2} - \dots - W_{m})}{V}, \qquad (6.31)$$

где φ_i – выражения, стоящие в числителях системы (6.29). Переобозначим систему (6.30) как:

$$\begin{cases} K^{n+1} = \frac{-W_{n+1}}{-W_{n+1} + \omega_{n+1}}; \\ K^m = \frac{-W_m}{-W_m + \omega_m}. \end{cases}$$

Можно показать, что в выражении (6.31)

$$\sum_{i=1}^{n} \varphi_i = \sum_{p=n+1}^{m} \omega_p.$$

Тогда получим:

$$\sum_{j=1}^{m} K^{j} = \frac{(m-n)V}{V} = m - n,$$

что и требовалось доказать (Рогозин, 1998).

Таким образом, мы аналитически доказали, что соотношение (6.4), впервые показанное в работе Адамовича с соавторами (1987), и доказанное ими для линейного вида функций удельных скоростей роста, строго выполняется при произвольных видах скоростей роста, т.е. является более общим свойством модели (6.1). Разумеется, функции УСР должны быть гладкими, т.е. непрерывно-дифференцируемыми в области их рассмотрения. В противном случае и стационарные решения системы (6.1) не будут непрерывно-дифференцируемыми, а значит и теоретическое определение КЧ для них невозможно.

Действительно, удельные скорости роста микробных популяций, как правило, хорошо описываются нелинейными функциями типа уравнений Моно, Иерусалимского и др., и их комбинациями (Печуркин и др., 1990). Доказанное нами утверждение о независимости «эффекта экологического квантования» (соотношения (6.4)) от формы записи УСР позволяет ожидать положительных результатов в экспериментах с реальными микробными культурами в хемостате. Необходимым условием для этого остается постоянство коэффициентов трансформации а_{ij} в системе (6.1), и общая адекватность модели типа (6.1) рассматриваемому сообществу.

6.4 Универсальный метод определения коэффициентов чувствительности в хемостате: теоретические основы

Как показано выше, ПКРФ обладают фундаментальным свойством аутостабилизации, которое проявляется в той или иной степени во всех биологических системах, на каких-либо трофических где уровнях существуют лимитированные этими факторами популяции. Количественной характеристикой, выражающей эффект аутостабилизации для некоторого компонента среды в хемостате, является коэффициент чувствительности. Таким образом, для того, чтобы выяснить, какую роль играет некоторое вещество (компонент питательной и/или культуральной сред) в исследуемой системе, необходимо измерить его КЧ (Degermendzhy et al., 1989; Рогозин, 1998). Как следует из соотношения (6.4), возможны три варианта «поведения» фоновых концентраций, определяющих величину КЧ:

- Фоновая концентрация вещества равна его входной концентрации.
 Это означает, что данное вещество не участвует в метаболизме, а потому «протекает» через систему, не трансформируясь. Очевидно, что плотность популяции (концентрация биомассы) не зависит от концентрации этого вещества в среде, и КЧ такого вещества будет равен единице.
- 2. Фоновая концентрация отличается от входной, т.к. данное вещество вовлечено в метаболизм. Однако, данное вещество не лимитирует рост популяции, следовательно концентрация биомассы не зависит от изменений входной концентрации этого вещества. Это означает, что фоновая концентрация изменяется пропорционально изменениям на входе, т.е. КЧ также равен единице.
- 3. Фоновая концентрация отличается от входной, т.к. вещество вовлечено в метаболизм, но при этом оно лимитирует рост, а значит концентрация биомассы изменяется с изменением входной

концентрации этого вещества. Таким образом, данное вещество является ПКРФ, и его КЧ будет меньше единицы.

На основе экспериментального определения КЧ была предложена методика выявления ПКРФ в хемостате (Degermendzhy et al., 1989). Действительно, если известен химический состав питательной среды, и экспериментатор имеет возможность измерять концентрации веществ на выходе (в культуральной среде), то КЧ можно определить, поставив серию экспериментов с поочередным возмущением входных уровней этих веществ. Итак, пусть задан вектор входных концентраций питательной среды: $\{A_1^0, ..., A_k^0, ..., A_m^0\}$. После того, как в системе установилось стационарное состояние, измерим фоновые концентрации факторов. Получим вектор $\{\overline{A}_1, \ldots, \overline{A}_k, \ldots, \overline{A}_m\}$. Чтобы определить КЧ k-го фактора, изменим его входную концентрацию на величину ΔA_k^0 . На входе имеем $\{A_1^0, ..., (A_k^0 + \Delta A_k^0), ..., A_m^0\}$. По достижении нового стационарного состояния, получим на выходе $\{\overline{A}_1, \dots, (\overline{A}_k + \Delta \overline{A}_k), \dots, \overline{A}_m\}$. Тогда КЧ k-го фактора найдем по формуле:

$$K^{k} = \frac{\Delta A_{k}}{\Delta A_{k}^{0}}$$

По аналогичной схеме можно напрямую получить КЧ любого фактора. Назовем этот наиболее простой метод «селективным».

В работе Дегерменджи с соавторами (1989) был предложен другой метод определения КЧ, названный «интегральным» (Degermendzhy et al., 1989). Суть его состоит в том, что в окрестности некоего стационарного состояния удельные скорости всех популяций можно представить как линейные функции концентраций факторов, т.е. в виде (6.3), причем не

обязательно все g_{ij} отличны от нуля. Тогда из системы (6.1) следует, что в стационарном состоянии:

$$\overline{A}_j = \sum_{q=1}^m \alpha_{jq} A_q^0 + \beta_j$$

где α_{jq} - выражения, соответствующим образом полученные из (6.1). Причем по определению $\alpha_{jj} = K^{j}$. Если поставить m+1 экспериментов, в каждом из которых концентрации всех факторов на входе задавать случайным образом, то все α_{jq} и β_{j} можно получить из m систем m+1 линейных уравнений вида:

$$\overline{A}_{js} = \sum_{q=1}^{m} \alpha_{jq} A_{qs}^0 + \beta_j \tag{6.32}$$

где $j = 1 \div m$ – номер фактора, $s = 1 \div (m+1)$ – номер эксперимента. Данный метод является приближенным, он позволяет определить КЧ не в окрестности базового стационарного состояния, а внутри некоторой области в пространстве фоновых концентраций, окружающей базовое состояние, причем внутри этой области КЧ каждого фактора считается постоянным (Degermendzhy et al., 1989).

Разумеется, для применения предложенных методов OT экспериментатора требуется предварительный прогноз списка возможных ПКРФ, a химическая идентификация, также ИХ необходимая ДЛЯ варьирования входными концентрациями. Поэтому, при исследованиях микробных сообществ, населяющих сложные многокомпонентные среды (из природных водоемов, очистных сооружений, различных биотехнологических установок) неизбежно возникает необходимость как можно более полного химического анализа входной и культуральной сред, с целью определения их состава и выбора тех веществ, КЧ которых требуется определить.

Кроме того, в качестве ПКРФ часто выступают различные метаболиты, которые отсутствуют во входной среде (Дегерменджи, 1981). Следовательно,

для получения ненулевых концентраций на входе, необходимо либо выделять эти вещества из культуральной среды, либо использовать эти же вещества, полученные из других источников. Таким образом, сложный химический состав сред и наличие взаимодействий через метаболиты делают процедуру выявления лимитирующих факторов в реальных сообществах весьма трудоемкой (Рогозин и др., 1995).

Поэтому нами предложен метод оценки КЧ, позволяющий избегать предварительного химического анализа и определять КЧ максимально большого числа химических веществ, содержащихся в системе, включая метаболиты. В данном методе предлагается использовать хроматографический анализ входной и выходной сред. Действительно, поскольку КЧ является безразмерной величиной, концентрации веществ могут измеряться в любых относительных единицах, в данном случае – по площади пика на хроматограмме. Очевидно, что в этом случае можно вычислить КЧ, не зная, какому именно веществу соответствует данный пик. Причем, если КЧ этого вещества близок к единице, то в дальнейшем нет необходимости идентифицирвать это вещество, поскольку оно не является регулятором (ПКРФ) в данной системе.

Очевидно, без идентификации что И выделения отдельных составляющих среды невозможно применить описанные выше селективный и интегральный методы пределения КЧ, поскольку необходимо выборочно варьировать входные концентрации интересующих нас веществ. Существует единственный способ изменения одновременно всех входных концентраций – разбавление исходной среды дистиллированной водой. Однако, пользуясь этим способом (m+1) раз, как того требует вышеописанный интегральный метод, невозможно получить т систем (т+1)-го линейно-независимых уравнений вида (6.32). Действительно, если исходная базовая среда имеет $\{A_1^0, \dots, A_m^0\}$ состав то В каждом *s*-том эксперименте входные концентрации будут равны $\{k_s A_1^0, \dots, k_s A_m^0\}$, где k_s – коэффициент разбавления, s = 1÷(m+1). А это означает, что столбцы детерминантов всех m систем типа (6.32) будут линейно-зависимыми, т.е. сами детерминанты будут равны нулю. Иными словами, мы получаем системы линейно-зависимых уравнений, не имеющие решений (Рогозин и др., 1995).

Следовательно, необходима процедура, позволяющая получать некоррелированные изменения входных концентраций – с одной стороны, и не требующая идентификации химического состава – с другой. Для решения этой проблемы нами был предложен метод получения некоррелированных изменений входных концентраций с помощью смешивания входной среды с фильтратом культуральной среды (процедура рециркуляции фильтрата) (Рогозин и др., 1995). Продемонстрируем предложенную схему на конкретном примере.

Рассмотрим монокультуру микроорганизмов, растущую в хемостате на среде, содержащей два контролирующих рост химических вещества. Поведение такой системы описывается системой уравнений (6.1), где i = 1, j = 1,2. Пусть УСР популяции в окрестности стационарного состояния имеет вид:

$$\mu = G + g_1 A_1 + g_2 A_2$$

Приравнивая производные по времени к нулю, получаем выражения для стационарных концентраций:

$$\begin{cases} \overline{X} = -\frac{g_1}{B} A_1^0 - \frac{g_2}{B} A_2^0 + \frac{1}{B} (D - G); \\ \overline{A}_1 = \frac{g_2 a_2}{B} A_1^0 - \frac{g_2 a_1}{B} A_2^0 + \frac{a_1}{B} (D - G); \\ \overline{A}_2 = -\frac{g_1 a_2}{B} A_1^0 + \frac{g_1 a_1}{B} A_2^0 + \frac{a_2}{B} (D - G); \end{cases}$$
(6.33)

где $B = g_1 a_1 + g_2 a_2$; a_1, a_2 – коэффициенты трансформации соответственно 1-го и 2-го фактора биомассой растущей популяции. Для удобства переобозначим коэффициенты в системе (6.33):

$$\begin{cases} \overline{X} = \gamma_1 A_1^0 + \gamma_2 A_2^0 + \varphi; \\ \overline{A}_j = \alpha_{j1} A_1^0 + \alpha_{j2} A_2^0 + \beta_j; \end{cases}$$

где j = 1,2. Пусть в первом эксперименте концентрации веществ на входе культиватора { A_1^0, A_2^0 }, а стационарные концентрации в среде - { $\overline{A_{11}, \overline{A_{21}}}$ }, где второй индекс соответствует номеру эксперимента. Во втором эксперименте на вход будем подавать ту же питательную среду, но разбавленную так, что входные концентрации будут равны { $k_1A_1^0, k_1A_2^0$ }, где k < 1. Получим второе стационарное состояние: { $\overline{A_{12}, \overline{A_{22}}}$ }. Питательную среду для третьего эксперимента приготовим следующим образом: возьмем фильтрат культуральной среды, например, первого эксперимента, и смешаем его с исходной питательной средой. Входные концентрации будут выглядеть следующим образом:

$$\left\{ p_1 A_1^0 + p_2 \overline{A}_{11}, p_1 A_2^0 + p_2 \overline{A}_{21} \right\}$$

где p_1, p_2 – объемные доли исходной среды и фильтрата в смеси, соответственно ($p_1 + p_2 = 1$). Получим стационарные концентрации $\{\overline{A_{13}}, \overline{A_{23}}\}$.

Полученных данных достаточно для записи двух систем линейных уравнений вида:

$$\begin{cases} \overline{A}_{j1} = A_1^0 \alpha_{j1} + A_2^0 \alpha_{j2} + \beta_j; \\ \overline{A}_{j2} = k_1 A_1^0 \alpha_{j1} + k_1 A_2^0 \alpha_{j2} + \beta_j; \\ \overline{A}_{j3} = (p_1 A_1^0 + p_2 \overline{A}_{11}) \alpha_{j1} + (p_1 A_2^0 + p_2 \overline{A}_{21}) \alpha_{j2} + \beta_j; \end{cases}$$
(6.34)

где j = 1,2, решив которые, найдем искомые КЧ: $K^1 \equiv \alpha_{11}, K^2 \equiv \alpha_{22}$ (Рогозин и др., 1995; Рогозин, 1998).

Для того, чтобы системы (6.34) имели решение, необходимо, чтобы их детерминант был отличен от нуля. Нетрудно убедиться, что это условие не выполняется только когда:

$$\begin{cases} \overline{A}_{11} = \varepsilon A_1^0 \\ \overline{A}_{12} = \varepsilon A_2^0 \end{cases}$$
(6.35)

где *є* - коэффициент пропорциональности. Подставив (6.35) в (6.33), получим условие, при котором уравнения системы (6.34) окажутся линейнозависимыми, т.е. она не будет иметь решения:

$$D = G + \frac{g_1 a_2 (A_1^0)^2 - g_2 a_1 (A_2^0)^2 - (g_1 a_1 - g_2 a_2) A_1^0 A_2^0}{A_1^0 a_2 - A_2^0 a_1}$$
(6.36)

Поскольку условие (6.36) является строгим равенством и содержит только физиологические константы и управляемые параметры эксперимента, вероятность его строго выполнения практически нулевая. Таким образом, на примере простейшей двухфакторной системы мы показали принципиальную возможность определения коэффициентов чувствительности с помощью «неявных» возмущений входных концентраций - разбавления среды в сочетании с рециркуляцией фильтрата (Рогозин и др., 2005).

Рассмотрим теперь общий случай сосуществования в хемостате n видов при наличии m контролирующих рост веществ (ПКРФ). Из системы (6.1) при условии (6.3) в стационарном состоянии имеем:

$$\overline{A}_j = \sum_{q=1}^m \alpha_{jq} A_q^0 + \beta_j$$

причем $\alpha_{ii} \equiv K^{j}$. Проведем серию экспериментов, аналогичных описанным выше для случая с монокультурой. В каждом r-том эксперименте входные концентрации будем изменять в k_r раз путем разбавления исходной питательной среды (r = 1,...,m). Для получения системы уравнений, имеющей решение необходимо, чтобы хотя бы в одном эксперименте вектор концентраций был непропорционален векторам входных входных концентраций остальных экспериментов. Назовем ЭТОТ эксперимент ключевым, и для создания питательной среды используем процедуру смешивания с фильтратом, аналогично описанному выше случаю с монокультурой. Тогда α_{iq} и β_i легко найти из т систем (m+1)-го линейных

уравнений вида:

$$\overline{A}_{js} = \sum_{q=1}^{m} \alpha_{jq} A_{qs}^{0} + \beta_{j}$$

277

где $s = 1 \div (m+1)$ – номер эксперимента. Можно показать аналогично случаю с n = 1, m = 2, что вероятность равенства нулю детерминанта данной системы исчезающе мала, т.к. имеет место условие типа строгого равенства.

Разумеется, предложенная последовательность (m+1) экспериментов не является единственно возможной. Число экспериментов, в которых входная среда задается с использованием фильтратов можно варьирвать от 1 до m. Очевидно также, что и порядок постановки экспериментов может быть произвольным (Рогозин и др., 1995; Рогозин, 1998).

Благодаря применению рециркуляции фильтрата становится ПКРФ метаболитов, возможным выявление среди изначально отсутствующих в питательной среде. Действительно, начиная со второго входной среде появятся ненулевые эксперимента, BO концентрации метаболитов, что позволит определить их КЧ, и, следовательно, выявить среди них ПКРФ.

Таким образом, помощью вышеописанного метода С оценки коэффициентов чувствительности быть может В целом произведена «расшифровка» структуры многовидового сообщества одного трофического уровня. Примем хемостат с культивируемым в нем сообществом за «черный ящик». В работе Дегерменджи с соавторами был предложен следующий список проблем, названный «основной задачей» (Degermendzhy et al., 1989):

1) указание конкретных регуляторов (ПКРФ);

2) указание компонентов среды, не являющихся ПКРФ;

3) определение числа сосуществующих популяций.

Экспериментальную систему, решающую основную задачу для реальных сообществ, авторы назвали «лимитометр». Работа лимитометра осуществляется по следующему алгоритму:

- 1. Выбор входного вектора $\{A_1^0, \dots, A_M^0\}$, такого, что $\overline{X}_i > 0$ и $\overline{A}_j > 0$, $i = 1 \div n; j = 1 \div M;$
- 2. Изменение A_{j}^{0} , «вывод» сообщества в новое стационарное состояние (состояния), определение $K^{j} = \partial \overline{A}_{i} / \partial A_{i}^{0}$;
- 3. Определение множества {R} номеров регулирующих факторов: {R: $\forall j, K^j \neq 1, j \in [1, M]$ } и их общего числа m;
- 4. Определение множества нерегулирующих факторов с такими номерами j, что $K^{j} = 1;$
- 5. Определение числа сосуществующих популяций n:

 $n=m-\sum_{j\in R}K^j.$

Если заранее известно, что определены не все регуляторы, т.е. $\sum_{i \in \mathbb{R}} K^{j}$ - не целое число, то пункт (5) опускается.

Предложенный нами метод разбавлений с рециркуляцией фильтрата в сочетании с применением хроматографической техники существенно расширяет применимость алгоритма «лимитометр» к решению основной задачи для реальных сообществ, в том числе и к фототрофному сообществу хемоклина меромиктических озер. А именно – метод позволяет практически приблизиться к выявлению полного списка ПКРФ, включая метаболиты, и делает более вероятным выполнение пункта (5) вышеприведенного алгоритма (Рогозин, 1998).

Метод выявления ПКРФ через оценку коэффициентов чувствительности был экспериментально нами апробирован на монокультуре дрожжей *Candida utilils*, где лимитирующими факторами выступали глюкоза (как субстрат) и ионы водорода (рН среды) как метаболит-ингибитор. Было показано, что значения КЧ по обоим факторам были меньше единицы, т.е. продемонстрирована тенденция к выполнению свойства квантования для системы «один вид – два фактора» (Рогозин, 1998; Дегерменджи и др., 1999). В дальнейшем метод оценки коэффициентов чувствительности был

распространен и на коэффициенты чувствительности биомассы в работах Адамович с соавторами (2003, 2005).

В принципе, знание механизмов регуляции видового состава через плотностно-зависимые факторы можно рассматривать как шаг к решению проблемы поддержания биоразнообразия в природных экосистемах (Рогозин, Дегерменджи, 1995).

6.5 Тенденция к аутостабилизации освещенности в стратифицированных популяциях фототрофных серных бактерий

Явление аутостабилизации лимитирующего фактора проявляется как тенденция и в природных экосистемах. Ближайшим аналогом лабораторных проточных систем можно считать водные экосистемы (Рогозин, 1998). В исследуемых нами водоемах потенциальными плотностно-зависимыми факторами, лимитирующими рост популяций фототрофных серных бактерий, являются свет, сероводород и биогенные элементы, как следует из основных физиологических потребностей фотосинтезирующих организмов.

В Главе 5 было показано, что непосредственно в зоне массового развития ПСБ существует источник сероводорода (сульфатредуцирующие бактерии), причем интенсивность продукции сероводорода в хемоклине оз. Шира выше, чем его поток из глубинных слоев, оцениваемый по профилю концентрации исходя из закона Фика (п. 5.4.6, Глава 5). В озере Шунет интенсивность продукции сероводорода в хемоклине также сопоставима с потребностью ПСБ. Очевидно, что в зоне массовых скоплений фототрофных серных бактерий имеет место локальный биотический круговорот субстрата, осуществляемый непосредственно внутри сообщества ПСБ-СРБ, И возможно, с участием других микроорганизмов. Известно, что ПСБ могут выделять растворимые органические вещества, служащие субстратом для гетеротрофных бактерий, соответственно и для СРБ (Czeczuga, Gradzki, 1973). Таким образом, взаимоотношения «ПСБ-сероводород» в хемоклине
исследуемых водоемов невозможно описать простой моделью проточной популяции с входным потоком субстрата, следовательно, невозможна и оценка уровня аутостабилизации сероводорода (т.е. оценка коэффициента чувствительности).

Показано, что, как правило, основным фактором, лимитирующим рост популяций АФБ в хемоклине озер, является свет (Van Gemerden, Mas, 1995). Исходя из теории, тенденция к аутостабилизации должна проявляться в сочетании двух явлений: 1) наличии положительной корреляции между входным уровнем лимитирующего фактора и биомассой и 2) отсутствием корреляции между входным и фоновым уровнями. В качестве входного уровня можно принять количество квантов ФАР, достигающих верхней границы слоя фототрофных серных бактерий, в качестве фонового уровня – количество ФАР непосредственно под слоем либо внутри слоя. Поскольку условия в хемоклине природного водоема существенно нестационарны во времени, по имеющимся данным для одного водоема невозможно точно оценить отклик биомассы на вариации освещенности при прочих равных условиях. Однако, для грубой оценки можно использовать усредненные данные для разных водоемов, либо данные по одному водоему, полученные для разных лет примерно в одни и те же даты.

Как было показано в Главе 4, количество ФАР на верхней границе хемоклина в оз. Шунет в среднем составляет летом около 55 μ E м⁻² c⁻¹ (Таб. 4.3), а численность ПСБ в пурпурном слое порядка 10⁸ кл мл⁻¹. Близкие значения зарегистрированы и в оз. Махони (Overmann, 1997). В хемоклине озера Шира ФАР летом в среднем составляет 1.8 μ E м⁻² c⁻¹, а численность ПСБ 10⁵ - 10⁶ кл мл⁻¹. Близкие значения показаны для меромиктического озера Каданьо (Tonolla et al., 2003). Таким образом, имеется положительная корреляция между освещенностью и численностью ПСБ. Аналогичный вывод был сделан при анализе 10-ти меромиктических водоемов, включая Черное море, в работе Оверманна и Манске (Overmann, Manske, 2006).

Для подледных периодов в озере Шира также можно видеть корреляцию между освещенностью и концентрацией бактериохлорофилла а в хемоклине. Так, в марте 2007 г. наблюдалась максимальная освещенность около 5 μ E м⁻² с⁻¹, и концентрация Бхл а была также максимальной (Рис. 6.1, см. также Главу 4). Напротив, в 2003 и феврале 2008 из-за наличия снежного покрова освещенность в течение зимы была около 0.2 μ E м⁻² с⁻¹, соответственно и концентрация Бхл а была ниже. Промежуточная ситуация наблюдалась в марте 2008 (Рис. 6.1). В целом, как показано в Главе 4, имеется положительная корреляция между освещенностью и общим количеством ПСБ под кв. м. в подледный период в озере Шира (Рогозин и др., 2009; Rogozin et al., 2009) (Таб. 4.2, 4.8).

Во всех перечисленных водоемах, независимо от входного потока ФАР, в зоне скопления фототрофных серных бактерий количество квантов ФАР резко снижается до значений порядка 0.01 μ E м⁻² с⁻¹ (Рис. 6.1, 6.2), что значительно меньше минимального количества ФАР, необходимого для генеративного роста (0.4 μ E м⁻² c⁻¹) (Van Gemerden et al., 1989). Следовательно, отсутствует корреляция между входным и фоновым уровнями, причем фоновый уровень близок к нулю. На основе приведенных предположить, оценок можно что свет проявляет тенденцию К аутостабилизации внутри скоплений плотных фототрофных серных бактерий, поглощающих свет в хемоклине стратифицированных водоемов. Эффект самозатенения ПСБ в оз. Шунет, описанный в Главе 4, является подтверждением того, что свет является плотностно-зависимым фактором в данной системе (Рогозин и др., 2012).

Однако, нельзя исключить влияние прочих факторов на величину биомассы, в частности модифицирующего фактора – температуры, которая зависит от глубины расположения хемоклина, так же, как и освещенность. Кроме того, на величину биомассы влияют условия ее накопления на градиенте плотности, скорость элиминации (оседания, выедания), и т.д. Как показано в Главе 4, численность ПСБ в «пурпурном» слое оз. Шунет значительно превышает максимальную, при которой возможен генеративный рост, т.е. в «пурпурном слое» происходит пассивное накопление неактивных клеток в результате низкой скорости элиминации их из зоны хемоклина. Таким образом, без специальных экспериментов невозможно однозначно утверждать, что свет является единственным лимитирующим рост фактором для популяций фототрофных серных бактерий, развивающихся в хемоклине меромиктических озер, однако тенденция к аутостабилизации видна, и следовательно, данный фактор является плотностно-зависимым.



Рис. 6.1 – Вертикальные профили характеристик озера Шира в подледный период. Освещенность приведена к стандартной дневной освещенности на поверхности 1500 мкмоль фотонов ФАР м⁻² с⁻¹. На вставке показан профиль бактериохлорофилла *а* в марте 2007 г. в более подходящем для 2007 г. масштабе (из Рогозин и др., 2009)



Рис. 6.2 – Вертикальные профили характеристик озера Шунет в подледный период. Освещенность приведена к стандартной дневной освещенности на поверхности 1500 мкмоль квантов ФАР м⁻² с⁻¹ (из Рогозин и др., 2009)

стратифицированным Ранее, применительно к водоемам, было показано, что тенденция к аутостабилизации проявляется не только в гомогенных системах, но и в пространственно-распределенных. В расчетах вертикальных распределений, проведенных с помощью математической модели, было показано, что концентрация минерального фосфора, являющегося лимитирующим фактором для фитопланктона, в фотической зоне распределена равномерно по глубине, независимо от распределения биомассы водорослей, тогда как последние формируют глубинный пик в зоне термоклина (Degermendzhy et al., 2002). Расчеты удовлетворительно натурными данными. Аналогично, в анаэробной совпадали с зоне

концентрация растворенной органики, лимитирующей удельную скорость роста сульфатредуцирующих бактерий, была распределена равномерно, и поддерживалась на низком уровне независимо от биомассы сульфатредуцирующих бактерий и распределения сероводорода (Degermendzhy et al., 2002).

6.6 Основные результаты и выводы Главы 6

- 1. Доказано, что сумма коэффициентов чувствительности в модели хемостата равна разности числа плотностно-зависимых контролирующих рост факторов числа видов. Данное И соотношение выполняется любых непрерывно-ДЛЯ дифференцируемых функций удельных скоростей роста.
- 2. Разработана схема проведения экспериментов, позволяющая коэффициенты определять чувствительности неидентифицированных компонентов среды в хемостате. С хроматографического помощью анализа И процедуры фильтрата культуральной рециркуляции среды возможно создание некоррелированных возмущений входных концентраций неидентифицированных веществ.
- На основе принципа аутостабилизации показано, что свет является плотностно-зависимым фактором в популяциях фототрофных серных бактерий в зонах хемоклина меромиктических водоемов.

6.7 Заключение к Главе 6

В данной Главе приведены теоретические результаты, являющиеся развитием биофизического подхода к исследованию природных микробных сообществ, в частности – в лабораторных малых экосистемах, являющихся аналогом водных сообществ микроорганизмов одного трофического уровня. Ранее теоретические исследования динамических моделей привели к открытию принципа аутостабилизации, на основе которого была разработана методика поиска лимитирующих факторов в природных экосистемах. В данной Главе сделан шаг в направлении обобщения модели хемостата, а именно – «уход» от линейного приближения в описании скоростей роста популяций. Очевидно, что нелинейность по скоростям роста усиливает адекватность модели, и следовательно – ее предсказательную способность. Тот факт, что свойство «квантования» остается справедливым и для модели с обобщенной формой записи функций скоростей роста, дает больше оснований предполагать, что данная тенденция проявляется и в реальных сообществах (Рогозин, 1998).

Подход к исследованию сообщества в хемостате, развиваемый в данной Главе, основан фундаментальном свойстве плотностно-зависимых на контролирующих рост факторов – эффекте аутостабилизации. Однако, при попытке решения обратной задачи – выяснения структуры «черного ящика» исследователь сталкивается с необходимостью постулировать некоторые свойства его внутренней организации. Поэтому при разработке количественных методов «расшифровки» МЫ вынуждены изначально предполагать заведомо упрощенную структуру сообщества. Однако, такой является единственно возможным, если учесть всю сложность шаг взаимодействий в реальных системах и недостаточность наших знаний о них (Рогозин, 1998).

ГЛАВА 7. КАРОТИНОИДЫ ФОТОТРОФНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ КАК ПАЛЕО-ИНДИКАТОР СТРАТИФИКАЦИИ МЕРОМИКТИЧЕСКОГО ОЗЕРА ШИРА

7.1 Введение

Одним из лучших архивов локальных климатических изменений являются донные отложения глубоких озер. Анализ различных независимых характеристик (маркеров) в слоях донных отложений различного возраста позволяет реконструировать прошлые состояния озера и окружающей его территории, следовательно – позволяет делать выводы о прошлых климатических вариациях в данной местности. Палеолимнологические исследования в настоящее время активно ведутся во всем мире. Большое число работ по донным отложениям озер с использованием различных изменений (диатомовых, индикаторов климатических хирономид, геохимического состава, пигментов и ДНК фототрофных серных бактерий, останков ракообразных, пыльцы наземных растений) (Nowaczyk et al., 2007; Ilyashuk et al., 2009; Wirth et al., 2013 и многие др.) проведено как на крупных водоемах, как Байкал (Grachev et al., 1997, Mackay, 2005), так и на небольших озерах (см. Главу 1).

Исследуемые нами водоемы – стратифицированные озера – являются удобными объектами для палеоклиматических реконструкций, поскольку именно в таких водоемах хорошо сохраняется последовательность годичных слоев из-за отсутствия турбулентных процессов в придонных водах и отсутствия биотурбации донных отложений (Overmann et al., 1993; Boehrer, Shulze, 2008). В озере Шира донные отложения обладают выраженной слоистой структурой, и являются, поэтому, подходящим объектом для палеореконструкций (Рогозин и др., 2011). В оз.Шунет верхняя часть донных отложений имеет полужидкую консистенцию без выраженной слоистой структуры, поэтому они не поддаются датировке и в них невозможен воспроизводимый послойный анализ.

В данной главе решается следующая задача: выявить вертикальное распределение ряда основных биологических и геохимических маркеров в верхних слоях донных отложений озера Шира, и сопоставить полученные данные с данными прямых измерений характеристик озера за последние 10 лет, а также с имеющимися данными о прошлом состоянии озера за период порядка 100-130 лет.

7.2 Материалы и методы 7.2.1 Отбор проб донных отложений

Отбор проб донных отложений осуществлялся в центральной глубоководной части озера Шира вблизи точки с координатами 54°30'025 СШ, 90°12'122 ВД. Глубина озера в точке отбора составляла 22.5 м.

Верхняя часть донных отложений, глубиной до 40 см, отбиралась с коробчатого дночерпателя SBS-100, (Институт биологии помощью внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок Ярославской обл.), являющегося аналогом дночерпателя Экмана (Hakanson, Jansson, 1983), захватывающего квадратный участок дна размером 160×160 MM, максимальная глубина погружения в донные осадки 440 мм, либо с помощью коробчатого дночерпателя аналогичного с максимальной глубиной погружения 20 см (Институт геологии и минералогии им. Соболева СО РАН, г. Новосибирск). Кроме этого, одна проба донных отложений (июль 2010 г.) была отобрана с помощью гравитационного лимнологического стратометра, разработанного в Институте микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, г. Москва), с рабочей трубкой внутренним диаметром 30 мм и максимальной глубиной отбора 400 мм. Вышеописанные отборы осуществлялись с лодки, закрепленной якоре, спокойную при слабом либо на В погоду,

отсутствующем волнении. Из проб, отобранных коробчатыми дночерпателями, сразу же после транспортировки на берег отбирали керны с помощью пластиковых трубок внутренним диаметром 45 мм.

Отбор более длинных кернов осуществлялся с помощью гравитационных пробоотборников со съемной пластиковой рабочей трубкой внутренним диаметром 60 мм длиной 150 см (июль 2009 г.) (Рис. 7.3), и диметром 100 мм длиной 300 см (июнь 2011 г.) (Институт геологии и минералогии им. Соболева СО РАН, г. Новосибирск). Отбор кернов осуществлялся с платформы (надувного катамарана), закрепленной на четырех якорях. Все работы проводили в безветренную погоду при отсутствии волн.

После отбора все керны закрывали герметично с обоих концов и в вертикальном виде хранили при +4 °С до разрезки в течение 1-10 суток.

В лаборатории керны разрезали вдоль и разделяли пополам на две Dсекции с помощью двух тонких пластин из нержавеющей стали, вставленных в разрез. После разделения керна пластины удалялись сдвигом в поперечном направлении, что позволяло сохранить ненарушенными поверхности разреза с видимыми горизонтальными слоистыми неоднородностями (Puc.7.2). Половинки кернов выдерживали на воздухе при слабом освещении в течение 1 суток, чтобы цветовые различия проявились наилучшим образом, затем делалось цветное фото каждого керна с закрепленной миллиметровой линейкой. Полученные половины керна разделялись затем на поперечные образцы (слайсы) с шагом 5-10 мм, при этом учитывались цветовые различия: в случае наличия видимых цветовых переходов разрез проводили по границе между слоями разного цвета.

Слайсы помещали в герметичные полиэтиленовые пакеты с выдавленным воздухом и хранили в темноте при -20°С. Дальнейшую обработку проводили при слабом освещении во избежание фото-деградации пигментов.

Всего было отобрано и проанализировано 3 пробы верхних донных отложений длиной 40 см, один керн длиной 150 см и один керн длиной 300 см.

7.2.2 Высокоточный отбор донных отложений с помощью намораживания

При отборе проб донных отложений с использованием стандартных устройств, описанных выше, часто нарушается целостность верхних слоев, т.к. эти слои имеют полужидкую консистенцию (до 90 % воды), и легко разрушаются от удара. Отбор пробы донных отложений с ненарушенными верхними годичными слоями представляет собой сложную техническую задачу. В мировой практике для этой цели используется метод намораживания на дне с помощью пробоотборника-намораживателя (freezecorer). В Институте биофизики СО РАН был изготовлен пробоотборникнамораживатель (freeze-corer) по описанному в литературе прототипу 1993), который (Renberg, Hansson, позволяет замораживать донные отложения прямо на дне водоема с помощью хладагента (смесь спирта и сухого льда, -80°С), циркулирующего внутри погружаемого в осадок металлического клина (Renberg, Hansson, 1993) (Рис.7.1). Данное устройство было применено нами на оз.Шира. Отбор проб с помощью намораживания осуществляли в марте 2013 и марте 2014 г. с ледовой поверхности (Рис. 7.1, замороженные образцы донных отложений 7.8). После извлечения транспортировали при отрицательной температуре в лабораторию, где хранили до анализа при -70°С. Замороженные образцы распиливали пилой на продольные бруски сечением 20×20 грань шлифовали MM, одну металлической пластиной (ножом) для проявления видимой слоистой структуры, и фотографировали с закрепленной миллиметровой линейкой (Рис. 7.8). Затем полученные бруски разрезали поперек на отдельные образцы с шагом 2.5-3 мм с помощью раскаленной нихромовой проволоки толщиной 0.4 мм, подключенной к источнику постоянного тока. Все операции осуществляли в помещении при отрицательной температуре. Образцы помещали в полиэтиленовые пакеты с выдавленным воздухом и хранили в темноте при -70°C до обработки.



Рис. 7.1 – Пробоотборник-намораживатель (freeze-corer) с отобранной пробой замороженных донных отложений. Центр озера Шира, март 2013

Во всех образцах, определяли содержание воды как потерю массы после сушки при 105° С, затем определяли содержание органики как потерю массы высушенного образца после прокаливания при 550 °С (Loss On Ignition, LOI₅₅₀) в течение одного часа (Santisteban et al., 2004).

7.2.3 Определение возраста донных отложений

Датировка донных отложений осуществлялась на основе измерений активности изотопов ¹³⁷Cs, ²¹⁰Pb, ¹⁴C, в сочетании с подсчетом годичных слоев (варв) (Kalugin et al., 2013). Измерения активности ¹³⁷Cs, ²¹⁰Pb осуществлялись в верхних 20 см донных отложений, отобранных коробчатым дночерпателем в 2010 г. (Рис. 7.2). Измерения проводились с помощью полупроводниковой низко-фоновой гамма-спектрометрии, на коаксиальном Ge-детекторе с низкофоновым криостатом EGPC-192-P21, на спектрометре с процессором FP-6300B (EURISYS MESURES). Интервал измерений радиоактивности составил 5 мм (Рис.7.7). Максимум активности техногенного изотопа ¹³⁷Сs принимался за 1963 г. – год максимального количества наземных ядерных испытаний (Kalugin et al., 2013). Границы слоев определялись визуально по фотоснимкам, а также по пикам отношения Ca/Sr, определенных с помощью сканирующего элементного анализа рентген-флуоресцентным методом на синхротронном излучении (РФА СИ) в Институте ядерной физики СО РАН, г. Новосибирск (см. п.7.1.8) (Kalugin et al., 2013). Данные ¹⁴С возраста получены в Познанской радиоуглеродной лаборатории (Польша) – 3 точки по керну (Рис. 7.8) (Kalugin et al., 2013).

7.2.4 Экстракция каротиноидов из донных отложений и культур микроорганизмов

Замороженные образцы донных отложений оттаивали при комнатной температуре, после чего гомогенизировали, разделяли на части и взвешивали каждую часть. Одну часть высушивали и определяли в ней влажность и содержание органики (LOI₅₅₀), из двух других экстрагировали фотосинтетические пигменты. Экстракцию пигментов проводили двумя методами:

Метод А. Из донных отложений и водной взвеси экстракцию каротиноидов проводили по методике, описанной в работе Оверманна с соавторами (1993) следующим образом (Overmann et al., 1993). Водные образцы либо донные отложения фильтровали через стекловолоконные фильтры GF/F (Whatman), погружали в раствор 6% КОН в этаноле, гомогенизировали стеклянной палочкой и выдерживали на водяной бане при 60 °С в течение 20 минут. Полученную смесь центрифугировали при 10000 g в течение 10 минут, после чего супернатант сливали и оставшуюся пеллету заливали 2.5 мл ацетона, ресуспендировали, затем центрифугировали при 10000 g в течение 3-х минут, супернатант сливали и смешивали с супернатантом, полученным ранее. Процедуру с пеллетой повторяли. Спиртовый экстракт смешивали с двумя ацетоновыми супернатантами, добавляли 3 мл смеси диэтилового эфира с гексаном (1:10), интенсивно перемешивали и отстаивали в разделительной воронке. Верхнюю фракцию изымали, из нижней гидрофильной фракции дважды выделяли оставшиеся каротиноиды, добавляя каждый раз по 3 мл эфир-гексановой смеси, все эфир-гексановые эстракты смешивали и пропускали через ватную пробку с водопоглотителем (Na₂SO₄). Полученные экстракты выпаривали при 40 °C на роторном испарителе и заливали ацетонитрилом. Все действия проводили при слабом рассеянном освещении.

Метод Б. Экстракцию каротиноидов и хлорофиллов из донных отложений и водной взвеси проводили по методике изложенной в работе Райта с соавторами (Wright et al., 1991) следующим образом. Донные отложения заливали 5 мл 90 % ацетона, перемешивали и оставляли на ночь в морозильнике. Затем центрифугировали 10 мин при 8000 g, и отбирали супернатант. Все операции проводили при слабом освещении для предотвращения фото-деградации пигментов.

7.2.5 Получение окенона

Каротиноид окенон получали из чистой культуры ПСБ *Thiocapsa sp.* Shira 1, выделенной из озера Шира (Глава 3). Культуру ПСБ выращивали на жидкой среде «Шира синтетическая» (см. Главу 3). Из биомассы данного штамма экстрагировали каротиноиды по методу А, как описано выше. Затем полученный экстракт обрабатывали методом тонкослойной хроматографии на стеклянных подложках, покрытых смесью силикагеля и гипса (100 мг гипса на 10 мл силикагеля). В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетона с гексаном (1:10), разделение проводили в восходящем потоке в герметичной камере. Предварительно пластинки с силикагелем активировали – выдерживали в камере 5-10 минут до полной пропитки подвижной фазой, затем выдерживали при 105 °C в течение 30 мин. Экстракт каротиноидов капилляром После наносили В виде полоски. удовлетворительного разделения полосу, содержащую очищенный окенон, соскребали С пластинки, заливали ацетонитрилом либо спиртом и фильтровали через стеклянный фильтр с диметром пор 6-8 мкм (Sigma-Aldrich, Германия).

7.2.6 Хроматографический анализ пигментов

Анализ состава фотосинтетических пигментов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на установке Agilent 1200 (Agilent Technologies, Калифорния, США), снабженной массспектрометрическим (MS) и диодно-матричным (DAD) детекторами, на колонке Eclipse XDB -C-18 размером 4.6×150 мм, диаметр частиц 5 мкм. Предварительно элюент и образцы проходили через пред-колонку Eclipse XDB-C18, 4.6×12.5 мм, диаметр частиц 5 мкм, разделение осуществляли при 40^0 С. Использовали две фазы: фаза **A** – деионизованная вода, фаза **Б** – ацетонитрил (Panreac). На старте соотношение элюента было 50% фазы **A** и 50% фазы при скорости протока 0.5 мл мин⁻¹, затем линейное увеличение **B** доли фазы B до 100% в течение 3-х минут при той же скорости протока. С 3 до 10 минут - линейное увеличение протока до 1.2 мл мин⁻¹ при том же соотношении элюентов, с 10 по 23 мин – стационарный режим, с 23 до 25 минут – доля элюента **A** линейно увеличивается до 50 % и скорость протока замедляется до 0.5 мл мин⁻¹ (Зыков и др., 2012). При анализе сигнал регистрировался MS и DAD детекторами, длина волны поглощения DAD-детектора 466 нм, длина волны сравнения - 360 нм.

7.2.7 Идентификация пигментов и оценка концентраций

Концентрацию окенона В этаноле определяли на спектрофотометре «UVIKON-943» (Kontron Instruments, Италия) (см. Главу 3), использовали значение коэффициента молярной экстинкции окенона в этаноле 134000 л моль⁻¹ (Mallorqui et al., 2005). По известному измеренному значению концентрации калибровали детекторы хроматографа. В тех случаях, когда изза слишком малого пика окенона на хроматограмме определение его площади было невозможным, значение принималось как нижний лимит детекции: 0.005 мкг г⁻¹ сухого вещества. Для идентификации каротиноида зеленых бактерий хлоробактина серных использовали экстракты, полученные по методу **Б** (см. п. 7.1.4) из биомассы штаммов 3СБ: ShNPel02 (EF149016), филогенетически близкого к Prosthecochloris sp., выделенного из оз. Шунет (Лунина и др., 2007а) и Chlorobium limicola, выделенного из оз. Шира (Саввичев и др., 2005). Оба щтамма были любезно предоставлены Луниной О.Н. (Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва). Для идентификации хлорофилла а использовали его хроматографический (Sigma). Прочие стандарт каротиноиды идентифицировали базе данных www.lipidbank.jpx, используя ПО

характерные пики поглощения и молекулярные массы, определенные с помощью MS-детектора. Использовались следующие настройки MSдетектора в режиме детекции по избранным ионам (SIM, Selected Ion Method): с 6 мин. – 564 (аллоксантин), с 9 мин - 584 (лороксантин), с 9 мин 30 с – 569 (лютеин и зеаксатнин), с 10 мин – 529 (изорениерантин), с 11 мин 30 с – 579 (trans-окенон и cis- окенон) (Рогозин и др., 2011).

Исходя из того, что оптические свойства всех ксантофиллов различаются мало (Mallorqui et al., 2005), для оценки концентраций всех каротиноидов использовалась та же калибровка, что и для окенона. Большинство образцов, где позволяло количество пробы, анализировали в двух повторностях, значения на рисунках приведены как среднее арифметическое.

7.2.8 Геохимический состав донных отложений

Элементный состав кернов анализировался методом сканирующего рентгенофлуоресцентного микроанализа с использованием синхротронного излучения (РФА-СИ) в Центре коллективного пользования «Сибирский центр синхротронного и терагерцового излучения» в Институте ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН (ИЯФ СО РАН, г. Новосибирск). Сканирование осуществлялось по твердым препаратам донных отложений с ненарушенной структурой. Твердые препараты изготавливались из влажного керна насыщением смесью эпоксидной смолы и ацетона по методике, разработанной в Институте геологии и минералогии им. Соболева СО РАН, г. Новосибирск (ИГМ СО РАН) (Дарьин и др., 2013). Сканирование осуществлялось с шагом от 0.02 до 0.1 мм. Оценивалось содержание следующих элементов: K, Ca, Ti, Fe, Mn, V, Cr, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, I, Cs, Ba, La, U, Th (Kalugin et al., 2013; Дарьин и др., 2013). Минералогический состав отложений определяли рентгенофазовым методом в ИГМ СО РАН на диффрактометре ДРОН 3. Вышеописанные анализы геохимического состава донных отложений осуществлялись сотрудниками ИГМ СО РАН. Для оценки сезонной динамики геохимического состава осадочного материала использовались седиментационные ловушки, как описано в Главе 4 (п.4.1). Осадочный материал из ловушек подвергался обработке и анализу аналогично материалу кернов.

7.3 Структура донных отложений озера Шира

Как было выявлено по керну 280 см (июнь 2011 г.), озерные слоистые отложения распространялись до глубины около 230 см, далее вглубь сменяясь рыхлыми отложениями не озерного происхождения (Рис.7.15,7.16).

Было выявлено, что донные отложения озера Шира обладают четко выраженной горизонтальной слоистой структурой, в которой темные карбонатно-глинистые обогащенные органикой слои чередуются co светлыми слоями, содержащими относительно мало органики (Рис. 7.2-7.4). Толщина парных слоев (темный+светлый) составляла от 2 мм в верхних 20 см до 0.4 мм в более глубоких слоях. На фоне тонкой слоистости были выявлены неоднородности более крупного масштаба. А именно, вдоль керна длиной 150 см выявлены шесть светлых участков, толщиной 45-120 мм, расположенных через интервалы 200-250 мм (Рис. 7.3, 7.4). Аналогичные светлые участки были обнаружены и в более глубоких слоях в керне 280 см (Рис. 7.15, 7.16). Темные и светлые слои различались по содержанию органики и воды, а также по минералогическому составу. LOI₅₅₀ было меньше в светлых слоях, что указывает на меньшее количество органики (Рис.7.4).



Рис. 7.2 – Верхние слои донных отложений по пробе 2010 г. Маркированы даты годичных слоев по подсчету сверху (от 2010 г.)



Рис. 7.3 – Керны донных отложений длиной 40 см (май 2011) и 150 см (июль 2009) из озера Шира в разрезе. Стрелками показаны карбонатные «белые» слои. Ноль на вертикальных масштабных линейках соответствует границе раздела вода-дно, длина утерянных верхних слоев восстановлена по керну 20 см, отобранному в 2010 г (Рогозин и др., 2012)

343



Рис. 7.4 – Содержание влаги (WC %) и органики (LOI₅₅₀) в керне длиной 150 см (июль 2009 г.) (из Kalugin et al., 2013)

Содержание воды также было меньше в светлых слоях (Рис. 7.4). В темных слоях доминировали кальцит (CaCO₃, 18-30% веса) и моногидрокальцит (CaCO₃·H₂O, 13-14%), тогда как доломит (CaMg(CO₃)₂, 54%), меньше кальцита (11%) и следы стронцианита (SrCO₃) присутствовали в светлых слоях. Темный цвет донных отложений был обусловлен повышенным содержанием органики и гидротроилита (FeS·nH₂O) (Kalugin et al., 2013).

Было показано, что керны верхних отложений, отобранные в разное время и разными способами, обладали схожим рисунком и могли быть сопоставлены (Рис. 7.5). Тем самым для данного озера показана возможность получения непрерывного ряда данных путем сопоставления разных кернов по перекрывающимся участкам.



Рис. 7.5 – Пример сопоставления разных кернов донных отложений центральной части озера Шира. Виден идентичный рисунок слоев в двух разных кернах. Верхние части кернов утрачены в процессе отбора

Первый мощный «белый» слой в верхней части донных отложений был расположен на глубине 13 см, и был четко виден во всех пробах, включая отобранные намораживанием (Рис.7.1-7.4, 7.8). Верхняя граница данного слоя использовалась в качестве репера при сопоставлении разных кернов (см. далее).

РФА - СИ сканирование твердых препаратов ненарушенных образцов керна показало. что содержание стронция колеблется синхронно с годичными слоями, т.е. обладает сезонной ритмичностью (Kalugin et al., 2013). Было выявлено, что показательным геохимическим индикатором сезонной ритмичности является отношение Ca/Sr (Рис. 7.6). Калугиным, Дарьиным и Третьяковым была предложена модель осадкообразования в озере Шира, которая предполагает внутригодовые вариации Ca/Sr отношения, связанные с понижением температуры воды и повышением солености в зимний период в связи с нарастанием толщи льда (Третьяков и др., 2012; Kalugin et al., 2013). Это приводит к выпадению в осадок стронцианита и, как следствие, повышению содержания стронция в осадке. Таким образом, высокие значения Ca/Sr отношения характеризуют летнеосенний период, а повышение содержания стронция и понижение Ca/Sr отношения происходит в зимний период и, возможно, модулируется зимней температурой или общей продолжительностью зимнего периода, т.е. толщиной льда и температурой воды (Третьяков и др., 2012; Kalugin et al., 2013).

Детальный анализ элементного состава донных отложений не входит в задачу настоящей работы, однако, для максимально точной датировки мы использовали наряду с визуальным подсчетом слоев геохимический индикатор в виде Ca/Sr отношения, позволяющий подсчитывать годичные слои на участках, где цветовые различия плохо выражены (Рис. 7.6).



Рис. 7.6 – Вариации Ca/Sr – отношения, выявленные РФА-СИ сканированием в верхней части донных отложений (керн 2010 г). Количество пиков соответствует количеству лет

7.4 Определение возраста донных отложений и скорости осадконакопления в оз. Шира

Точную датировку верхней части донных отложений осуществляли по керну 20 см, отобранному коробчатым дночерпателем в июле 2010 г. Предполагали, что положение максимума содержания ¹³⁷Cs наиболее вероятно соответствует 1963 году (Рис. 7.7). Затем подсчитывали количество слоев до поверхности осадка двумя способами: визуально по фотографиям (Рис. 7.2) и по пикам отношения Ca/Sr (Рис.7.6). Оказалось, что в интервале от условного слоя 1963 года до поверхности отложений (условно слой 2010 года) помещалось 47-49 слоев, т.е. количество слоев практически

соответствует количеству прошедших лет (47 лет). Следовательно, можно утверждать, что наблюдаемые слоистые неоднородности являются годичными слоями (варвами), образующимися за счет сезонных колебаний условий осадконакопления в озере.





Будем считать, что годовой слой осадка находится между двумя экстремумами на графике, т.е. минимум Ca/Sr отношения маркирует зиму года N, а следующий по глубине керна маркирует зиму года N-1 (Puc.7.6). Тогда приняв верхний слой за год отбора – 2010, построим временной ряд. По этим критериям на интервале 0-110 мм было выделено 49 слоев (Puc.7.6 – тонкие вертикальные линии). На участках с нечетко выраженными пиками (интервалы: 47-50, 68-77, 88-93 мм) по визуально выделяемым слоям добавлено еще 7 годовых слоев. Последовательный подсчет дал следующие результаты (Табл.7.1).

Год	Положение,	Скорость,	
	ММ	мм год ⁻¹	
2010	0		
2000	17	1.7	
1990	38	2.1	
1980	56	1.8	
1970	78	2.2	
1960	96.5	1.85	
1955	106	1.9	

Таб. 7.1 – Оценка скорости накопления верхней части донных отложений

Таким образом, средняя скорость на данном интервале оценивается величиной 1.93 мм год⁻¹.

Для сопоставления разных кернов был выбран наиболее четко визуально распознаваемый на всех кернах репер – верхняя граница мощного белого слоя, расположенного в районе 13 см (Рис. 7.1-7.5).

Для керна 2010 г., по которому проводили датировку, невозможно было утверждать с абсолютной уверенностью, что видимый верхний слой действительно соответствует 2010 году, поскольку не видна граница водадно, т.е. самые «молодые» слои могли быть утеряны при отборе (Рис. 7.2, 7.6). датировки была подтверждена Правильность применением намораживателя. В пробах 2013 и 2014 гг, отобранных намораживателем, граница вода-дно была четко видна (Рис. 7.8), и положение реперного «белого» слоя по глубине (около 13 см) удовлетворительно совпадало с положением его на керне 2010 г (Рис. 7.2). Таким образом, с помощью намораживателя было доказано, что датировка, сделанная по керну 2010 г., является правильной.

Визуальный подсчет годичных слоев, сделанный по фотоснимкам замороженных образцов (Рис. 7.8) позволяет датировать верхнюю границу

«белого» слоя как 1938-1945 г, неопределенность обусловлена нечетким цветовым различием слоев на некоторых участках керна. Мы не располагаем данными сканирования элементного состава замороженных образцов, поскольку методика получения твердых препаратов для РФА-СИ из замороженных препаратов донных отложений на данный момент находится в стадии разработки. В дальнейшем возможно уточнение датировки с использованием отношения Ca/Sr и прочих методов по замороженным *in situ* образцам, однако в данной работе при интерпретации результатов мы будем условно принимать верхнюю границу «белого» слоя за 1945 год (Kalugin et al., 2013; Зыков и др., 2012).



Рис.7.8 – Донные отложения оз.Шира, замороженные *in situ* с помощью пробоотборника-намораживателя, март 2013. Видны ненарушенные годичные слои (варвы). Верхняя граница «белого» слоя на 13 см (слева) соответствует 1940-1945 году

В нижней части разреза временная шкала построена по 3 радиоуглеродным датам (665, 1310 и 2450 лет ВР) (Kalugin et al., 2013) (Рис. 7.4). Одновременно производился подсчет количества и толщины годичных слоев на 12 участках керна, включающих от 80 до 100 слоев, использовавшийся для контроля радиоуглеродных датировок. Как выяснилось, возраст по ¹⁴С во всех точках измерений систематически превышал возраст, определенный подсчетом слоев, примерно на 1200 лет. Данная величина была вычтена из абсолютного радиоуглеродного возраста (Kalugin et al., 2013). На Рис. 7.9 приведены корректированные значения возраста.



Рис. 7.9 – ¹⁴С возрастная модель осадконакопления в озере Шира по керну 150 см (июль 2009 г.)

Таким образом, для примерной датировки всех исследованных кернов нами была использована следующая упрощенная модель: в верхних 130 мм (до первого белого слоя) скорость осадконакопления составила в среднем 2 мм год⁻¹, от 130 до 700 см – 0.75 мм год⁻¹, и далее вплоть до глубина 2300 мм – 0.5 мм год⁻¹.

7.5 Качественный состав каротиноидов, идентифицированных в озерах Шира и Шунет: общая характеристика

В воде и донных отложениях озера Шира, а также в воде озера Шунет методом ВЭЖХ были идентифицированы следующие каротиноиды (Рис. 7.10): аллоксантин (молекулярная масса 564.7, время выхода – 8.7 мин., лороксантин (молекулярная масса 584.7, время выхода – 9.3 мин.), лютеин (молекулярная масса 568.8, время выхода – 9.6 мин.), зеаксантин (молекулярная масса – 568.8, время выхода – 9.6 мин.), окенон в двух формах: *trans*-окенон и *cis*-окенон (молекулярная масса – 579.7, времена выхода – 13.05 и 13.35 мин., соответственно). Также был обнаружен изорениератин в следовых концентрациях (молекулярная масса 528.8, время выхода около 10 мин.). Лютеин и зеаксантин являются изомерами, поэтому их молекулярные массы совпадают (Leavitt, 1993).

Окенон – пигмент, встречающийся только у нескольких видов пурпурных серных бактерий, и как правило в природе он представлен в виде смеси двух изомеров *цис*- и *транс*- (Overmann et al., 1993). Как показано в предыдущих главах данной работы, окенон-содержащие бактерии являются типичными обитателями анаэробных зон озер Шира и Шунет (Главы 3,4).

Аллоксантин – каротиноид криптофитовых водорослей (Leavitt, 1993). Данная группа водорослей образует скопления вблизи хемоклина во многих стратифицированных водоемах, в том числе и в озере Шунет (Khromechek et al., 2010). В озере Шира также недавно было обнаружено присутствие криптофитовых (Prokopkin et al., 2014).

Лютеин – характерный каротиноид зеленых водорослей и высших растений, а также цианобактерий (Leavitt, 1993).

Зеаксантин – характерен для цианобактерий и зеленых водорослей, в цианобактериях преобладает над лютеином (Leavitt, 1993; Overmann et al., 1993).

В ряде работ было показано, что зеленые водоросли, и цианобактерии составляют основу фитопланктона озер Шира и Шунет (Gaevsky et al., 2002; Дегерменджи и др., 2003), поэтому присутствие лютеина и зеаксантина в указанных озерах является закономерным.



Рис. 7.10 – Типичные хроматограммы экстракта из донных отложений озера
Шира: А) DAD – хроматограмма, детектор – диодный спектрофотометр (λпр – 466 нм, λср – 360 нм), Б) MSD (режим SIM) –хроматограмма (из Зыков,

Лороксантин – каротиноид, характерный для зеленых водорослей, в частности – для *Botryococcus braunii* (Grung et al., 1989). Данный вид также типичен для оз. Шира, как было показано в ряде работ (Gaevsky et al., 2002; Kopylov A. I., et al., 2002a; Kopylov A. I. et al, 2002b).

Вышеприведенный список каротиноидов не является полным, поскольку некоторые каротиноиды остаются неидентифицированными, любо не разделяются достаточно хорошо В используемом нами режиме хроматографии. В частности, хлоробактин и изорениератин, как основные каротиноиды зеленых серных бактерий, должны присутствовать в образцах оз. Шунет, поскольку там данная группа бактерий является одной из доминирующих, в отличие от оз. Шира (см. Главу 3) (Лунина и др., 2007; Rogozin et al., 2009; Рогозин и др., 2010). В донных отложениях озера Шира не были обнаружены характерные пики, присутствующие на хроматограммах экстракта из культур ЗСБ (см. п. 7.2.7), что подтверждает минорную роль ЗСБ в оз. Шира. Поскольку донные отложения оз. Шунет не представляют собой подходящего объекта для палео-реконструкций, каротиноиды в них не анализировались.

7.6 Каротиноиды в водной толще озер Шира и Шунет: состав и вертикальное распределение

Для сравнения с донными отложениями и палео-лимнологической интерпретации необходимо знать современный состав каротиноидов в исследуемых озерах. Состав и вертикальное распределение каротиноидов на различных глубинах озер Шира и Шунет исследовались в образцах, отобранных в июле 2011 г. (Зыков и др., 2012, Зыков, 2012).

В аэробной зоне оз. Шира концентрации лютеина и зеаксантина были на грани предела обнаружения для данного объема проб. Прочие каротиноиды не были обнаружены. Только в верхних слоях на глубине 1 м, и в непосредственной близости от хемоклина (11 м) концетрация лютеина превысила предел обнаружения (Рис. 7.11).



□зеаксантин ∎лютеин □аллоксантин □лороксантин □окенон

Рис. 7.11 – Вертикальные распределения каротиноидов, а также температуры, и кислорода в водной толще оз. Шира, июль 2011 г. (Зыков и др., 2012)

В анаэробной зоне, напротив, присутствовали все идентифицируемые нами каротиноиды, причем доминировал окенон. Его концентрация была максимальной в районе хемоклина, и незначительно уменьшалась ко дну (Рис. 7.11). Концентрации прочих каротиноидов также демонстрировали локальный максимум в хемоклине и постепенное уменьшение ко дну (Рис.7.11). Присутствие В анаэробной зоне высоких концентраций аэробного фитопланктона каротиноидов объясняется накоплением В процессе оседания и замедленной деструкцией в условиях низкой температуры, отсутствия кислорода и света (Leavitt, 1993).

Состав каротиноидов в воде оз.Шунет был тем же, что и в оз. Шира. При этом концентрация окенона была на порядок больше концентраций прочих пигментов (Таб. 7.2). Кроме того, в хемоклине оз. Шунет было обнаружено несколько неидентифицированных каротиноидов.

Таким образом, в анаэробной зоне обоих озер в составе каротиноидов доминировал окенон, что естественно объясняется наличием массовых скоплений его носителей – пурпурных серных бактерий.

Глубина,	Окенон,	Лютеин,	Зеаксантин,	Аллоксантин,	Лороксантин,
Μ	мкг л ⁻¹				
4.5	1.28	0.55	0.55	0.55	0.8
5	427	31	28	80	40
6	237	25	25	51	32

Таб. 7.2 – Концентрации каротиноидов в водной толще оз. Шунет, июль 2011 г. (из Зыков, 2012)

7.7 Анализ верхней части донных отложений озера Шира 7.7.1 Сравнительный анализ нескольких проб

Очевидно, что для правильной интерпретации состава древних донных отложений необходимо сопоставить состав относительно «молодых» отложений с натурными данными за соответствующий недавний период. В нашем случае таким «обучающим» периодом является отрезок времени, для

которого имеются данные об уровне озера Шира, т.е. с 1890 года по настоящее время (Рис. 2.27, Глава 2). Этому периоду времени соответствуют верхние 17 см донных отложений. Как было показано выше (пп. 7.3, 7.4), на кернов ЭТОМ участке имеется резкая неоднородность состава, характеризующаяся широким «белым» слоем, верхняя граница которого датируется 1940-1945 годом. Таким образом, возраст «белого» слоя соответствует периоду снижения уровня озера, перехода его через минимум (1926 г.), и последующему резкому подъему почти до современного уровня (Глава 2, п. 2.15, Рис. 2.27, 7.13). Соответственно, особенности вертикальных распределений всех палеоиндикаторов именно в окрестности «белого» слоя представляют наибольший интерес, поскольку могут быть ключом к реконструкции возможных изменений уровня в прошлом.

Каротиноиды фототрофных организмов в донных отложениях озера Шира впервые были проанализированы в керне, отобранном в июле 2010 г с помощью лимнологического стратометра (Рогозин и др., 2011). В данном керне были обнаружены все те же каротиноиды, что и в воде (см. пп. 7.4, 7.5). Вертикальное распределение концентраций было неоднородным: максимум всех каротиноидов был зарегистрирован в интервале глубин 9-13 см (Рогозин и др., 2011) (Рис. 7.12). Данный керн разделялся на образцы с грубым интервалом от 2.5 до 5.0 см, без учета слоистых неоднородностей. Поэтому сопоставление с последующими кернами, проанализированными более детально, является также грубым. Тем не менее, впервые был обнаружен окенон в донных отложениях, что свидетельствует о наличии сероводорода в фотической зоне озера в прошлом (Рогозин и др., 2011). Датировка данного керна является приблизительной. Повышенная концентрация пигментов соответствует приблизительно периоду 1920-1950-х гг (Рис. 7.12).

Более детально нами было проанализировано два керна верхних донных отложений, отобранных в мае 2011 и июле 2012 гг с помощью коробчатых дночерпателей, а также проба замороженных донных отложений,

357

отобранная с помощью намораживателя в марте 2013 г. Керны 2011 г. (40 см) и 2012 г(40 см) были разрезаны на образцы с шагом 5 мм. В обоих кернах была утеряна верхняя часть (около 5 см), поэтому для приведения их к единой шкале глубины мы использовали в качестве репера верхнюю границу мощного «белого» слоя, принимая ее за 13 см и датируя 1945 г.(см. п. 7.2, 7.3).



Рис. 7.12 – Вертикальное распределение каротиноидов в верхних слоях донных отложений озера Шира, полученное с грубым разрешением (керн июль 2010 г.) (Рогозин и др., 2011)

Для контроля возможного перемещения содержимого кернов с поровой водой керны хранили по-разному: керн 2011 хранился в вертикальном положении, керн 2012 г. – в горизонтальном. На Рис. 7.13 приведено наложение данных по всем трем пробам донных отложений. Можно видеть, что в перекрывающихся участках всех трех кернов качественная картина распределения пигментов и органики одинакова: выше белого слоя наблюдается увеличение всех каротиноидов и органики. Максимальное содержание окенона в обоих кернах наблюдается непосредственно над «белым» слоем (Рис. 7.13). В пробе замороженных отложений каротиноиды

были проанализированы лишь до глубины 117 мм, однако видна та же тенденция: увеличение концентрации окенона по направлению вниз к «белому» слою. Данная картина качественно совпадает и с распределением в керне 2010 года: пик каротиноидов в интервале 9-13 см соответствует таковому в кернах 2011 и 2012 гг (сравнить Рис. 7.12 и 7.13). Таким образом, на перекрывающихся участках всех трех проб донных отложений (два керна и замороженная проба) была получена сходная картина распределения каротиноидов (Рис. 7.13). Следовательно, выявленные нами значения концентраций и характер их вертикальных распределений являются достоверными.

7.7.2 Качественная картина распределения каротиноидов и органики в верхней части донных отложений оз.Шира

Во всех проанализированных пробах концентрации всех каротиноидов демонстрировали значимую положительную корреляцию с содержанием органики (LOI₅₅₀) (Таб.7.3). Соответственно, профили концентраций всех пигментов характеризовались положительными корреляциями друг с другом, что также свидетельствует, что неоднородности в распределении различных каротиноидов вызваны скорее общими причинами, чем специфическими для отдельных групп (Рис.7.13, Таб. 7.3).

Общим свойством распределения является наличие максимума в верхних слоях и постепенное убывание по направлению вглубь керна до глубины около 60 мм (Рис. 7.13). Снижение концентраций с глубиной является общей тенденцией, наблюдаемой в донных отложениях многих озер, и обусловлено постепенной деструкцией органики, в том числе и фотосинтетических пигментов (Leavitt, 1993).

Однако профиль окенона качественно отличался от прочих каротиноидов, и демонстрировал наименьшую корреляцию как с органикой, так и со всеми прочими каротиноидами (Таб.7.3). А именно – в отличие от

прочих каротиноидов окенон демонстрировал локальный максимум концентрации непосредственно над «белым слоем», причем концентрация превышала таковую в самых верхних слоях (Рис.7.13). Данная тенденция наблюдалась в обоих кернах, для которых был проанализирован этот участок (Рис. 7.13), а также в керне 2010 г., проанализированном с более грубым интервалом (Рис. 7.12).

Таб. 7.3 – Коэффициенты корреляции между характеристиками в верхних слоях донных отложений озера Шира: верхнее значение – керн 2011, нижнее значение – керн 2012 (Рис. 7.13). Выделены значимые для р > 0.01

	Органика	Окенон	Лютеин+	Лороксантин
	(LOI ₅₅₀)		Зеаксантин	
Окенон	0.33	1		
	0.37	1		
Лютеин+	<u>0.48</u>	<u>0.29</u>	1	
Зеаксантин	0.70	0.68		
Лороксантин	<u>0.54</u>	<u>0.35</u>	<u>0.97</u>	1
	0.73	0.55	0.86	1
Аллоксантин	<u>0.78</u>	<u>0.64</u>	<u>0.76</u>	<u>0.82</u>
	0.76	0.52	0.93	0.97

В «белом» слое и далее вглубь кернов концентрация всех пигментов заметно снижалась, а окенон был на грани обнаружения, либо вообще отсутствовал (Рис. 7.13). Аналогично, профиль органики (определяемой как LOI₅₅₀) демонстрировал снижение в «белом» слое и ниже. Еще более выраженное снижение органики в верхнем «белом» слое было зарегистрировано при анализе керна длиной 150 см (2009 г., Рис. 7.4). Вблизи второго «белого» слоя, расположенного во всех пробах на глубине около 40 см (Рис. 7.13, 7.4, 7.5), был отмечен небольшой локальный максимум
каротиноидов, однако на данной глубине анализировался только один керн 2011 года (Рис.7.13).

Таким образом, нами выявлено некоррелированное распределение окенона над первым «белым» слоем, т.е. в слоях, соответствующих периоду 1940-1950-х гг (Рис. 7.13). Вероятно, данный локальный максимум указывает на повышенную продукцию пурпурных серных бактерий в этот период.



Рис. 7.13 – Вертикальные распределения фотосинтетических пигментов b и органики в верхних слоях донных отложений. Наложение кернов, отобранных в 2011 и 2012 гг, и замороженного *in situ* образца, отобранного в

2013 году

7.7.3. Сопоставление состава донных отложений с динамикой уровня озера

Полученная нами оценка возраста отложений оз. Шира (п. 7.4) позволяет утверждать, что формирование первого «белого» слоя, расположенного в донных отложениях на глубине 13 см, происходило в период 1910-1930-х гг (Зыков и др., 2012, Kalugin et al., 2013). По имеющимся данным, в этот период озеро Шира испытывало резкий переход через минимальный уровень (см. Главу 2, Рис. 2.27), причем глубина озера уменьшалась на 7 м по сравнению с современным уровнем, а объем озера уменьшался почти в два раза (Рис. 2.27, п. 2.15).

Резко неоднородное поведение всех характеристик донных отложений в окрестности «белого» слоя (Рис. 7.13) позволяет предположить, что в этот период режим перемешивания озера был голомиктическим, т.е. в придонных слоях воды возникали окислительные условия. Действительно, минимум всех каротиноидов и органического вещества свидетельствует о повышенной деструкции органики в «белом» слое». Повышенная деструкция указывает на присутствие кислорода в придонной части водной толщи. Низкое содержание гидротроилита (FeS·nH₂O), обусловливающего черный цвет неокисленных отложений и формирующегося в присутствии сероводорода, также служит подтверждением гипотезе об окислительных условиях в гиполимнионе озера в период минимального уровня (Kalugin et al., 2013; Третьяков и др., 2012).

Одним из геохимических индикаторов смены окислительновосстановительной обстановки является изменение содержания редоксчувствительных элементов, к каким относится молибден и марганец. В ряде работ показано, что повышенное содержание Мо в отложениях является признаком восстановительных условий и присутствия сероводорода (Dahl et al., 2010; Wirth et al., 2014) тогда как повышенное содержание Мп в отложениях свидетельствует об окислительных условиях (Calvert, Pedersen, 1996; Wirth et al., 2014). Таким образом, отношение Мо/Мп является чувствительным индикатором редокс-условий. Для озера Шира оценка содержания молибдена методом РФА СИ была осуществлена только для проб, отобранных в 2009 г. с помощью коробчатого дночерпателя («Ящик-2009») (Рис. 7.14). С учетом положения «белого» слоя данная проба была приведена к единой шкале длины, поэтому мы можем сопоставить данные ее элементного состава с данными по кернам 2011 и 2012 гг. На Рис. 7.14 видно, что как содержание Mo, так и отношение Mo/Mn демонстрирует минимум в «белом» слое, и резко возрастает выше данного слоя. Соответственно, содержание Mn снижается выше «белого» слоя. Таким образом, распределение геохимических маркеров косвенно подтверждает, что в период снижения уровня озеро Шира переходило в голомиктический режим, а после подъема уровня вновь стало меромиктическим, причем наиболее устойчивыми меромиктические свойства были с 1950-х по 1980-е гг. Следует заметить, что в более молодых слоях (от 60 мм и выше) отношение Mo/Mn вновь демонстрирует снижение. Следовательно, можно предположить, что в период с начала 1980-х гг. устойчивость меромиксии озера снизилась по сравнению с периодом 1950-1980-х гг. Снижение содержания каротиноидов в соответствующих слоях подтверждает это предположение (Рис. 7.13).

Возможный механизм перехода из меромиктического состояния в голомиктическое был описан нами в Главе 2. А именно, было показано на натурных данных, что термогалинная конвекция, возникающая при нарастании ледового покрова в зимнее время, может проникать в более глубокие слои озера при снижении его уровня. Более того, численные расчеты с помощью одномерной математической модели показали, что при снижении уровня озера Шира на 7 м ниже современного, термогалинная конвекция достигает дна, т.е. озеро переходит в голомиктический режим (Глава 2, п. 2.16, Рис. 2.29). Еще один возможный механизм перехода озеро из меромиктического в голомиктическое описан для озера Моно (Mono Lake, Калифорния, США). А именно, при снижении уровня меромиктического озера за счет испарения соленость в миксолимнионе приближается к таковой в монимолимнионе. Соответственно, уменьшается стабильность стратификации (Melack, Jellison, 1998).



Рис. 7.14 – Распределение молибдена и марганца в донных отложениях озера Шира в пробе 2009 г

Таким образом, на основе сопоставления распределений фотосинтетических пигментов, органического вещества и редоксчувствительных элементов с динамикой уровня показано, что в период сильного снижения уровня (1910-1930-е гг.) в придонной части озера Шира условия могли быть окислительными, т.е. озеро переходило либо в голомиктический режим, либо меромиктический режим был неустойчивым, и в придонную часть периодически попадала вода, содержащая растворенный кислород. Аналогичное предположение о возможной смене окислительных условий при колебаниях уровня озера было высказано Каспером с соавторами при исследовании донных отложений соленого озера Нам Ко (Nam Co) в Тибете (Kasper et al., 2013).

Интерес представляет резкое изменение условий формирования «белого» 7.13). донных отложений выше слоя (Рис. Увеличение концентрации всех пигментов в слоях, сформировавшихся после резкого поднятия уровня, указывает на замедление деструкции органики в этот неокисленных отложений период. Темный цвет свидетельствует 0 сульфидов (гидротроилита), накоплении железа т.е. на появление сероводорода, и в конечном счете – на усиление меромиктических свойств озера в этот период. Об этом же свидетельствует повышение отношения Мо/Мп и органики (Рис.7.13, 7.14).

Усиление меромиксии способствует как лучшей сохранности каротиноидов, так и повышенной продукции ПСБ, следовательно - окенона. Поэтому резкое и не коррелирующее с прочими пигментами увеличение содержания окенона выше «белого» слоя может быть обусловлено повышенной продукцией ПСБ, как уже отмечалось в п.7.6.2. Причем, судя по тому, что содержание окенона в слоях 1950-х гг даже выше, чем в современных слоях (Рис. 7.13), можно предполагать, что в период 1950-х гг. условия могли быть более благоприятными, чем в настоящее время. В настоящее время хемоклин в озере Шира расположен на глубине 12-16 м, соответственно низкая освещенность в хемоклине (порядка 2 µE м⁻² с⁻¹) и низкая температура обусловливают глубокое лимитирование ПСБ (Rogozin et al., 2009), (см. Главу 4). В период 1940-50-х гг. глубина озера была на 2-3 м меньше современной (Рис. 2.27, 7.13), поэтому и глубина расположения хемоклина могла быть меньше, чем в настоящее время. Соответственно, и освещенность могла быть выше, а значит – и продукция ПСБ. Этим может объясняться максимум окенона над «белым слоем» (Рис. 7.13-7.15). Помимо этого, как было показано на современных данных мониторинга в Главах 2 и 4, подъем уровня способствует поддержанию относительно высокой стабильности водной толщи, а следовательно – более благоприятным условиям обитания ПСБ. Одновременное повышение продукции ПСБ и улучшение условий сохранности окенона должны способствовать более контрастному поведению данного пигмента в донных отложениях по сравнению с другими каротиноидами в периоды подъема уровня озера. Этим, возможно, и объясняется сравнительно низкая корреляция окенона с прочими каротиноидами в окрестности «белого» слоя (Таб. 7.3).

Увеличение содержания каротиноидов оксигенных фототрофов выше «белого» слоя указывает скорее только на замедление деструкции, тогда как характер изменения продукции остается для нас неизвестным. Как показано для других озер, переход от голомиксии к меромиксии может вызывать снижение продукции фотосинтеза в верхних аэробных слоях, поскольку биогенные элементы, попадая в монимолимнион, становятся недоступными для оксигенного фитопланктона (Melack, Jellison, 1998).

Таким образом, анализ «молодых» слоев донных отложений озера Шира и их сопоставление с динамикой уровня за известный период позволяют выдвинуть гипотезу, что и в более древних отложениях слои с повышенным содержанием каротиноидов, особенно окенона, расположенные над «белыми» слоями, могут указывать на периоды усиления меромиктических свойств озера, следовательно – на периоды повышения его уровня.

7.8 Каротиноиды в древних донных отложениях озера Шира

В июне 2011 г был отобран керн максимальной длины – 280 см. Непрерывные слоистые озерные отложения залегали до глубины 2.5 м, далее вглубь сменяясь рыхлыми отложениями не озерного происхождения (п. 7.2 Рис. 7.15), по консистенции напоминающими песок. Возраст перехода от озерных отложений к не озерным оценивается нами как 4500 лет. Таким выявлено, что последний временной отрезок непрерывного образом, существования озера Шира составляет порядка 4.5 тысяч лет. Были проанализированы вертикальные распределения каротиноидов окенона, лютеина+зеаксантина, аллоксантина и лороксантина, а также органики и хлорофилла а в вышеупомянутом керне с интервалом 5 см. Кроме того, в окрестностях переходов от «светлых» слоев К «темным» анализы 1 (Рис. 7.15. 7.16). проводились с интервалом СМ Аналогично интервалу рассмотренному выше верхнему донных отложений, распределения каротиноидов оксигенных фототрофов (лютеина+зеаксантина, аллоксантина и лороксантина) в керне 280 см были коррелированными, эти пигменты встречались во всех без исключения проанализированных слоях озерных отложений (Рис.7.15). В более древних отложениях (глубже 230 см), характеризующихся как не озерные, все каротиноиды отсутствовали (Рис.7.15). В отличие от прочих каротиноидов, окенон демонстрировал более неоднородное распределение. А именно _ В озерных отложениях наблюдались участки, где окенон полностью отсутствовал, в частности в интервалах глубин 65-90 см, 160-180 см, 200-220 и в других более узких интервалах (Рис. 7.15). Малое количество окенона на фоне существенно большего количества неспецифических каротиноидов в слоях древнее 1920-30-х гг. свидетельствует, что и при высоком, почти современном уровне озера меромиксия могла быть слабо выражена, либо отсутствовать вообще. Таким образом, можно утверждать, что условия для существования пурпурных серных бактерий в озере Шира не всегда были благоприятными, т.е. сероводород не всегда присутствовал в фотическом слое озера Зыков и др., 2012). Следовательно, стратификация озера не всегда была устойчивой, и озеро могло обратимо переходить из меромиктического состояния в голомиктическое.

Анализ профилей позволяет выявить следующую закономерность: концентрации (пики) всех каротиноидов повышенные И окенона, наблюдаются в слоях на глубинах 125 мм, 375 мм, 1050-1060 мм, 1840-1850 мм и 2030-2040 мм (Рис. 7.15, 7.16), расположенных непосредственно над светлыми карбонатными слоями, содержащими малое количество каротиноидов (Рис. 7.16). Геохимический анализ донных отложений (Kalugin et al., 2013), и расчеты процессов равновесного минералообразования (Третьяков и др., 2012), свидетельствуют, что «белые» карбонатные слои соответствуют периодам повышенного отложения карбонатов, т.е. периодам усыхания озера (Kalugin et al., 2013). Данный вывод подтверждается и совпадением первого «белого» слоя с минимумом уровня озера за известный период (п.7.7.3). На Рис. 7.3, 7.4 показаны периодически встречающиеся «белые» слои в керне длиной 150 см (2009 г.). Исходя из выводов, полученных в п. 7.7, переходы от нижележащих карбонатных слоев к более темным предположительно соответствуют периодам повышения уровня озера. Анализ современной вертикальной структуры озера Шира и концентрации пурпурных серных бактерий (Главы 2, 4), показывает, что повышение уровня озера может сопровождаться повышением устойчивости стратификации и продукции пурпурных серных бактерий. Устойчивая стратификация. способствует лучшему кроме того, сохранению каротиноидов в донных отложениях. Следовательно, пики каротиноидов предположительно означают периоды повышений уровня озера Шира. Таким образом, данные о распределениях каротиноидов подтверждают гипотезу о происходивших в прошлом обратимых снижениях уровня озера Шира, возможно обусловленных относительно засушливыми периодами (Kalugin et al., 2013).

Для проверки высказанных гипотез требуются дальнейшие исследования с детальным анализом элементного и минералогического состава, каротиноидов, видового состава створок диатомовых водорослей, останков зоопланктона, пыльцы растений, прочих палео-индикаторов. Кроме того, для достоверной реконструкции требуется статистический анализ данных нескольких кернов. В настоящей работе задачи реконструкции лимнологического состояния озера не ставились. Однако, нами показана принципиальная возможность использования останков фототрофных серных бактерий в качестве одного из палео-индикаторов динамики уровня водоема, а следовательно – динамики влажности климата.



Рис. 7.15 – Вертикальное распредление каротиноидов, хлорофилла и органического вещества в донных отложениях озера Шира. Стыковка данных трех кернов – 280 см (июнь 2011 г), 40 см (май 2011 г) и замороженный керн (март 2013 г)



Рис.7.16 – Вертикальное распределение окенона в перекрывающихся слоях кернов донных отложений оз.Шира. **а** – фото керна длиной 40 см, **б** – составное фото (панорама) керна 280 см. Стрелками показано соответствие пиков окенона границам «карбонатных» слоев

7.9 Основные результаты и выводы Главы 7

- 1. В донных отложениях озера Шира выявлены годичные слои (варвы), И проведена ИХ точная датировка С помощью сопоставления данных радиоизотопных анализов с данными визуального подсчета и высокоразрешающего элементного анализа. Точность датировки была обеспечена применением замораживания донных отложений *in situ* с сохранением верхних полужидких слоев.
- 2. На основе анализа распределения каротиноида окенона показано, что на протяжении последних около 4500 лет пурпурные бактерии существовали в озере Шира не всегда. Следовательно, сероводород не всегда присутствовал в фотической зоне данного озера. Неоднородное распределение окенона указывает на изменения условий существования данных бактерий в озере.
- 3. На основе сопоставления распределений фотосинтетических пигментов, органического вещества и редокс-чувствительных элементов в донных отложениях с динамикой уровня показано, что в период сильного снижения уровня (1910-1920-е гг.) в придонной части озера Шира условия были более окислительными, т.е. озеро могло переходить в голомиктический режим.
- 4. Показано, что в период 1950-1960-х гг. условия для продукции и/или сохранения органики были наиболее благоприятными, что свидетельствует о наиболее устойчивой стратификации (меромиксии) озера в тот период. Следовательно, резкий подъем уровня озера может способствовать усилению его меромиктических свойств.

5. Вышеперечисленные результаты позволяют предположить, что в донных отложениях участки с повышенным содержанием окенона соответствуют периодам повышения уровня озера. Данный вывод может быть использован для реконструкции климатическиобусловленных изменений уровня озера.

7.10 Заключение к Главе 7

В данной Главе описаны результаты первого палеолимнологического исследования озера Шира. Задача палео-лимнологических реконструкций является существенно «обратной», т.е. по отклику характеристик донных отложений восстанавливается характер изменений в экосистеме водоема, и в конечном итоге – характер климатического воздействия на экосистему. Однако для достоверной реконструкции необходимо сначала решить «прямую» задачу: выяснить, как изменения в экосистеме озера отражаются на составе донных отложений. Очевидно, что решение сформулированной выше «прямой» задачи возможно только с помощью сопоставления современных документированных данных о климате и состоянии экосистемы с составом слоев донных отложений соответствующего возраста, т.е. «молодых» слоев. Решение именно такого рода «прямых» задач для отдельно взятых озер является редкостью в палеолимнологии. Именно такое исследование и проведено в настоящей работе: нами были сопоставлены неоднородности вертикального распределения каротиноидов с динамикой уровня озера за последние около 100 лет. При этом использование полученных в ходе данной работы знаний об экологии пурпурных серных бактерий и закономерностях стратификации озера позволило выдвинуть гипотезу о связи пиков окенона с периодами подъема уровня озера. Данная гипотеза может быть справедливой и для других соленых меромиктических озер, расположенных в аридном климате, и подверженных климатическиобусловленным колебаниям уровня воды, однако нам неизвестны аналогичные выводы из опубликованных в литературе исследований.

Необходимым условием для корректных выводов в палеолимнологии является точная датировка. В настоящей работе датировка верхних слоев выполнена максимально точно благодаря применению наиболее адекватного метода отбора – намораживания *in situ* на дне.

Кроме детальных выводов относительно связи уровня воды с режимом стратификации и продукцией ПСБ, в целом можно утверждать, что в настоящей работе впервые выявлен потенциал озера Шира как объекта для будущих палео-климатических реконструкций. В этом направлении нами уже получены первые результаты. В частности, проанализирован споровопыльцевой спектр в донных отложениях озера Шира за последние около 1300 лет и показано, что видовой состав пыльцы и спор свидетельствует о наличии тенденции к аридизации климата в данном регионе (Вершинин, Рогозин, 2014). Кроме того, проанализирован видовой состав створок диатомовых водорослей в верхних слоях донных отложений возрастом до 400 лет, и показано, что в отложениях XVII-го века видовой состав отличается от современного (Болобанщикова и др.. 2015. В печати).

выводы

- 1. B 2002-2013 Шира Шунет период $\Gamma\Gamma$ озера И являлись меромиктическими водоемами. Ежегодные процессы образования и таяния льда являлись основным механизмом формирования градиента солености в миксолимнионе этих озер в исследуемый период. Подъем уровня воды в течение последних десятилетий является причиной возникновения меромиксии. Следовательно, по общепринятой классификации Хатчинсона озера относятся к эктогенному типу меромиктических озер.
- 2. Вертикальные распределения температуры и солености в озере Шира, а глубина миксолимниона зависят метеорологических также ОТ факторов, И могут быть описаны с помощью одномерной математической модели на основе уравнений турбулентной диффузии в сочетании с расчетами динамики ледового покрова.
- 3. В редокс-зонах зонах озер Шира и Шунет популяции пурпурных серных бактерий стратифицированы в виде слоев повышенной численности в интервале глубин порядка нескольких сантиметров. В озере Шунет существуют скопления зеленых серных бактерий, преимущественно расположенные ниже слоя пурпурных серных бактерий. Вид Thiocapsa sp. Shira 1 (Chromatiaceae), являлся хемоклине обоих доминирующим В озер В летнее время. Стратификация пурпурных и зеленых серных бактерий в озерах Шира и Шунет является типичной для меромиктических озер.
- 4. Озеро Шунет является уникальным объектом с рекордной концентрацией пурпурных серных бактерий в зоне хемоклина. Причинами этого явления является сильный градиент солености в

сочетании с относительно неглубоким расположением редокс-зоны. Вышеуказанное сочетание обусловливает высокую освещенность, высокую температуру, устойчивое положение редокс-зоны, высокую концентрацию сероводорода, низкую скорость оседания. Все эти факторы приводят к накоплению пурпурных серных бактерий в виде тонкого слоя с аномально высокой численностью.

- 5. В оз. Шира низкая численность и отсутствие выраженной сезонной периодичности пурпурных серных бактерий обусловлены малой амплитудой колебаний температуры и света в редокс-зоне. В глубоко расположенной редокс-зоне озера Шира интенсивность света в подледный период может быть сравнима с летними значениями из-за повышения прозрачности миксолимниона и отсутствия снегового покрова. Мониторинг динамики снегового покрова для оз.Шира возможен с помощью оценки коэффициента отражения солнечной радиации, полученного по спутниковым снимкам.
- В хемоклине оз. Шунет, в отличие от оз. Шира, четко выражена сезонная периодичность численности пурпурных серных бактерий, что обусловлено неглубоким расположением редокс-зоны, и как следствие
 – значительными сезонными колебаниями температуры и света.
- 7. В обоих водоемах доля фотосинтеза фототрофных серных бактерий не превышает 7%, следовательно, основную роль в первичной продукции органики играет оксигенный фотосинтез фитопланктона В миксолимнионе. В редокс-зонах обоих озер наблюдаются повышенные скорости ассимиляции неорганического углерода и сульфатредукции, существовании что свидетельствует 0 активного микробного круговорота серы и углерода в этой зоне.

- 8. Доказана теорема о «квантовании» суммы коэффициентов чувствительности в модели хемостата с произвольными функциями удельных скоростей роста. Сумма коэффициентов чувствительности равна разности числа плотностно-зависимых контролирующих рост факторов и числа видов. Данное соотношение справедливо при любых непрерывно-дифференцируемых функциях удельных скоростей роста. На основе принципа аутостабилизации показано, что свет является плотностно-зависимым фактором в популяциях фототрофных серных бактерий в редокс-зонах меромиктических водоемов.
- 9. Ha основе распределения каротиноида анализа окенона В датированных отложениях донных показано, ЧТО В прошлом пурпурные серные бактерии существовали в озере Шира не всегда, что указывает на непостоянное присутствие сероводорода в фотической зоне данного озера. Неоднородное распределение окенона указывает на изменения условий существования данных бактерий в озере.
- 10. На основе сопоставления состава донных отложений с динамикой уровня озера Шира показано, что в период сильного снижения уровня (1910-1920-е гг.) В придонной условия были части озера окислительными, т.е. озеро могло переходить в голомиктический режим. После подъема уровня озера, в период 1950-1960-х гг. условия существования пурпурных серных бактерий были более благоприятными, чем в настоящее время, что свидетельствует об устойчивой меромиксии озера в тот период.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Количественное описание динамики биомассы конкретной группы микроорганизмов в природной экосистеме является чрезвычайно сложной и в большинстве случаев нерешенной задачей, поскольку полный список факторов, влияющих на рост и смертность микроорганизмов в природном водоеме, остается неизвестным. Однако, фототрофные серные бактерии являются специфической группой, обитающей в достаточно «узкой», «экзотической» нише, в значительной степени определяемой физическими процессами в водной толще. Именно по этой причине прогноз циркуляции водных масс является ключевой задачей при прогнозе динамики биомассы этой группы бактерий. В настоящей работе количественно описан характер циркуляции водной толщи в исследуемых меромиктических озерах, и показана ее зависимость от метеорологических факторов, а также выявлен и смоделирован механизм формирования вертикальной неоднородности за счет процессов образования льда. Полученные количественные закономерности являются основой для прогнозных расчетов динамики биомасс планктонных популяций и качества воды в глубоких замерзающих соленых водоемах.

Впервые проведена классификация исследованных водоемов по механизму формирования перманентной стратификации, а также на основе сравнения с литературными данными показана географическая и климатическая обусловленность возникновения этой стратификации.

В нашей работе описаны и частично объяснены общие закономерности пространственно-временной динамики фототрофных серных бактерий, и на основе сравнения выявлена их связь с особенностями стратификации водной толщи в озерах Шира и Шунет (Южная Сибирь, Хакасия).

Полученные результаты являются как теоретическим вкладом в область экологии водных микроорганизмов, так и имеют практическую ценность для прогноза качества воды в рекреационном и бальнеологическом водоеме, каким является озеро Шира. В частности, применительно к исследованным экосистемам, показано, что подледный период не является принципиально «мертвым» сезоном для глубинных популяций фототрофных серных бактерий, и это объясняет отсутствие выраженной сезонной динамики этих популяций в глубоком меромиктическом озере. Поскольку в замерзающих водоемах, расположенных в умеренном климате, ледовый покров присутствует практически половину времени, необходимо учитывать этот факт при прогнозном моделировании. Показанная в работе возможность дистанционного наблюдения за характером снегового покрова в сочетании с биомассы популяций фототрофных бактерий выявленной связью ОТ обусловливают характера снега, возможность применения льда И дистанционного метода для мониторинга продукционных характеристик фототрофного звена в глубоких замерзающих водоемах.

Следует отметить, что полученный в работе массив первичных натурных данных является не только основой для сделанных выводов, но и представляет собой ценность для дальнейших исследований. В частности, создание прогнозных моделей в настоящее время находится на начальном этапе, развиваются методы математического описания динамики гидрофизических и биологических компонентов водных экосистем. Данные многолетнего мониторинга вертикальной структуры озер, приведенные в работе, в дальнейшем будут полезны для верификации этих моделей.

Результаты работы являются вкладом и в теоретическую биологию, а также могут быть полезны в области биотехнологии. А именно - доказанная теорема о независимости «эффекта квантования» от вида функций удельных скоростей роста в модели хемостата (теорема) существенно усиливает справедливость применения метода поиска контролирующих факторов с помощью экспериментального анализа чувствительности.

Результаты работы актуальны не только для решения задачи прогнозного моделирования, но и для осуществления реконструкции истории климата Земли. В частности, в работе положено начало палеолимнологической реконструкции динамики озер Минусинской котловины,

378

тем самым открыта возможность для пополнения мирового массива знаний о климате голоцена новыми данными о ранее практически неизученном в этом отношении регионе Южной Сибири. Впервые для данного региона нами показана возможность использования фототрофных серных бактерий в качестве индикаторов для палеолимнологических реконструкций по донным отложениям стратифицированных водоемов. Для дальнейшего развития этого направления необходим детальный анализ биохимических останков, включая анализ захороненных остатков ДНК. Для надежных требуется сопоставление большего палеореконструкций как можно количества независимых палео-индикаторов, как биологического происхождения, так и геохимических, захороненных в донных отложениях. В частности, раковин диатомовых водорослей, останков зоопланктона и зообентоса, пыльцы наземных и водных растений, геохимического состава и т.д. В ЭТОМ направлении В настояшее время ведутся комплексные мультидисиплинарные исследования, начало которым положено в рамках данной работы.

Таким образом, основная цель работы, сформулированная в начале исследования, достигнута. Решена научная проблема, имеющая важное хозяйственное социально-экономическое И значение. A именно исследованы закономерности развития плотностной стратификации и ее связи с условиями развития фототрофных серных бактерий в уникальных соленых бальнеологических озерах Хакасии. Совокупность выводов и положений может рассматриваться как вклад в лимнологию и экологию водных микроорганизмов на уровне конкретных водоемов, обладающих рекреационной значимостью, а также как фундамент нового направления – количественной палео-реконструкции динамики уровня стратифицированных водоемов с использованием математических моделей вертикальной структуры.

379

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Адамович В.В., Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г. Развитие теории поиска плотностных контролирующих рост факторов в микробных популяциях // Докл. АН. 2003. Т.390. № 3. С. 416-419.
- Адамович В.В., Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г. Поиск критерия регулирования в непрерывной культуре микроорганизмов // Микробиология. 2005. Т. 74. № 1. С. 5-16.
- 3. Адамович В.А., Терсков И.А., Дегерменджи А.Г. Эффект аутостабилизации контролирующих рост факторов и взаимодействия в сообществе //Доклады АН СССР.1987. Т.235. № 5. С.1236-1239.
- 4. Белолипецкий В.М., Генова С.Н. Численное моделирование годовой динамики вертикальной структуры соленого озера // Вычислительные технологии. 2008. Т. 13. № 4. С. 34-43.
- 5. Белолипецкий В.М., Генова С.Н., Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г. Численное моделирование годовой динамики вертикальных распределений температуры и солености воды в озере Шира с учетом водной поверхности / Материалы изменения уровня третьей всероссийской конференции с международным участием «Фундаментальные проблемы воды и водных ресурсов». 24-28 августа 2010, г. Барнаул. С. 22-24.
- Белолипецкий В.М., Генова С.Н., Дегерменджи А.Г., Рогозин Д.Ю. Модифицированная одномерная модель для исследования сезонных изменений вертикальной структуры соленого озера /Материалы международной конференции «Математические и информационные технологии МИТ-2011», г. Врнячка Баня - г. Будва, Сербия – Черногория, 27 августа – 5 сентября 2011. С. 64-65.
- Белолипецкий В.М., Генова С.Н., Дегерменджи А.Г., Рогозин Д.Ю. Модифицированная одномерная модель для исследования сезонных изменений вертикальной структуры соленого озера /Сборник

материалов конференции Zbornik Radova Konferencije MIT 2011, Белград, Сербия, 2012. С. 43-48.

- Белолипецкий В.М., Генова С.Н., Дегерменджи А.Г., Рогозин Д.Ю. Многолетняя динамика вертикальной термохалинной структуры озера Шира /Тезисы докладов Международной научной конференции «Методы создания, исследования и идентификации математических моделей», посвященной 85-летию со дня рождения академика А.С. Алексеева, 10-13 октября 2013 г., Новосибирск. С. 19.
- 9. Болобанщикова Г.Н., Рогозин Д.Ю., Фирсова А.Д., Родионова Е.В., Дегерменджи Н.Н., Шабанов А.В. Анализ диатомовых водорослей водной толщи и донных отложений озера Шира (Хакасия, Россия) // Сибирский экологический журнал. 2015. № 2. В печати.
- Большаков А.М., Егоров А.В. Об использовании методики фазоворавновесной дегазации при газометрических исследованиях // Океанология. 1987. Т.27. Вып. 5. С. 861-862.
- Вершинин К.Е., Рогозин Д.Ю. 1300–летняя динамика растительного покрова котловины озера Шира (Сибирь, Хакасия), реконструированная по донным отложениям // Доклады АН. Общая биология. 2014. Т. 457, № 6, С. 732-735.
- Волков И.И., Жабина Н.Н. Метод определения восстановленных соединений серы в морской воде // Океанология. 1990. Т.30. № 5. С. 778-782.
- Галимов Э.М. Природа биологического фракционирования изотопов.
 М.: Наука. 1981. 247 С.
- 14. Гальченко В.Ф. Метанотрофные бактерии водных экосистем: дисс....д-ра биол. наук. М.: 1989 381 с.
- 15. Гальченко В.Ф. Сульфатредукция, метанообразование и метаноокисление в различных водоемах оазиса Бангер Хиллс, Антарктида // Микробиология. 1994. Т.63. №4. С. 683-698.

- Гладышев М.И. Основы экологической биофизики водных систем.
 Новосибирск: Наука, 1999. 113 с.
- 17. Горбунов М.Ю., Уманская М.В. Аноксигенные фототрофные бактерии в водоемах особо охраняемых территорий Самарской области. В кн. Экологические проблемы заповедных территорий России /под ред. д.б.н. Саксонова С.В.– Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. С. 136-144.
- Гусева Н.В., Копылова Ю.Г., Хващевская А.А., Сметанина И.В. Химический состав соленых озер Северо-Минусинской котловины, Хакасия // Известия Томского политехнического университета. 2012. Т. 321, № 1. С. 163-168.
- 19. Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Экология водных микроорганизмов. М.: Наука, 1977. 287 с.
- 20. Дарьин А.В., Калугин И.А., Ракшун Я.В. Сканирующий рентгеноспектральный микроанализ образцов донных осадков с использованием синхротронного излучения из накопителя ВЭПП-3 ИЯФ СО РАН // Известия РАН. Серия физическая. 2013. Т. 77.№2. с. 204-206.
- 21. Дегерменджи А.Г., Печуркин Н.С., Шкидченко А.Н. Аутостабилизация факторов, контролирующих рост в биологических системах. Новосибирск: Наука, 1979. 139 с.
- 22. Дегерменджи А.Г. Проблема сосуществования взаимодействующих проточных популяций. В кн. Смешанные проточные культуры микроорганизмов/ под ред. Печуркина Н.С. с.26-106. Новосибирск: Наука. 1981. – 200 с.
- 23. Дегерменджи А.Г., Адамович В.В., Рогозин Д.Ю. Экспериментальная апробация метода поиска плотностных контролирующих рост факторов в микробных популяциях // Докл. АН. 1999. Т. 366. № 3. С. 425-427.

- 24. Дегерменджи А.Г., Гаевский Н.А., Белоног Н.П., Иванова Е.А., Рогозин Д.Ю., Колташев А.А., Грибалев Е.С. Изучение физикохимических и биологических характеристик двух бальнеологических озер (Матарак, Шунет, Республика Хакасия) // Вестник Красноярского государственного университета. 2003. Т.5. С. 107-115.
- 25. Дегерменджи А.Г., Рогозин Д.Ю. Общее описание меромиктических озер Юга Сибири. В кн. : Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные проблемы и биоинженерные приложения / под редакцией В.В. Власова, А.Г. Дегерменджи, Н.А. Колчанова, В.Н. Пармона и В.Е. Репина. стр. 102-104, Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010. 473 с.
- 26. Есиков А.Д. Масс-спектрометрический анализ природных вод. М.: Наука, 1980. 204 С.
- 27. Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии. 2004. М.: Наука, 348 с.
- 28. Заворуев В.В., Зотина Т.А. Доминирование Lyngbya contorta Lemm и фотосинтетическая активность фитопланктона в солоноватом меромиктическом озере Шира // Гидробиологический журнал. 2002. Т.38. № 2. С. 7-17.
- 29. Заворуев В.В. Современное экологическое состояние озер Шира и Белё /Фундаментальные проблемы воды и водных ресурсов на рубеже третьего тысячелетия. Томск: Изд-во НТЛ. 2010. С. 109-113.
- 30. Зыков В.В., Рогозин Д.Ю., Калугин И.А., Дарьин А.В., Дегерменджи А.Г. Каротиноиды в донных отложениях меромиктического озера Шира (Россия, Хакасия) как палео-индикатор для реконструкции состояний озера // Сибирский экологический журнал. 2012. № 4. С. 585-595.

- 31. Зыков В.В. Сезонная динамика фототрофных серных бактерий и их роль как палео-индикатора наличия сероводорода в меромиктических озерах Хакасии. Дисс..... канд. биол наук. Красноярск: 2012 - 146 с.
- Иванов М.В., Леин А.Ю., Карначук О.В. Новые доказательства биогенной природы H₂S в Черном море // Геохимия. 1992. № 8. С. 1186-1194.
- 33. Иванов М.В., Русанов И.И., Пименов Н.В., Байрамов И.Т., Юсупов С.К., Саввичев А.С., Леин А.Ю., Сапожников В.В. Микробные процессы цикла углерода и серы в озере Могильном // Микробиология. 2001. Т.70. №5. С. 675-686.
- 34. Каллистова, А.Ю., М.В. Кевбрина, Н.В. Пименов, И.И. Русанов, Д.Ю. Рогозин, Б. Верли, А.Н. Ножевникова. Сульфатредукция и метаногенез в меромиктических озерах Шира и Шунет (Хакасия) // Микробиология. 2006. Т. 75. № 6. С. 828 -835.
- 35. Карпов С.А. Строение клетки протистов. СПб.: ТЕССА, 2001. 383 с.
- 36. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 323 с.
- 37. Киселев И.А. Пирофитовые водоросли // Определитель пресноводных водорослей СССР, вып.16. М.: Советская наука, 1954. 212 с.
- Клейтон Р. Фотосинтез. Физические механизмы и химические модели.
 М.: Мир, 1984.
- 39. Колмаков В.И., Гаевский Н.А., Гольд В.М. и др. Изучение фитопланктона озера Шира. Красноярск, Красноярский гос. университет, 1993. 20 с. Деп. в ВИНИТИ 26.10.93, № 2669-В93.
- 40. Кондратьева Е.Н. Фотосинтезирующие бактерии. М.: Наука, 1963. 315 с.
- 41. Краснова Е.Д., Пантюлин А.Н. Кисло-сладкие озера, полные чудес // Природа. 2013. №2, с. 39-48.
- 42. Кривошеев А. С., Хасанов А. П. Лечебные озера Красноярского края. Красноярск: Кн. изд-во. 1990. – 190 с.

- 43. Кузнецов С.И., Саралов А.И., Назина Т.Н. Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. М.: Наука, 1985. 213 с.
- 44. Кузнецов С.И. Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность. Ленинград: Наука, 1970. - 440 с.
- 45. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М.: Наука, 1989. 288 с.
- 46. Кусковский В. С., Кривошеев А. С. Минеральные озера Сибири. Новосибирск: Наука СО. 1989. - 190 с.
- 47. Лунина О.Н., Брянцева И.А., Акимов В.Н., Русанов И.И., Рогозин Д.Ю., Баринова Е.А., Пименов Н.В. Сезонные изменения структуры сообщества аноксигенных фототрофных бактерий озера Шунет (Хакасия) //Микробиология. 2007а. Т. 76. № 3. С. 416-428.
- 48. Лунина, О.Н., Брянцева И.А., В.Н. Акимов, И.И. Русанов, Е.А. Баринова, А.М. Лысенко, Д.Ю. Рогозин, Н.В. Пименов. Сообщество аноксигенных фототрофных бактерий озера Шира (Хакасия) // Микробиология, 20076, т. 76, № 4. С. 533-544.
- 49. Лях С.П. Адаптация микроорганизмов к низким температурам. М.: Наука. 1979. 160 с.
- 50. Малахов А.М., Скорняков В.А., Цыцырин Г.В. Гидроминеральные ресурсы курорта «Озеро Шира». Материалы по изучению лечебных грязей, грязевых озер и месторождений. М.: Центральный НИИ курортологии и физиотерапии, 1963.-С.51-151.
- 51. Одум Ю. Основы экологии. М.: Мир. 1975. 741 с.
- 52. Определитель бактерий Берджи / Под. ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли и С. Уильямса. М., Мир. 1997. 799 с.
- Бечуркин Н.С. Популяционная микробиология. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1978. - 278 с.

- 54. Печуркин Н.С., Брильков А.В., Марченкова Т.В. Популяционные аспекты биотехнологии. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1990. 173 с.
- 55. Попова Т.Г. К познанию альгофлоры водоемов Северной Хакасии // Известия Западно – Сибирского филиала Академии наук СССР. Серия биологическая. 1946. № 1. С 51-72.
- 56. Природные воды Ширинского района Республики Хакасия / Под редакцией Парначева В.П. Томск: изд-во Томского университета, 2003. 183 с.
- 57. Природный комплекс и биоразнообразие участка «Озеро Шира» заповедника «Хакасский»/ под редакцией В.В. Непомнящего., Абакан: Хакасское книжное издательство, 2011. - 420 с.
- 58. Прокопкин И.Г., Дегерменджи А.Г., Рогозин Д.Ю. Новая одномерная вертикальная модель меромиктического соленого озера Шира (Россия, Хакасия): принципы, уравнения, модельные расчеты. В кн. : Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные проблемы и биоинженерные приложения / под редакцией В.В. Власова, А.Г. Дегерменджи, Н.А. Колчанова, В.Н. Пармона и В.Е. Репина. стр. 150-162, Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010. 473 с.
- 59. Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г. Теория поиска плотностных биохимических факторов поддержания биоразнообразия в микробных сообществах.// Докл. АН. 1995. Т.345. № 1.С.127-129.
- 60. Рогозин Д.Ю. Теоретические основы поиска плотностно-зависимых факторов в микробных сообществах. Дисс....канд. физ.-мат. наук. Красноярск. Институт биофизики СО РАН. - 1998. - 112 с.
- 61. Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г., Адамович В.В. Теория динамики и микроэволюции плотностно-зависимых факторов в микробном сообществе // Докл. АН. 1998. Т. 359. № 2. С. 284-286.

- 62. Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г., Адамович В.В. Эффект «квантования» коэффициентов чувствительности плотностнозависимых факторов, контролирующих рост микробных сообществ// Докл. АН. 1999. Т. 365. № 3. С. 428 429.
- 63. Рогозин Д.Ю., Толомеев А.П. Стратификационный батометр высокого разрешения с гидравлическим управлением. Патент Российской Федерации на изобретение № 2244282. Приоритет от 25 марта 2003 г. Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 10 января 2005 г.
- 64. Рогозин Д.Ю., Пименов Н.В., Косолапов Д.Б., Чаньковская Ю.В., Дегерменджи А.Г. Тонкослойные вертикальные распределения пурпурных серных бактерий в зонах хемоклина меромиктических озер Шира и Шунет (Хакасия) // Доклады АН. 2005. Т. 400. № 3. С. 426-429.
- 65. Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г. Меромиктические озера как пример экосистем, в которых пространственная гетерогенность в значительной степени определяет биоразнообразие. В кн.: Биоразнообразие и динамика экосистем: информационные технологии и моделирование. Интеграционные проекты СО РАН, вып. 5, 2006, стр. 436-441, Изд-во СО РАН, Новосибирск.- 633 с.
- 66. Рогозин Д.Ю., Гаевский Н.А., Зыков В.В., Дегерменджи А.Г. Применение флуоресцентного метода к мониторингу пространственного распределения фототрофных серных бактерий в меромиктических водоемах /Материалы научной конференции «Современное состояние водных биоресурсов», посвященной 70летию С.М. Коновалова. Владивосток, ТИНРО-центр. С. 629-632.
- 67. Рогозин Д.Ю., Зыков В.В., Чернецкий М.Ю., Дегерменджи А.Г. Аноксигенные фототрофные бактерии меромиктических озер Южной Сибири в подледный период: пространственные распределения и экологические условия //Докл. АН. 2009.Т. 424. № 5. 712-717.

- 68. Рогозин Д.Ю., Трусова М.Ю., Хромечек Е.Б., Дегерменджи А.Г. Микробное сообщество хемоклина меромиктического озера Шунет (Хакасия, Россия) в период летней стратификации // Микробиология. 2010а. Т. 79. № 2. С. 277-285.
- 69. Рогозин Д.Ю., Трусова М.Ю., Дегерменджи А.Г. Структура и динамика микробного сообщества серного цикла в озерах Шира и Шунет. В кн. : Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные проблемы и биоинженерные приложения / под редакцией В.В. Власова, А.Г. Дегерменджи, Н.А. Колчанова, В.Н. Пармона и В.Е. Репина. стр. 104-118, Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010б. 473 с.
- 70. Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г. Скорости микробных процессов цикла серы и углерода в озерах Шира и Шунет. В кн. : Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные проблемы и биоинженерные приложения (Андреева И.С., Брянская А.В., Жмодик С.М. и др.) / под редакцией В.В. Власова, А.Г. Дегерменджи, Н.А. Колчанова, В.Н. Пармона и В.Е. Репина. – стр. 119-125, Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010в. - 473 с.
- 71. Рогозин Д.Ю., Прокопкин И.Г., Дегерменджи А.Г. Экологический прогноз динамики серного цикла в озерах Шира и Шунет с помощью математических моделей. В кн.: Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные проблемы и биоинженерные приложения / под редакцией В.В. Власова, А.Г. Дегерменджи, Н.А. Колчанова, В.Н. Пармона и В.Е. Репина. – стр. 163-167, Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010г. - 473 с.
- 72. Рогозин Д.Ю., Зыков В.В., Калугин И.А., Дарьин А.В., Дегерменджи А.Г. Каротиноиды фототрофных организмов в донных отложениях меромиктического озера Шира (Россия, Сибирь) как индикатор стратификации озера в прошлом // Докл. АН. 2011.Т. 439. № 2. С. 282-285.

- 73. Рогозин Д.Ю., Зыков В.В., Дегерменджи А.Г. Экология пурпурных серных бактерий в сильно стратифицированном меромиктическом озере Шунет (Сибирь, Хакасия) в период 2002-2009 гг. // Микробиология. 2012. Т. 81. № 6. С. 786-795.
- 74. Русанов И.И., Саввичев А.С., Юсупов С.К., Пименов Н.В., Иванов М.В. Образование экзометаболитов в процессе микробного окисления метана в морских экосистемах // Микробиология. 1998. Т. 67. № 5. С. 710-717.
- 75. Саввичев, А.С., И.И. Русанов, Д.Ю. Рогозин, Е. Е. Захарова, О. Н. Лунина, С. К. Юсупов, Н.В. Пименов, А.Г. Дегерменджи, М.В. Иванов. Микробиологические и биогеохимические исследования озер Шира и Шунет (Хакасия) в зимний сезон // Микробиология. 2005. Т. 74. № 4. С. 552-561.
- 76. Савенков И.Т. К материалам медико-топографического описания оз. Шира (с картой). Красноярск: типография Кудрявцева, 1890. - 50 с.
- 77. Свирежев Ю.М. Математические модели биологических сообществ. Итоги науки и техники // Итоги науки и техн. ВИНИТИ, сер.Математическая биология и медицина. М.: Наука, 1978. – С.117 – 165.
- 78. Сорокин Ю.И. Взаимосвязь микробиологических процессов круговорота серы и углерода в меромиктическом озере Беловодь /Труды Ин-та биологии внутренних вод АН СССР, 1966, вып. 12(15), С. 332-355.
- 79. Судольский А.С. Динамические явления в водоемах. Л.: Гидрометеоиздат, 1991. - 262 с.
- 80. Тихомиров А. И. Термика крупных озер. Л: Наука. 1982. 232 с.
- 81. Третьяков Г.А., Калугин И.А., Дарьин А.В., Рогозин Д.Ю., Дегерменджи А.Г. Физико-химические условия сезонного осаждения карбонатов в озере Шира (Хакасия) // Докл. АН. 2012. Т. 446. № 2. С. 197-200.

- 82. Уморин П.П., Лаптева Н.А. Изучение взаимоотношений фототрофных бактерий и инфузорий в экспериментальных условиях //Биология внутренних вод. 2006. № 4. С. 27-33.
- Чеботарев Е.Н. Геохимическая деятельность сульфатвосстанавливающих бактерий. Автореф. дисс. ...канд. биол. наук, М. 1975. – 26 с.
- 84. Шварцев С.Л., Копылова Ю.Г., Кусковский Е.С. и др. Экологогидрогеохимическое состояние природных вод окрестностей озера Шира. В сб. Медико-биологические и экологические проблемы курортного комплекса «Озеро Шира». 1997. Томск: ЦНТИ. С. 142-144.
- 85. Шлегель Г. Общая микробиология: М.: Мир, 1987. 567 с.
- 86. Aeschbach-Hertig W., Hofer M., Kipfer R., Imboden D.M., Wieler R. Accu-mulation of mantle gases in a permanently stratified volcanic lake (Lac Pavin,France) // Geochim. Cosmochim. Acta. 1999. 63: 3357–3372.
- 87. Amann R.I., Binder B.J., Olsen R.J., Chisholm S.W., Devereux R. and Stahl D.A. Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations // Appl. Environ. Microbiol. 1990. 56: 1919-1925.
- 88. Amann R.J., Zarda B., Stahl D.A., Schleifer K.H. Identification of individual procaryotic cells by using enzyme-labelled, ribosomal-RNAtargeted oligonucleotide probes // Appl. Environ. Microbiol. 1992. 58: 3007-3011.
- Andrews J.F. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates // Biotechnol. Bioeng. 1968.
 10: 707-723.
- 90. Bak F., Pfennig N. Microbial sulfate reduction in littoral sediments of Lake Constance // FEMS Microb.Ecol. 1991. 5: 73-79.

- 91. Baker A.L., Baker K.K., Tyler P.A. A family of pneumatically-operated thin layer samplers for replicate sampling of heterogeneous water columns // Hydrobiologia 1985. 122: 207-211.
- 92. Belolipetskii V.M., Genova S.N. Investigation of Hydrothermal and Ice Regimes in Hydropower Station Bays // International Journal of Computational Fluid Dynamics. 1998. 10: 151-158.
- 93. Belolipetskii V.M., Genova S.N., Gavrilova L.V. and Kompaniets L.A. Mathematical models and computer programmes for the investigation of hydrophysical processes in Lake Shira. Aquatic Ecology. 2002. 36: 143-152.
- 94. Belolipetskii V.M., Belolipetskii P.V., Degermendzhi A.G., Rogozin D.Yu. One-dimensional model of vertical structure of salt lake (one example of Shira Lake) / Материалы международной конференции «Математические и информационные технологии», Kosovska Mitrovica, Сербия, декабрь 2009. С. 54-62.
- 95. Biebl H., Pfennig N. Growth yields of green sulfur bacteria in mixed cultures with sulfur and sulfate reducing bacteria. Arch. Microbiol. 1978 117: 9-16.
- 96. Böhrer B., Heidenreich H., Schimmele M., Schultze M. (1998) Numerical Prognosisfor salinity profiles of future lakes in the opencast mine of Merseburg-Ost // Int.J. Salt Lake Res. 1998. 7: 235–260.
- Boehrer B, Schulze M. Stratification of lakes // Reviews of Goephysics.
 2008. 46.
- 98. Boehrer B., Kiwel U., Rahn K., Schultze M. Chemocline erosion and its conservation by freshwater introduction to meromictic salt lakes // Limnologica. 2010. 44: 81– 89.
- Bonan G. B. 1995. Sensitivity of a GCM Simulation to inclusion of Inland Water surfaces // J. Clim. 1995. 8: 2691- 2703.

- 100. Bostrom K.H., Simu K., Hagstrom A., Riemann L. Optimization of DNA extraction for quantitative marine bacterioplankton community analysis Limnol. Oceanogr.: Methods. 2004. 2: 365-373.
- 101. Brown S.R. Paleolimnological evidence from fossil pigments. Mitt.int.Ver. theor. Angew // Limnol. 1969. 17: 95-103.
- 102. Brocks J.J., Love G.D., Summons R.E., Knoll A.H., Logan G.A., Bowden S.A. Biomarker evidence for green and purple sulphur bacteria in a stratified Palaeoproterozoic sea. Nature. 2005. v. 437. Issue: 7060: 866-870.
- 103. Canfield D.E., Lyons T.W., Ralswell R.A. (1996) A model for iron deposition to euxinic Black Sea sediments // Am J Sci 1996. 296: 818-834.
- 104. Canfield D.E. Biogeochemistry of sulfur isotopes // Rev.Mineral. Geochem.2001. 43: 607-636.
- 105. Calvert S.E., Pedersen T.F. Sedimentary geochemistry of manganese: implications for the environment of formation of manganiferous black shales. Econ. Geol. 1996. 91: 36-47.
- 106. Camacho A., Erez J., Chicote A., Florin M., Squires M.M., Lehmann C., Backofen R. Microbial microstratification, inorganic carbon photoassimilation and dark carbon fixation at the chemocline of the meromictic Lake Cadagno (Switzerland) and its relevance to the food web //Aquatic Sciences 2001. 63: 91–106.
- 107. Casamayor E.O., Schäfter H., Bañeras L., Pedros-Alio C., and Muyzer G. Identification of and spatio-temporal differences between microbial assemblages from two neighboring sulfurous lakes: comparison by microscopy and denaturing gradient gel electrophoresis // Appl Eviron Microbiol. 2000. 66 (2): 499-508.
- 108. Castendyk D.N., Webster-Brown J.G. Sensitivity analyses in pit lake prediction, Martha Mine, New Zealand 1: relationship between turnover and input water density //Chem. Geol. 2007a. 244: 42–55.

- 109. Castendyk D.N., Webster-Brown J.G. Sensitivity analyses in pit lake prediction, Martha Mine, New Zealand 2: geochemistry, water-rock reactions, and surface adsorption // Chem. Geol. 2007b. 244: 56–73.
- 110. Chiu H.-H., Rogozin D.Y., Huang S.-P., Degermendzhy A.G., Shieh W.Y, Tang S.-L. *Aliidiomarina shirensis* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from Shira Lake in Khakasia, southern Siberia, and a proposal to transfer *Idiomarina maris* to the genus *Aliidiomarina* // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2014. 64: 1334–1339.
- 111. Christie W.W. Gas chromatography and lipids. A practical guide. Ayr: Scotland. The Oily Press, 1989. 230 pp.
- 112. Coolen M., Overmann J. Analysis of subfossil molecular remains of purple sulfur bacteria in a lake sediment // Appl. Environ. Microbiol. 1998. 64 (11): 4513-4521.
- 113. Coolen M.J.L., Gibson J.A.E. Ancient DNA in lake sediment records // PAGES News. 2009. 17: 104–106.
- 114. Craig S.R. The distribution and contribution of picoplankton to deep photosynthetic layers in some meromictic lakes // Acta Acad Aboensis. 1987. 47: 55-81.
- 115. Czeczuga B., Gradzki F. Relation between extracellular and cellular production in the sulfuric green bacterium *Chlorobium limicola* Nads. As compared to primary production of phytoplankton // Hydrobiologia 1973. 42: 85-95.
- 116. Dahl T.W., Anbar A.D., Gordon G.W., Rosing M.T., Frei R., Canfield D.E. The behavior of molybdenum and its isotopes across the chemocline and in the sediments of sulfidic Lake Cadagno, Switzerland // Geochim Cosmochim Acta. 2010. 74: 144-163.
- 117. Daley R.J. Experimental characterization of lacustrine chlorophyll diagenesis. II. Bacterial, viral and herbivore grazing effect // Arch. Hydrobiol. 1973. 72: 409-439.

- 118. Decker K.L.M, Potter C.S., Bebout B.M., Des Marais D.J., Carpenter S., Discipulo M., Hoehler T.M., Miller S.R., Thamdrup B., Turk K.A., Visscher P.T. Mathematical simulation of the diel O, S, and biogeochemistry of a hypersaline microbial mat // FEMS Microbiology Ecology. 2005. 52: 377-395.
- 119. Degermendzhy A.G., Adamovich V.A., Pozdiaev V.N. On the cybernetics of bacterial communities: observations, experiments and theory // J Cybernetics and Systems. 1989. 20 (6): 501-541.
- 120. Degermendzhy A.G., Belolipetsky V.M., Zotina T.A. and Gulati R.D. Formation of vertical heterogeneity in the Lake Shira ecosystem: the biological mechanisms and mathematical model // Aquatic Ecology. 2002. 36 (2):271-297.
- 121. Degermendzhy A.G., Zadereev Y.S., Rogozin D.Y., Prokopkin I.G., Barkhatov Y.V., Tolomeev A.P., Khromechek E.B., Janse J.P., Mooij W.M. and Gulati R.D. Vertical stratification of physical, chemical and biological components in two saline lakes Shira and Shunet (South Siberia, Russia) // Aquatic Ecology. 2010. 44: 619-632.
- 122. Del Don C., Hanselmann K. W., Peduzzi R., Bachofen R. The meromictic alpine Lake Cadagno: Orographical and biogeochemical description // Aquat. Sci. 2001. 63 (1): 70 – 90.
- 123. De Wit R., Van Gemerden H. Growth and metabolism of the purple sulfur bacterium *Thiocapsa roseopersicina* under combined light/dark and oxic/anoxic regimens // Arch Microbiol. 1990. 154: 459-464.
- 124. De Wit R., van den Ende F., van Gemerden H. Mathematical simulation of the interactions among cyanobacteria, purple sulfur bacteria and chemotrophic sulfur bacteria in microbial mat communities // FEMS Microbiology Ecology. 1995. 17: 117-136.
- 125. Dilling W., Cypionka H. Aerobic respiration in sulfate-reducing bacteria // FEMS Microbiol. Lett. 1990. 71: 123-128.

- 126. Dressler M., Hubener T., Gors S., Werner P., Selig U. Multi-proxy reconstruction of trophic state, hypolimnetic anoxia and phototrophic sulphur bacteria abundance in a dimictic lake in Nothern Germany over past 80 years // J Paleolimnol. 2007. 37: 205-219.
- 127. Droop M.R. Some thoughts on nutrient limitation in algae // J. Phycol. 1973.9: 264-271.
- 128. Duval B., Ludlam S.D. The Black Water Chemocline of Meromictic Lower Mystic Lake Massachusetts, U.S.A. // Internat. Rev. Hydrobiol. 2001. 86 (2): 165-181.
- 129. Eichler B., Pfennig N. A new purple sulfur bacterium from stratified freshwater lakes, *Amoebobacter purpureus* sp. nov. // Arch. Microbiol. 1988. 149: 395-400.
- 130. Fang, X. and Stefan, H. G. Long-term lake water temperature and ice cover simulations/measurements // Cold Reg. Sci. Technol. 1996. 24: 289-304.
- 131. Fenchel T., Kristensen L.D., Rasmussen L. Water column anoxia: vertical zonation of planktonic protozoa // Mar Ecol Prog Ser 1990. 62:1-10.
- 132. Flannery M.S., Snodgrass R.D., Whitmore N. Deepwater sediments and trophic conditions in Florida lakes // Hydrobiol. 1982. 92: 597-602.
- 133. Frostl J., Overmann J. Physiology and tactic response of the phototrophic consortium "*Chlorochromatium aggregatum*" // Arch Microbiol. 1998. 169: 129-135.
- 134. Furlong E.T., Carpenter R. Pigment preservation and remineralization in oxic coastal marine sediments // Geochim. Cosmochim. Acta. 1988. 52: 87-99.
- 135. Gaevsky N. A., Zotina T. A., Gorbaneva T. B. Vertical structure and photosynthetic activity of Lake Shira phytoplankton // Aquatic Ecology. 2002. 36 (2): 165-178.
- 136. Garcia-Gil L.J., Borrego C.M., Bafieras L., Abella C.A. Dynamics of phototrophic microbial populations in the chemocline of a meromictic basin in Lake Banyoles // Int Rev Ges Hydrobiol 1993. 178: 283–294.

- 137. Gasol J.M, Guerrero. R., Pedrós-EAlió C. Spatial and temporal dynamics of a metalimnetic *Cryptomonas* peak // Journal of Plankton Research. 1992.
 14: 1565-1579.
- 138. Gause G.F. The struggle for existence. Williams and Wilkins, Baltimore.1934. 163 p.
- 139. Genova S.N., Belolipetskii V.M., Rogozin D.Y., Degermendzhy A.G. and Mooij W.M. A one-dimensional model of vertical stratification of Lake Shira focused on winter conditions and ice cover // Aquatic Ecology. 2010. 44 (3) 571-584.
- 140. Gervais F. Diel vertical migration of *Cryptomonas* and *Chromatium* in the deep chlorophyll maximum of a eutrophic lake // J Plankton Res 1997. 19: 533–550.
- 141. Gervais F. Ecology of cryptophytes coexisting near a freshwater chemocline // Freshw Biol. 1998. 39: 61–78.
- 142. Gibson J.A.E. The meromictic lakes and stratified marine basins of the Vestfold Hills, East Antarctica // Antarctic Science. 1999. 11: 175-192.
- 143. Glaeser J., Overmann J. Characterization and *in situ* carbon metabolism of phototrophic consortia // Applied and Environmental Microbiology. 2003.
 69 (7): 3739-3750.
- 144. Goodwin T.W. The biochemistry of the carotenoids. V.I Plants. Chapman and Hall, London, 1980. New York. 377 pp.
- 145. Gorham E., Lund W.G., Sanger J.E., Dean J. Some relationships between algal standing crop, water chemistry, and sediment chemistry in the English Lakes // Limnol. Oceanogr. 1974. 19: 601-617.
- 146. Goudsmit G.-H., Burchard H., Peeters F., Wuest A. Application of k-ε turbulence models to enclosed basins: the role of internal seiches // J. Geophys. Res. 2002. 107: 3230-3243.
- 147. Grachev M.A., Likhoshwai E.V., Vorobyova S.S., Khlystov O.M., Bezrukova E.V., Veinberg E.V., Goldberg E.L., Granina L.Z., Kornakova E.G., Lazo F.I., Levina O.V., Letunova P.P., Otino P.V., Pirog V.V.,
Fedotov A.P., Iaskevich S.A., Bobrov V.A., Sukhorukov F.V., Rezchikov V.I., Fedorin M.A., Zolotarev K.V., Kravchinsky V.A. Signals of the paleoclimates of upper Pleistocene in the sediments of Lake Baikal // Russ Geol Geophys. 1997. 38: 957–980.

- 148. Grung M., Metzger P., Liaaen-Jensen S. Primary and secondary carotenoids in two races of the green alga Botryococcus braunii // Biochem. System. Ecol. 1989. 17: 263-269.
- 149. Guerrero R., Mas-Castella J. The problem of Excess and/or Limitation of the Habitat Conditions: Do Natural Assemblages Exist? / In: Molecular Ecology of Aquatic Microbes. Ed. Ian Joint, NATO ASI Series, Series G: Ecological Sciences. 1995. 38. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. – pp. 415.
- 150. Gugliandolo C., Lentini V., Maugeri T. Distribution and Diversity of Bacteria in a Saline Meromictic Lake as Determined by PCR-DGGE of 16S rRNA Gene Fragments // Current Microbiology. 2011. 62: 159-166.
- 151. Guhl B., Finlay B., Schink B. Comparison of ciliate communities in the anoxic hypolimnia of three lakes: general features and the influence of lake characteristics // J Plankton Res 1996. 18: 335–353.
- 152. Hakala A. Meromixis as a part of lake evolution observations and a revised classification of true meromictic lakes in Finland // Boreal Environ. Res. 2004. 9(1): 37–53.
- 153. Hakanson L., Jansson M. Principles of Lake Sedimentology. The Blackburn Press. Caldwell, New Jersey, USA, 1983. 316 pp.
- 154. Halbwachs M., Sabroux J.-C., Grangeon J., Kayser G., Touchon-Danguy J.-C., Felix A., Béard J.-C., Villevieille A., Vitter G., Richon P., Wüest A., Hell J. Degassing the "Killer Lakes" Nyos and Monoun, Cameroon // Eos Trans AGU, 2004. 85(30), 281-285.
- 155. Hall D.K., Riggs G.A., Salomonson V.V., DeGirolamo N.E., Bayr K.J., Jin J.M. MODIS Snow-cover products // Remote Sensing of Environment 2002. 83:181-194.

- 156. Hammer U. T. Life and times of five Saskatchewan saline meromictic lakes// Int. Rev. Gesamten Hydrobiol. 1994. 79: 235–248.
- 157. Hardin G. The competitive exclusion principle // Science, 1906. 131: 1292-1297.
- 158. Herbert D., Elsworth R., Telling R.C. The continuous culture of bacteria: A theoretical and experimental study // J. Gen.Microbiol. 1956. 14: 601-622.
- 159. Hodgson D., Tyler P., Vyverman W. The palaeolimnology of Lake Fidler, a meromictic lake in south-west Tasmania and the significance of recent human impact // Journal of Paleolimnology. 1996. 18: 313-333.
- 160. Holzner C.P., Aeschbach-Hertig W., Simona M., Veronesi M., Imboden D.M., Kipfer R. Exceptional mixing events in meromictic Lake Lugano (Switzerland/Italy), studied using environmental tracers // Limnol Ocenogr. 2009. 54: 1113-1124.
- 161. Hostetler S. W., Bates G. T., Giorgi F. Interactive coupling of a lake thermal model with a regional climate model // J. Geophys. Res. 1993. 98: 5045-5057.
- 162. Hurley J.P., Armstrong D.E. Fluxes and transformations of aquatic pigments in Lake Mendota, Wisconsin // Limnol. Oceanogr. 1990. 35: 384-398.
- 163. Hurley J.P., Armstrong D.E. Pigment preservation in lake sediments[^] a comparison of sedimentary environments in Trout Lake, Wisconsin // Can. J. Fish aquat. Sci. 1991. 48: 472-486.
- 164. Hutchinson G.E. A contribution to limnology of arid regions // Trans. Connecticut Acad. Arts Sci. 1937. 33: 47-132.
- 165. Hutchinson G.E. A Treatise on Limnology, vol. 1. Geography, Physics and Chemistry. John Wiley and Sons, Inc., New York; Chapman and Hall, Ltd., London. 1957 : - 1015 pp.
- 166. Hutchinson G.E. The paradox of the plankton // Am. Natur. 1961. 95: 137-144.
- 167. Ilyashuk B., Gobet E., Heiri O., Lotter A.F., Van Leeuwen J.F.N., Van der Knaap W.O., Ilyashuk E., Oberli F., Ammann B. Lateglacial environmental

and climatic changes at the Maloja Pass, Central Swiss Alps, as recorded by chironomids and pollen // Quaternary Science Reviews. 2009. 28: 1340–1353.

- 168. Imberger J., Patterson J.C. A dynamic reservoir simulation model, DYRESM: 5,. In: Fischer H. B. (Ed.). Transport models for inland and coastal waters. Academic Press. 1981: 310-361.
- 169. Imberger J., Patterson J.C. Physical limnology // Adv. Appl.Mech. 1990.27: 303-475.
- 170. Itoh N., Tani Y., Soma M. Sedimentary photosynthetic pigments of algae and phototrophic bacteria in Lake Hamana, Japan: temporal changes of anoxia in its five basins // Limnology. 2003. 4: 139-148.
- 171. Jeffrey S.W., Humfrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a,b,c in higher plants algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Pflanz. 1975. 167: 161-194.
- 172. Jorgensen B.B., Fossing H., Wirsen C.O., Jannash H.W. Sulfide oxidation in the Black Sea chemocline // Deep-Sea Res. 1991. 38: 1083-1103.
- 173. Jellison R., Melack J.M. Meromixis in hypersaline Mono Lake, California.
 1. Stratification and vertical mixing during the onset, persistence, and breakdown of meromixis // Limnol. Oceanogr. 1993. 38: 1008-1019.
- 174. Jellison R., Romero J., Melack J.M. The onset of meromixis during restoration of Mono Lake, California: unintended consequences of reducing water diversions // Limnol. Oceanogr. 1998. 43: 706–711.
- 175. Joehnk K. D., Umlauf L. Modelling the metalimnetic oxygen minimum in a medium sized alpine lake // Ecol. Model. 2001. 136: 67-80.
- 176. Jordi U., Jordi M.-C., Guerrero R. Biodegradation of Poly-β-Hydroxyalkanoates in Lake Sediment Sample Increases Bacterial Sulfate Reduction // Applied and Environmental Microbiology. 1995. 61 (5): 2046-2048.

- 177. Jorgensen B.B., Revsbech N.P. Colorless sulfur bacteria, *Beggiatoa* spp. and *Thiowulum* spp., in O₂, and H₂S microgradients. // Appl. Environ. Microbiol. 1983. 45: 1261-1270.
- 178. Kalacheva G.S., Zhila N.O., Volova T.G. Lipid and hydrocarbon compositions of collection and wild sample of the green microalga *Botryococcus //* Aquatic Ecology. 2002a. 36: 317-330.
- 179. Kalacheva G.S., Gubanov V.G., Gribovskaya I.V., Gladchenko I.A., Zinenko G.K., Savitsky S.V. Chemical analysis of Lake Shira water (1997-2000). Aquatic Ecology. 20026. 36: 123-14.
- 180. Kalacheva G.S., Volova T.G. Fatty acid composition of *Wautersia eutropha* lipids under conditions of active polyhydroxyalkanoates synthesis // Microbiology (Mikrobiologiya). 2007. 76: 608–614.
- 181. Kalugin I., Darin A., Rogozin D., Tretyakov G. Seasonal and centennial cycles of carbonate mineralisation during the past 2500 years from varved sediment in Lake Shira, South Siberia // Quaternary International. 2013. 290-291C: 245-252.
- 182. Kaplan R.A., Rittenberg S.C. Microbiological fractionation of sulfur isotopes // J.Gen. Microbiol. 1964. 34: 195-212.
- 183. Karakas G., Brookland I., Boehrer B. Physical characteristics of acidic Mining Lake 111 // Aquat. Sci. 2003. 65(3): 297–307.
- 184. Kasper T., Frenzel P., Haberzettl T., Schwarz A., Daut G., Meschner S., Wang J.B., Zhu L.P., Mausbacher R. Interplay between redox conditions and hydrological changes in sediments from Lake Nam Co (Tibetan Plateau) during the past 4000 cal BP inferred from geochemical and micropaleontological analyses // Palaeogeogrphy, Palaeoclimatology, Palaeoecology. 2013. 392: 261-271.
- 185. Kates M. Techniques of lipidology. In: Work T.S. and Work E. (Eds.), Techniques of Lipidology: Isolation, Analysis and Identification of Lipids, American Elsvier Publishing, Co., Inc. New York, 1972. – pp. 269.

- 186. Khromechek E.B., Barkhatov Y.V., Rogozin D.Y. Densities and distribution of flagellates and ciliates in the chemocline of saline, meromictic Lake Shunet (Siberia, Russia). Aquatic Ecology. 2010. 44: 497-511.
- 187. Kjensmo J. The development and some main features of "ironmeromictic" soft water lakes. Arch. Hydrobiol., 1967. 32: 137–312.
- 188. Kjensmo J. The primary production and its influence on the meromictic stability in Lake Svinsjøen // Schweiz. Z. Hydrol. 1968. 30 (2): 297–317.
- 189. Kling G.W., Clark M.A., Compton H.R., Devine J.D., Evans W.C., Humphrey A.M., Koenigsberg E.J., Lockwood J.P., Tuttle M.L., Wagner G.N. The 1986 Lake Nyos gas disaster in Cameroon, West Africa // Science. 1987. 236: 169–175.
- 190. Kopylov A.I., Kosolapov D.B., Romanenko A.V., Degermendzhy A.G. Structure of planktonic microbial food web in a brackish stratified Siberian lake // Aquatic Ecology. 2002a. 36: 179-204.
- 191. Kopylov A.I., Kosolapov D.B., Degermendzhy N.N., Zotina T., Romanenko A.V. Phytoplankton, bacterial production and protozoan bacterivory in stratified, brackish-water Lake Shira (Khakasia, Siberia) // Aquatic Ecology. 20026. 36: 179-204.
- 192. Kosolapov D.B., Rogozin D.Y., Gladchenko I.A., Kopylov A.I., Zakharova E.E. Microbial Sulfate Reduction in Brackish Meromictic Steppe Lake // Aquatic Ecology. 2003. 37 (3): 215-226.
- 193. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. Clustal W and Clustal X version 2.0 // Bioinformatics. 2007. 23: 2947-2948.
- 194. Last W.M., Slezak L.A. The salt lakes of western Canada: a paleolimnological overview // Hydrobiologia. 1988. 158: 301-316.
- 195. Last W.M., Ginn F.M. Saline systems of the Great Plains of western Canada: an overview of the limnogeology and paleolimnology //Saline systems V.1. 2005. 10: 1-38.

- 196. Last W.M., Deleqiat J., Karen Greengrass K., Sukhan S. Re-examination of the recent history of meromictic Waldsea Lake, Saskatchewan, Canada // Sedimentary Geology. 2002. 148: 147–160.
- 197. Leavitt P. R. A review of factors that regulate carotenoids and chlorophyll deposition and fossil pigment abundance // Journal of paleolimnology. 1993. 9: 109-127.
- 198. Leavitt P.R., Carpenter S.R. Aphotic pigment degradation in the hypolimnion: implications for sedimentation studies and paleolimnology // Limnol. Ocenogr. 1990. 35: 520-534.
- 199. Lelieveld J., Crutzen P.J., Dentener F.J. Changing concentration, lifetime and climate forcing of atmospheric methane // Tellus series B – chemical and physical meteorology. 1998. 50 (2): 128-150.
- 200. Leoni B., Garibaldi L., Gulati R.D. How does interannual trophic variability caused by vertical water mixing affect reproduction and population density of the Daphnia longispina group in Lake Iseo, a deep stratified lake in Italy? // Inland Waters. 2014. 4 (2): 193-203.
- 201. Mackay A.W. The paleoclimatology of Lake Baikal: A diatom synthesis and prospectus // Earth-Science Reviews. 2012. 82: 181–215.
- 202. MacIntyre S., Jellison R. Nutrient fluxes from upwelling and enhaced turbulence at the top of the pycnocline in Mono Lake, California // Hydribiologia. 2001. 466: 13-29.
- 203. Mallorqui N., Arellano J. B., Borrego C. M., Garcia-Gil L. J. Signature pigments of green sulfur bacteria in ancient sediments from the Banyoles lacustrine area // Journal of Paleolimnology. 2005. 34: 271-280.
- 204. Maresca J.J., Crowe S.A., Macalady J.L. Anaerobic photosynthetic ecosystems // Geobiology. 2012. 10: 193–195.
- 205. Manz W., Amann R., Ludwig W., Wagner M., Schleifer K.-H. Phylogenetic oligonucleotide probes for major subclasses of proteobacteria: Problems and solutions // Syst.Appl.Microbiol. 1992. 15: 593-600.

- 206. Mas J., Pedros-Alio C., Guerrero R. *In situ* specific loss and growth rates of purple sulfur bacteria in Lake Ciso // FEMS Microbiol. Ecol. 1990. 73: 271–281.
- 207. Massana R., Gasol J.M., Jurgens K., Pedros-Alio´ C. Impact of *Daphnia pulex* on a metalimnetic microbial community // J Plankton Res. 1994. 16: 1379–1399.
- 208. Max J., Fredrickson A.G. Inhibition as a factor in the maintenance of the diversity of microbial ecosystems // J Gen Microbiol. 1978. 106: 307-320.
- 209. Melack J.M., Jellison R. Limnological conditions in Mono Lake: contrasting monomixis and meromixis in the 1990s // Hydrobiol. 1998. 384: 21-39.
- 210. Mironov D. Parameterization of Lakes in Numerical Weather Prediction: Description of a Lake Model // COSMO Technical Report. 2008. 11. - 41 pp.
- 211. Monod J. The growth of bacterial cultures //Ann. Rev. Microbiol. 1949. 111: 371-394.
- 212. Montesinos E., Geurrero R., Abella C. and Esteve I. Ecology and physiology of the competition for light between Chlorobium limicola and Chlorobium phaeobacteroides in natural habitats // Appl Environ Microbiol. 1983. 46. 1007-1016.
- 213. Moreira S., Boehrer B., Schultze M., Dietz S., Samper J. Modeling geochemically caused permanent stratification in Lake Waldsee (Germany) // Aquat.Geochem. 2011. 17: 265–280.
- 214. Mori Y., Kataoka T., Okamura T., Kondo R. Dominance of green sulfur bacteria in the chemocline of the meromictic Lake Suigetsu, Japan, as revealed by dissimilatory sulfite reductase gene analysis // Archives of Microbiology. 2013. 195 (5) 303-312.
- 215. Muyzer G., Smalla K. Application of denaturing gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology // Antonie van Leeuwenhoek. 1998. 73: 127-141.

- 216. Nowaczyk N.R., Melles M., Minyuk P. A revised age model for core PG1351 from Lake El'gygytgyn, Chukotka, based on magnetic susceptibility variations tuned to northern hemisphere insolation variations // J Paleolimnol. 2007. 37: 65–76.
- 217. Nyholm N. A mathematical model for microbial growth under limitation by conservative substrates // Biotechnol. Bioeng. 1976. 18: 1043-1056.
- 218. O'Donnell S.M.; O'Donnell D.M., Owens E.M., Effler S.W., Prestigiacomo A., Baker D.M. Chemistry and stratification of Antarctic meltwater ponds I: Coastal ponds near Bratina Island, McMurdo Ice Shelf // Fundamental and Applied Limnology. 2010. 176 (1): 11-27.
- 219. Oikonomou A., Pachiadaki M., Stoeck T. Protistan grazing in a meromictic freshwater lake with anoxic bottom water // FEMS Microbiol Ecol. 2014.
 87(3): 691–703.
- 220. Overmann J., Beatty T., Hall K., Pfennig N., Northcote T. Characterization of a dense, purple sulfur bacterial layer in a meromictic salt lake // Limnol. Oceanogr. 1991. 36 (5): 846-859.
- 221. Overmann J. Mahoney Lake: A Case Study of the Ecological Significance of Phototrophic Sulfur Bacteria // Advances in Microbial Ecology. 1997. P. 251-289.
- 222. Overmann J., Pfennig N. Buoyancy regulation and aggregate formation in Amoebobacter purpureus from Mahoney Lake // FEMS Microbiol. Ecol. 1992a. 101: 67-79.
- 223. Overmann J., Pfennig N. Continuous chemotrophic growth and respiration of *Chromatiaceae* species at low oxygen concentrations //Arch Microbiol. 19926. 158: 59-67.
- 224. Overmann J., Sandmann G., Hall K.G., Northcote T. Fossil carotenoids and paleolimnology of meromictic Mahoney Lake, British Columbia, Canada // Aquatic Sciences. 1993. 55: 1015-1621.

- 225. Overmann J., Beatty J.T., Hall K.J. Photosynthetic activity and population dynamics of *Amoebobacter purpureus* in a meromictic saline lake //FEMS Microbiol Ecol. 1994. 15: 309-320.
- 226. Overmann J., Beatty T., Hall K.J. Purple sulfur bacteria control the growth of aerobic heterotrophic bacterioplankton in a meromictic salt lake // Appl. Environ. Microbiol. 1996a. 62 (9): 3251-3258.
- 227. Overmann J., Beatty J.T., Krouse H.R., Hall K.J. The sulfur cycle in the chemocline of a meromictic salt lake // Limnol. Oceanogr. 19966. 41: 147-156.
- 228. Overmann J., Coolen M.J.L., Tuschak C. Specific detection of different phylogenetic groups of chemocline bacteria based on PCR and denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rRNA gene fragments // Arch. Microbiol. 1999a. 172: 83-94.
- 229. Overmann J., Hall K.J., Northcote T.G., Beatty J.T. Grazing of the copepod *Diaptomus connexus* on purple sulphur bacteria in a meromictic salt lake // Environmental Microbiology. 19996. 1 (3): 213-221.
- 230. Overmann J., Garsia-Pichel F. The phototrophic way of life. In: The prokariotes: an evolving electronic resource for the microbiological community / Dworkin et al. (Eds.), 3rd edition, Springer, New York. 2000.
- 231. Overmann J., Manske A. Anoxygenic phototrophic bacteria in the Black Sea chemocline. In: Past and Present Water Column Anoxia. Neretin L.N. (Ed.) Springer, 2006. The Netherlands, 523-541.
- 232. Parker R.D., Lawrence J.R., Hammer U.T. A comparison of phototrophic bacteria in two adjacent saline meromictic lakes // Hydrobiologia. 1983. 105: 53-62.
- 233. Parkin T. B., Brock T. D. The effects of light quality of phototrophic bacteria in lakes // Arch. Microbiol. 1980. 125: 19-27.
- 234. Parnachev V.P., Degermendzhy A.G. Geographical, geological and hydrochemical distribution of saline lakes in Khakasia, Southern Siberia // Aquatic Ecology. 2002. 36: 107-122.

- 235. Parsons J.B., Rock C.O. Bacterial lipids: metabolism and membrane homeostasis // Prog Lipid Res. 2013. 52: 249–276.
- 236. Pedros-Alio C., Montesinos E., Guerrero R. Factors determining annual changes in bacterial photosynthetic pigments in holomictic Lake Ciso, Spain // Appl. Environ. Microbiol. 1983. 46: 999-1006.
- 237. Pedros-Alio C., Mas J., Gasol J.M., Guerrero R. Sinking speeds of freeliving phototrophic bacteria determined with covered and uncovered traps // Journal of Plankton Research. 1989. 11 (5): 887-905.
- 238. Pedrós-Alió C., Massana R., Latasa M., Garcha-Cantizano J., Gasol J.M. Predation by ciliates on a metalimnetic *Cryptomonas* population: feeding rates, impact and effects of vertical migration // J. Plankton Res. 1995. 17: 2131–2154.
- 239. Pernthaler A., Pernthaler J., Amann R. Fluorescence *in situ* hybridization and catalyzed reporter deposition for the identification of marine bacteria // Appl. Environ. Microbiol. 2002. 56: 3094-3101.
- 240. Pfennig N. Anreicherungskulturen fur rote und grune Schwefelbacterien // Zentrbl. Bact. Abt. I origin. 1965. Suppl.1.P.179-189: 503-505.
- 241. Pfennig N. General physiology and ecology of photosynthetic bacteria In: The Photosynthetic Bacteria / Clayton RK, Sistrom WR (Eds.) Plenum Press New York. 1978. pp. 3–18.
- 242. Pfennig N., Truper H. Anoxygenic phototrophic bacteria. In: Bergey's manual of systematic bacteriology/ Eds. Staley J.T. Bryant, Pfennig. N. and Holt. Baltimore: Williams and Wilkins. 1989. 3: 1635-1653.
- 243. Postgate J.R. The Sulfate-reducing Bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 1984.
- 244. Pour H.K., Duguay C.R., Martynov A., Brown L.C. Simulation of surface temperature and ice cover of large northern lakes with 1-D models: a comparison with MODIS satellite data and in situ measurements // Tellus A. 2012. 64: 17614.

- 245. Powell G. Structural instability of the theory of simple competition // J. theor. Biol. 1988. 132: 421-435.
- 246. Pringault O., de Wit R., Kuhl M. A microsensor study of the interaction between purple sulfur and green sulfur bacteria in experimental benthic gradients // Microbial Ecology. 1999. 37: 173-184.
- 247. Prokopkin I.G. Mooij W.M., Janse J.H., Degermendzhy A.G. A general onedimensional vertical ecosystem model of Lake Shira (Russia, Khakasia): description, parametrisation and analysis // Aquatic Ecology 2010. 44 (3): 585 – 618.
- 248. Prokopkin I.G., Barkhatov Y.V., Khromechek E.B. A one-dimensional model for phytoflagellate distribution in the meromictic lake // Ecological Modelling. 2014. 288: 1-8.
- 249. Rabus R., Fukui M., Wilkes H., Widdel F. Degradative capacities and 16SrRNA targeted whole-cell hybridization of sulfate-reducing bacteria in an anaerobic enrichment culture utilizing alkylbenzenes from crude oil // Appl. Environ. Microbiol. 1996. 62: 3605-3613.
- 250. Ravasi D.F., Peduzzi S., Guidi V., Peduzzi R., Wirth S.B., Gilli A., Tonolla M. Development of a real-time PCR method for the detection of fossil 16S rDNA fragments of phototrophic sulfur bacteria in the sediments of Lake Cadagno // Geobiology. 2012. 10: 196–204.
- 251. Rawson D. S., Moore J. E. The saline lakes of Saskatchewan // Can. J. Res. Sect. D. 1944. 22: 141–201.
- 252. Renberg I., Hansson H. A pump freeze corer for recent sediments // Limnol. Oceanogr. 1993. 38(6): 1317-1321.
- 253. Repeta D.J., Simpson D.J., Jorgensen B.B., Jannash H.W. Evidence for anoxygenic photosynthesis from the distribution of bacteriochlorophylls in the Black Sea // Nature. 1989. 342: 69-72.
- 254. Rodrigo M. A., Miracle M. R., Vicente E. The meromictic Lake La Cruz (central Spain), Patterns of stratification // Aquat. Sci. 2001. 63(4): 406–416.

- 255. Rogozin D.Y., Zykov V.V., Chernetsky M.Y., Degermendzhy A.G., Gulati R.D. Effect of winter conditions on distributions of anoxic phototrophic bacteria in two meromictic lakes in Siberia, Russia // Aquatic Ecology. 2009. 43 (3): 661- 672.
- 256. Rogozin D.Y., Degermendzhi A.G. Hydraulically-operated thin-layer sampler for sampling heterogeneous water columns // Journal of Siberian Federal University. 2008. 1(2): 111-117.
- 257. Rogozin D.Y., Genova S.V., Gulati R.D., Degermendzhy A.G. Some generalizations on stratification and vertical mixing in meromictic Lake Shira, Russia, in the period 2002-2009 // Aquatic Ecology. 2010. 44 (3): 485-496.
- 258. Romero J. R., Melack J.M. Sensitivity of vertical mixing in a large saline lake to variations in runoff // Limnol. Oceanogr. 1996. 41(5): 955-965.
- 259. Sanchez O., Van Gemerden H., Mas H. Description of a redox-controlled sulfidostat for the growth of sulfide-oxidizing phototrophs //Applied and Environmental Microbiology. 1996. 62: 3640-3645.
- 260. Santisteban J.I., Mediavilla R., Lopez-Pamo E., Dabrio C.J., Ruiz Zapata M.B., Gil Garcia M. J., Castano S., Martinez-Alfaro P. E. Loss on ignition: qualitative or quantitative method for organic matter and carbonate mineral content in sediments? // Journal of Paleolimnology. 2004. 32: 287-299.
- 261. Savvichev A.S., Lunina O.N., Rusanov I.I., Zakharova E.E., Veslopolova E.F., Ivanov M.V. Microbiological and isotopic geochemical investigation of Lake Kislo-Sladkoe, a meromictic water body at the Kandalaksha Bay shore (White Sea) // Microbiolology. 2014. 83 (1-2): 56-66.
- 262. Schimmele M., Herzsprung P. Limnology of sulfuracidic lignite mining lakes. I. Physical properties: Influence of dissolved substances on electrical conductivity and density // Verh. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol. 2000. 27: 251–255.
- 263. Schlesinger W.H. Biogeochemistry. Vol. 8 in: Treatise on Geochemistry. Elsevier Science. Oxford, UK. 2005.

- 264. Sigee D.C. Freshwater microbiology: Biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment. John Wiley and Sons. Atrium, England. 2005. 524 p.
- 265. Simona M. Winter and spring mixing depths affect the trophic status and composition of phytoplankton in the northern meromictic basin of Lake Lugano // J Limnol. 2003. 62:190–206
- 266. Sinninghe Damste J.S., Wakeham S.G., Kohnen M.E.L., Hayes J.M., de Leeuw J.W. 6000-year sedimentary record of chemocline excursions in the Black Sea // Nature. 1993. 362: 827-829.
- 267. Schaub B.E.M., van Gemerden H. Simultaneous phototrophic and chemotrophic growth in the purple sulfur bacterium *Thiocapsa roseopersicina* M1 // FEMS Microbiol Ecol. 1994. 13: 185-196.
- 268. Schmidt R., Psenner R., Muller J., Indinger P., Kamenik C. Impact of late glacial variations on stratification and trophic state of the meromictic lake Landsee (Austria): validation of a conceptual model by multi proxy studies // J. Limnol. 2002. 61. 1: 49-60.
- 269. Schmid M., Tietze K., Halbwachs M., Lorke A., McGinnis D., Wu^eest A. How hazardous is the gas accumulation in Lake Kivu? Arguments for a risk assessment in light of the Nyiragongo Volcano eruption of 2002 //Acta Vulcanol. 2004. 14/15: 115–122.
- 270. Smith H.L., Waltman P. The theory of the chemostat. Cambridge university press. 1995. 311 p.
- 271. Sorokin Y.I. Interrelations between sulphur and carbon turnover in meromictic lakes // Arch Hydrobiol. 1970. 66: 391-446.
- 272. Sorokin Yu.I. The Black Sea: nature and resourses // Nauka. Moscow. 1982.217 pp.
- 273. Stahl D.A., Amann R.I. Development and application of nucleic acid probes
 // Nucleic acid techniques in bacterial systematic / Eds. Stackebrandt E,
 Goodfellow M. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1991. pp. 205-248.

- 274. Stepanenko V. M., Lykosov V.N. Numerical simulation of heat and moisture transport in the "lake_soil" system // Russ. Meteorol. Hydrol. 2005. 3: 95-104.
- 275. Stepanenko V.M., Goyette S., Martynov A., Perroud M., Fang X., Mironov D. First steps of a Lake Model Intercomparison Project: LakeMIP // Boreal Environ. Res. 2010. 15: 191-202.
- 276. Stevens C.L., Lawrence G.A. The effect of sub-aqueous disposal in standing waters // J. Hydraul. Res. 1997. 35: 147–159.
- 277. Stevens C.L., Lawrence G.A. Stability and meromixis in a water-filled mine pit // Limnol. Oceanogr. 1998. 43: 946–954.
- 278. Subin Z. M., Riley W. J., Mironov D. An improved lake model for climate simulations: model structure, evaluation and sensitivity analyses in CESM1 //J. Adv. Mod. Earth Sys. 2012. 4: M02001.
- 279. Takaichi S. Carotenoids and Carotenogenesis in Anoxygenic Photosynthetic Bacteria / H. A. Frank, A. J. Young, G. Britton, R. J. Cogdell (Eds.) // The Photochemistry of Carotenoids. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1999. pp. 39-69.
- 280. Thiery W., Stepanenko V.M., Fang X., Johnk K.D., Li Z., Martynov A., Perroud M., Subin Z.M., Darchambeau F.O., Mironov D., Van Lipzig N.P.M. LakeMIP Kivu: evaluating the representation of a large, deep tropical lake by a set of one-dimensional lake models //Tellus A. 2014. 66: 21390.
- 281. Tiliander M., Karhu J.A., Kaupilla T. Holocene records of carbon and hydrogen isotope ratios of organic matter in annually laminated sediments of Lake Korttaja["] rvi, central Finland // J Paleolimnol. 2006. 36: 233–243.
- 282. Timms B. V. A meromictic lake in Australia // Limnol.Oceanogr. 1972. 17: 918-922.
- 283. Tolomeev A. P., Sushchik N. N., Gulati R. D., Makhutova O. N., Kalacheva G. S., Zotina T. A. Feeding spectra of *Arctodiaptomus salinus* (Calanoida,

Copepoda) using fatty acid trophic markers in seston food in two salt lakes in South Siberia (Khakasia, Russia) //Aquatic Ecology. 2010. 44: 513–530.

- 284. Tonolla M., Demarta A., Peduzzi S., Hahn D., Peduzzi R. In situ analysis of sulfate-reducing bacteria related to *Desulfocapsa thiozymogenes* in the chemocline of meromictic Lake Cadagno (Switzerland) //Applied and Environmental Microbiology. 2000. 66: 820-824.
- 285. Tonolla M., Peduzzi S., Hahn D., Peduzzi R. Spatio-temporal distribution of phototrophic sulfur bacteria in the chemocline of meromictic Lake Cadagno (Switzerland) // FEMS. Microbiol. Ecol. 2003. 43: 89-98.
- 286. Tonolla M., Peduzzi R., Hahn D. Long-term population dynamics of phototrophic sulfur bacteria in the chemocline of Lake Cadagno, Switzerland. Appl. Environ. Microbiol. 2005. 71 (7): 3544-3550.
- 287. Tylmann W., Szpakowska K., Ohlendorf C., Woszczyk M., Zolitschka B. Conditions for deposition of annually laminated sediments in small meromictic lakes: a case study of Lake Suminko (northern Poland) // J Paleolimnol. 2012. 47: 55-70.
- 288. Vallentyne J.R. Epiphasic carotenoids in post-glacial lake sediments // Limnol. Oceanogr. 1956. 1: 252-263.
- 289. Van de Peer Y., De Wachter R. Construction of evolutionary distance trees with TREECON for Windows: accounting for variation in nucleotide substitution rate among sites // Comput. Applic. Biosci. 1997. 13: 227-230.
- 290. Van Gemerden H. Survival of *Chromatium vinosum* at low light intencities // Arch. Microbiol. 1980. 125: 115-121.
- 291. Van Gemerden H. Competition between purple sulfur bacteria and green sulfur bacteria: role of sulfides, sulfur and polysulfides. In: Ecology of Photosynthetic Prokaryotes / Lindholm T. (Ed). Abo Academy Press. Helsinki. 1987. pp. 13-27.
- 292. Van Gemerden H., Tughan C.S., de Wit R., Gerbert R.A. Laminated microbial ecosystems on sheltered beaches in Scapa Flow, Orkney Islands // FEMS Microbiol. Ecol. 1989. 62: 87-102.

- 293. Van Gemerden H., Mas J. Ecology of phototrophic sulfur bacteria. In: Anoxygenic Photosynthetic Bacteria / Blankenship R.E., Madigan M.T., Bauer C.E. Kluwer (Eds.). Academic Publishers. The Netherlands. 1995. 49-85.
- 294. Vila X., Abella C.A., Figueras J.B., Hurley J.P. Vertical models of phototrophic bacterial distribution in the metalimnetic microbial communities of several freshwater North-American kettle lakes // FEMS Microbiol. Ecol. 1998. 25 (3): 287-299.
- 295. Vogelstein B., Gillespie D. Preparative and analytical purification of DNA from agarose // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979. 76: 615–619.
- 296. Walker K. F. The stability of meromictic lakes in central Washington // Limnol. Oceanogr. 1974. 19: 209–222.
- 297. Walker K.F., Likens G.E. Meromixis and reconsidered typology of lake circulation patterns // Verh Int Verein Limnol. 1975. 19: 442–458.
- 298. Wang X., Quinn P.J. Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification // Prog Lip Res. 2010. 49: 97–107.
- 299. Wetzel R. G. Limnology: Lake and River Ecosystems. 3rd ed. Academic. San Diego. Calif. 2001. 1006 pp.
- 300. Whittaker R.H., Likens G.E. The biosphere and man. In: Primary productivity of the biosphere / Lieth H., Whittaker R.H. (Eds.). Springer-Verlag. New York. 1975. pp. 305–328.
- 301. Winogradsky S.N. Zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbakterien. Leipzig: Felix. 1888.
- 302. Wirth S.B., Gilli A., Niemann H., Dahl T.W., Ravasi D., Sax N., Hamann Y., Peduzzi R., Peduzzi S., Tonolla M., Lehmann M.F., Anselmetti F.S. Combining sedimentological, trace metal (Mn, Mo) and molecular evidence for reconstructing past water-column redox conditions: The example of meromictic Lake Cadagno (Swiss Alps) // Geochimica et Cosmochimica Acta. 2013. 120: 220–238.

- 303. Wright S.W., Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Llewellin C.A., Bjornland T., Repeta D., Welschmeyer C. Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton // Marine Ecology Progress Series. 1991. 77: 183-196.
- 304. Zamana L. V., Borzenko S. V. Hydrogen sulfide and other reduced froms of sulfur in oxic waters of Lake Doroninskoe, Eastern Transbaikalia // Doklady earth sciences (Proceedings of the Russian Academy of Sciences). 2007. 417: 1268-1271.
- 305. Zarda B., Hahn D., Chatzinotas A., Schonhuber W., Neef A., Amann R., Zeyer J. Analysis of bacterial community structure in bulk soil by in situ hybridization // Arch Microbiol. 1997. 168: 185-192.
- 306. Zotina T.A., Tolomeyev A.P., Degermendzhy N.N. Lake Shira, a Siberian salt lake: ecosystem, structure and function. 1. Major physico-chemical and biological features // Intern. J. Salt lake Research. 1999. 8: 211-232.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Вертикальные распределения физико-химических характеристик и фототрофных серных бактерий в озерах Шира и Шунет в период 2002 – 2014 гг.



Рис. П.1 – Вертикальные распределения физико-химических характеристик воды в центральной части озера Шира за период 2002-2005 гг



Рис. П.2 – Вертикальные распределения физико-химических характеристик воды в центральной части озера Шира за период 2007-2011 гг (из Зыков,



Рис. П.3 – Вертикальные распределения физико-химических характеристик воды в центральной части озера Шира за период 2012-2014 гг



Рис.П.4 – Вертикальные распределения численности пурпурных серных бактерий (ПСБ), бактериохлорофилла *a*, кислорода и сероводорода в центральной части озера Шира в 2007-2011 гг. Стрелками показаны величины пиков, не вошедшедших в масштаб.

*,** - профили в подходящем масштабе см. на вставках, выделенных серым



Рис.П.5 – Вертикальные распределения численности пурпурных серных бактерий (ПСБ), бактериохлорофилла *a*, кислорода и сероводорода в центральной части озера Шира в 2012-2014 гг



Рис. П.6 – Вертикальные распределения физико-химических характеристик воды в центральной части озера Шунет за период 2002-2005 гг



Рис. П.7 – Вертикальные распределения физико-химических характеристик воды в центральной части озера Шира за период 2007-2011 гг (из Зыков,

2012)



Рис. П.8 – Вертикальные распределения физико-химических характеристик воды в центральной части озера Шира за период 2012-2014 гг



Рис.П.9 – Вертикальные распределения численности пурпурных серных бактерий (ПСБ), зеленых серных бактерий (ЗСБ), кислорода и сероводорода в центральной части озера Шунет в 2003-2005 гг. Стрелками показаны величины пиков, не вошедшедших в масштаб



Рис.П.10 – Вертикальные распределения численности пурпурных серных бактерий (ПСБ), бактериохлорофиллов *a* и *d*+*e*, кислорода и сероводорода в центральной части озера Шунет в 2007-2011 гг. Стрелками показаны величины пиков, не вошедшедших в масштаб



Рис.П.11 – Вертикальные распределения численности пурпурных серных бактерий (ПСБ), бактериохлорофиллов *а* и *d*+*e*, кислорода и сероводорода в центральной части озера Шунет в августе 2004