

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и
биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ Т.Г. Волова

« _____ » _____ 2023 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

МЕТАНОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ
АНТАРКТИЧЕСКИХ ТЕРРАСОВЫХ ОЗЕР

(тема)

Руководитель _____ к.б.н., доцент С.Ю. Евграфова

Выпускник _____ А.В. Заренкова

Красноярск 2023

РЕФЕРАТ

Бакалаврская работа по теме «Метаногенный потенциал донных отложений антарктических террасовых озер» содержит 32 страницы текстового документа, 8 иллюстраций, 1 таблицу, 36 использованных источников.

Ключевые слова: метаногенез, метаногенные археи, донные отложения, антарктические озера.

Объект исследования – донные отложения антарктических террасовых озер.

Целью данной работы является исследование метаногенного потенциала террасовых озер Антарктики.

Задачи исследования:

- Изучить потенциальную способность выделения метана микробными сообществами донных отложений антарктических озёр.
- Исследовать количественные характеристики эмиссии метана донными отложениями антарктических озёр.
- Оценить характер метаболических путей метаногенных сообществ террасового озера маритимной Антарктики.

Актуальность исследования метаногенного потенциала донных отложений обусловлена потенциальной возможностью эмиссии метана в атмосферу в процессе трансформации органического вещества в анаэробных условиях метаногенными археями в экосистемах озёр, что может в определённой степени влиять на климат. Пресноводные экосистемы вносят важный вклад в глобальный бюджет выбросов парниковых газов, и всесторонняя оценка их роли в контексте глобального потепления имеет важное значение. Несмотря на множество сообщений о пресноводных экосистемах, до сих пор относительно мало

внимания уделялось экосистемам, расположенным в южном полушарии, и наши текущие знания особенно скудны в отношении круговорота метана в озерах морской Антарктиды, не покрытых вечным оледенением.

В результате работы была выявлена потенциальная способность выделения метана микробными сообществами, определены количественные характеристики эмиссии метана и был оценен характер метаболических путей метаногенных сообществ террасового озера маритимной Антарктики.

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	2
ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. Обзор литературы.....	8
1.1 Метан как парниковый газ	8
1.2 Метаногенез	10
1.3 Метаногенные археи и их таксономия.....	11
1.4 Метан в донных отложениях пресноводных озер Антарктики.....	14
Глава 2. Объект и методы исследования	17
2.1 Описание объекта исследований, отбор образцов.....	17
2.2 Лабораторные инкубационные эксперименты	19
Глава 3. Результаты.....	22
3.1 Характеристики органического вещества донных отложений террасового антарктического озера	22
3.2 Динамика выделения углекислого газа в инкубационном эксперименте с донными отложениями террасового антарктического озера.....	23
3.3 Динамика выделения метана в инкубационном эксперименте с донными отложениями террасового антарктического озера	25
3.4 Динамика изотопного состава углерода в метане в инкубационном эксперименте с донными отложениями террасового антарктического озера	27
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	29
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	30

ВВЕДЕНИЕ

Метан, простейший углеводород, играет непосредственную роль в парниковом эффекте Земли, химическом составе атмосферы, глобальном круговороте углерода и энергетических потребностях современного общества [1]. С 1750 года его концентрация в атмосфере более чем удвоилась по сравнению со средними показателями доиндустриальной эпохи, и вплоть до конца двадцатого века усиливалась озабоченность по поводу их растущей роли в воздействии на глобальный климат [2,3]. Однако на рубеже нового тысячелетия концентрация CH_4 в атмосфере стабилизировалась [4], но этот период был недолгим, увеличение содержания CH_4 в атмосфере возобновилось, начиная с 2007 года [5,6]. Причина этих колебаний в чистых годовых потоках остается предметом интенсивных дискуссий и исследований.

Дальнейшие изменения окружающей среды, особенно изменение климата, в XXI веке потенциально могут радикально изменить глобальные потоки метана. Важно отметить, что изменения температуры, осадков и чистого первичного производства могут вызвать положительные климатические эффекты обратной связи в доминирующих природных источниках метана, таких как водно-болотные угодья, почвы и водные экосистемы. Также может быть оказано воздействие на антропогенные источники метана с риском увеличения выбросов в энергетическом секторе, сельском хозяйстве и секторе отходов. Для оценки реалистичных путей смягчения последствий изменения климата очень важны количественная оценка и понимание глобального баланса метана (CH_4). CH_4 является вторым по значимости парниковым газом, на который оказывает влияние деятельность человека, с точки зрения воздействия на климат, после углекислого газа (CO_2), что зависит от его продолжающегося увеличения концентраций и атмосферных выбросов. Относительная важность CH_4 по сравнению с CO_2 зависит от его более короткого срока службы в атмосфере, более сильного потенциала потепления и изменений в темпах роста

атмосферы за последнее десятилетие, причины которых все еще обсуждаются. Существует реальная опасность, что ежегодное увеличение содержания этого газа в атмосфере может привести к серьезным изменениям радиационных и климатических условий. В атмосфере он эффективно поглощает тепло в инфракрасном диапазоне, тем самым повышая ее температуру. Повышение температуры приводит к таянию вечной мерзлоты, что приводит к высвобождению захороненного в ней органического вещества и росту эмиссии парниковых газов. Поэтому низкотемпературные экосистемы играют важную роль в формировании климата Земли и баланса парниковых газов в атмосфере.

Исходя из этого, актуальность исследования метаногенного потенциала донных отложений обусловлена потенциальной возможностью эмиссии метана в атмосферу в процессе трансформации органического вещества в анаэробных условиях метаногенными археями в экосистемах озёр, что может в определённой степени влиять на климат. Пресноводные экосистемы вносят важный вклад в глобальный бюджет выбросов парниковых газов, и всесторонняя оценка их роли в контексте глобального потепления имеет важное значение. Несмотря на множество сообщений о пресноводных экосистемах, до сих пор относительно мало внимания уделялось экосистемам, расположенным в южном полушарии, и наши текущие знания особенно скудны в отношении круговорота метана в озерах морской Антарктиды, не покрытых вечным оледенением [7].

Целью данной работы является исследование метаногенного потенциала террасовых озёр Антарктики.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- Изучить потенциальную способность выделения метана микробными сообществами донных отложений антарктических озёр.

- Исследовать количественные характеристики эмиссии метана донными отложениями антарктических озёр.

- Оценить характер метаболических путей метаногенных сообществ террасового озера маритимной Антарктики.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Метан как парниковый газ

Известно, что метан является самым важным парниковым газом после углекислого газа, к тому же его концентрация в атмосфере увеличилась более чем вдвое с начала индустриальной эры. Со времен промышленной революции концентрация CH_4 в атмосфере увеличилась с 722 ppb до более чем 1800 ppb к 2011 году, в основном в результате деятельности человека [8]. То, что CH_4 обладает таким мощным эффектом прямого радиационного воздействия, несмотря на его относительно низкие концентрации, объясняется его очень эффективным поглощением инфракрасного излучения, особенно на длинах волн 3,3 и 7,7 мкм. Важно отметить, что выбросы CH_4 также оказывают значительное косвенное воздействие на чистое радиационное воздействие, причем эти сложные воздействия еще более усиливают общую роль метана в глобальном изменении климата [9,10]. Срок жизни метана в атмосфере составляет 12 ± 2 года [11]. Этот парниковый газ до сих пор, по оценкам, способствовал 20 % постиндустриального глобального потепления. Большое количество биогеохимических исследований было сосредоточено на причинах и следствиях изменения глобальных потоков метана на протяжении всей истории Земли, но лежащие в основе микробные процессы и их ключевые агенты остаются плохо изученными. Это тревожный пробел в знаниях, поскольку 85% ежегодного мирового производства метана и около 60% его потребления основаны на микробиологических процессах. В настоящее время глобально выбрасывается около 500-600 Тг метана в год, и около 70% из них образуется путем метаногенеза в самых разнообразных средах обитания. Однако только 40% метана, который образуется за счет метаногенеза, попадает в атмосферу, так как оставшаяся часть потребляется аэробными и анаэробными бактериями, окисляющими метан, и археями. Аэробные бактерии, которые окисляют метан в почве, ризосфере и пресноводных озерах, могут сокращать

выбросы метана в атмосферу примерно на 50%. В то же время, практически весь метан, образующийся в морских отложениях, окисляется анаэробными метанотрофными археями либо же в составе консорциума бактерий, которые восстанавливают сульфаты, нитраты и оксиды металлов, либо самостоятельно в присутствии минералов Fe^{3+} . Анаэробное окисление метана, возможно, является причиной потребления 70-300 тонн метана в год во всем мире. Считается, что анаэробные метанотрофные археи используют процесс "обратного метаногенеза" для окисления метана и тесно связаны с метаногенами [12]. Только три ключевые функциональные группы микроорганизмов с ограниченным разнообразием регулируют потоки метана на земле, а именно это аэробные метанотрофные бактерии, метаногенные археи и их близкие родственники, анаэробные метанотрофные археи (ANME) [13].

Уменьшение неопределенности в отношении конкретных источников метана и, исходя из этого, общего бюджета метана является сложной задачей, которая имеет как минимум четыре причины. Во-первых, метан выделяется в результате различных процессов, это могут быть как природные, так и антропогенные источники, точечные и диффузные источники, а также источники, связанные с тремя различными классами выбросов (т.е. биогенные, термогенные и пирогенные). Для получения точных оценок выбросов необходимо интегрировать данные из разных научных сообществ. Так как антропогенные выбросы часто происходят в результате непреднамеренной утечки при производстве ископаемого топлива или сельском хозяйстве, это еще больше усложняет получение точных оценок выбросов "снизу-вверх". Во-вторых, атмосферный метан удаляется из атмосферы в результате химических реакций с участием радикалов (это главным образом ОН), которые имеют очень короткое время жизни (обычно ≈ 1 с). В-третьих, точными наблюдениями за темпами роста атмосферы ограничен только чистый баланс метана, что делает более неопределенной сумму источников и сумму поглотителей. Одним из упрощений для CH_4 по сравнению с CO_2 является то, что вклад океана в

глобальный баланс метана невелик ($\approx 1\% - 3\%$), что делает оценку источников преимущественно континентальной проблемой [14].

Количество метана в атмосфере зависит от соотношения процессов его поступления в воздух (эмиссиями) и выведения (стока), а также от их изменчивости во времени. Эмиссии возникают как за счет естественных биохимических и геохимических процессов, так и за счет антропогенных. Сток, выведение метана из атмосферы, определяется совокупной скоростью его химического разрушения в атмосфере и поглощения почвой.

1.2 Метаногенез

Метаногенез - это анаэробный процесс, при котором образуется метан, как конечный продукт метаболизма, и при котором окисленный углерод, такой как CO_2 , используется как конечный акцептор электронов. Метаногенез схож с другими типами дыхания, однако он имеет некоторые отличительные особенности: выход энергии очень низок, ≤ 1 АТФ на каждую образующуюся молекулу метана, и только метаногены — организмы, способные к такому специализированному метаболизму — осуществляют биологическое производство метана. Исторически метаногенез рассматривался как высокоспециализированный метаболизм, присущий узкой группе прокариот. Однако недавние исследования выявили огромное разнообразие метаногенов и предполагают, что этот метаболизм является одним из самых древних на земле [12]. Метан вырабатывается метаногенными археями в качестве конечной стадии микробиологического разложения органического вещества в бескислородной среде. Метаногенные субстраты включают водород/диоксид углерода (H_2/CO_2) (гидрогенотрофный метаногенез), метилированные соединения, включая метанол (MeOH) (метилотрофный метаногенез), ацетат (ацетокластический метаногенез) и метоксилированные ароматические соединения (метоксидотрофный метаногенез). В вечномерзлых почвах

основными субстратами являются H_2/CO_2 и ацетат, но имеются противоречивые сообщения об обособленном преобладающем пути метаногенеза при таянии вечной мерзлоты [15, 16].

Хотя метаногены используют лишь ограниченное число простых субстратов, их биохимия необычайно сложна, и включает, по меньшей мере, шесть необычных коферментов и некоторые реакции, которые протекают только при чрезвычайно низких окислительно-восстановительных потенциалах. Для кодирования биосинтеза коферментов и ферментных систем, необходимых для метаногенеза, необходимо около 200 генов. Несмотря на то, что все четыре пути метаногенеза начинаются по-разному, все они заканчиваются реакцией метилкоэнзима М ($CH_3-S-CoM$) с коэнзимом В ($CoB-SH$), идущей с образованием метана и гетеродисульфида ($CoM-S-S-CoB$). Эта реакция катализируется метил-коэнзим М-редуктазой (Mcr), что делает данный фермент ключевым в процессе метаногенеза. Метан, образовавшийся в ходе данной реакции, становится побочным продуктом, тогда как образующийся гетеродисульфид играет роль акцептора электронов, сопряженного с аккумуляцией энергии клеткой [17]. Все метаногенные пути содержат три общие стадии: перенос метильной группы в кофермент М ($CoM-SH$), восстановление метил-кофермента М коферментом В ($CoB-SH$) и рециркуляция гетеродисульфида $CoM-S-S-CoB$ [18].

1.3 Метаногенные археи и их таксономия

Метаногены состоят исключительно из архей. Они являются облигатными продуцентами метана, строгими анаэробами. Метаногены, как и процесс, который они катализируют, также отличаются друг от друга. Метаногенез - процесс анаэробного дыхания, при котором окисленный углерод, такой как CO_2 , используется в качестве конечного акцептора электронов.

Исходя из этого, метаногенные археи распространены в средах обитания, бедных другими акцепторами электронов, такими как O_2 , NO_3^- , Fe^{3+} и SO_4^{2-} . Их можно обнаружить практически во всех типах анаэробных сред, от глубоководных гидротермальных источников до вечной мерзлоты антарктических почв, от пресноводных отложений до гиперсоленых озер, от рисовых полей до пищеварительных трактов животных и от кислых торфяных болот до щелочнофильных озерных отложений. Метаногенные бактерии связаны филогенетическим, а также строгим метаболическим родством, хотя и могут быть морфологически непохожими [1].

Метаногенные подразделяются на три группы, которые зависят от использования субстрата — гидрогенотрофные, ацетокластические (уксуснокислые) и метилотрофные. Гидрогенотрофные метаногены могут окислять H_2 , формиат или несколько простых спиртов и восстанавливают CO_2 до CH_4 . Большинство описанных метаногенов являются гидрогенотрофными. Они являются преобладающим источником метаногенеза в глубоководных морских отложениях, задних кишках термитов, желудочно-кишечном тракте человека и животных, на долю которых в совокупности приходится треть биологически генерируемых выбросов метана. Ацетокластические метаногены расщепляют ацетат с образованием CH_4 и CO_2 . Они встречаются в местах обитания, где гидрогенотрофные метаногены снижают уровень H_2 достаточно до уровня, при котором создаются условия, необходимые для образования высоких уровней ацетата. Ацетокластические метаногены являются доминирующими производителями метана в анаэробных реакторах, на рисовых полях и водно-болотных угодьях — местах обитания, на долю которых приходится около двух третей выбросов метана, генерируемого биологическим путем. Метилотрофные метаногены распространены в морских и гиперсоленых, богатых сульфатами отложениях, где они утилизируют метилированные соединения, такие как триметиламин, диметилсульфат и метанол. Недавно новые представители этой группы были обнаружены в таких

местах обитания, как рубец крупного рогатого скота. Хотя метилотрофный метаногенез может быть преобладающим источником метана в определенных средах, их вклад в глобальные выбросы метана, вероятно, невелик [12].

В настоящее время существует восемь порядков метаногенов, каждый из которых представлен по крайней мере одной чистой культурой. Они принадлежат к трем основным типам, но точное размещение отрядов внутри типов до конца не определено (Рисунок 1). Метаногены в составе *Euryarchaeota* включают *Methanococcales*, *Methanopyrales* и *Methanobacteriales*. Метаногены, входящие в состав *Halobacterota*, включают *Methanomicrobiales*, *Methanocellales*, *Methanonatronarchaeales* и *Methanosarcinales*. Оставшийся отряд, *Methanomassiliicoccales*, относится к типу *Thermoplasmata*. Кроме того, продолжают открываться новые метаногены. Большинство из них выведено из метагеномов, принадлежащих таксонам *Candidatus*: '*Methanofastidiosales*', '*Methanomethylicia*' (также известных как '*Verstraetearchaeota*'), '*Bathyarchaeia*' и '*Methanoflorentaceae*'. Большинство из этих метаногенов относятся к новым типам, о которых ранее не было известно, что они содержат метаногены. Широкое распространение метаногенов в древе архей согласуется с геохимическими данными и анализом филогенетических датировок, подтверждая идею о том, что метаногенез является древним процессом [12].

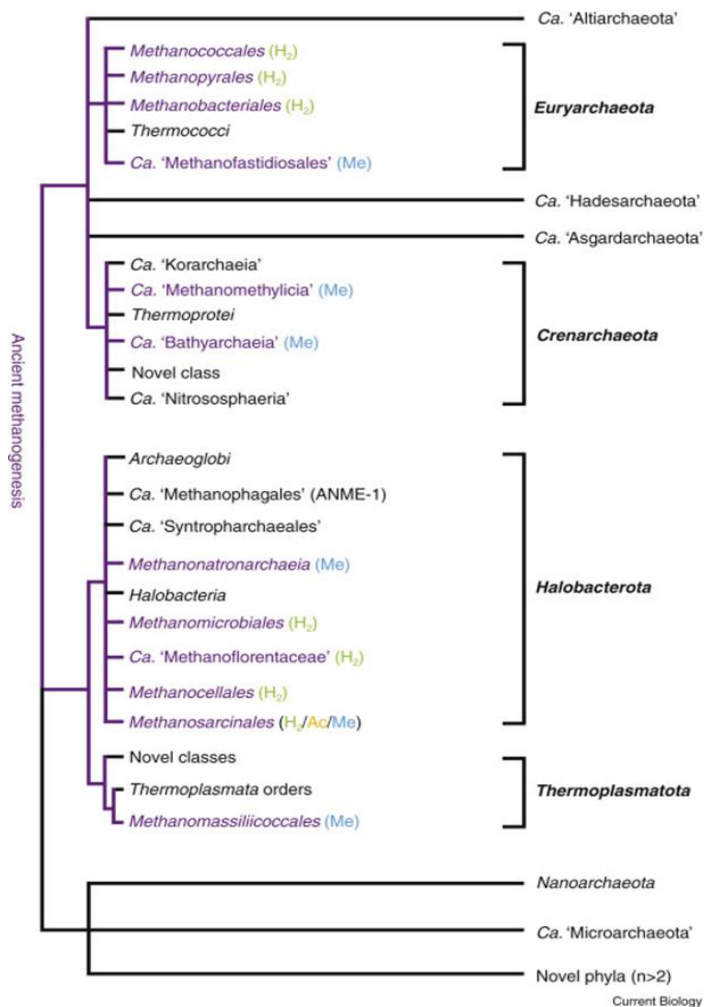


Рисунок 1 – Метаногены в эволюционном древе архей [Lyu Z., 2018].

1.4 Метан в донных отложениях пресноводных озер Антарктики

Антарктический регион является одной из наименее подверженных антропогенному воздействию сред и представляет собой модель для низкотемпературных систем. До сих пор ацетокластический метаногенный потенциал антарктических почв и озерных отложений был недостаточно изучен по сравнению с данными, полученными в арктических и субарктических регионах.

Пресноводные экосистемы занимают лишь около 3,7% незамерзающей поверхности суши Земли [19], но они представляют собой основной источник

метана (CH_4) и диоксида углерода (CO_2) [20]. Выбросы CH_4 из пресноводных экосистем являются результатом двух основных противоположных процессов: анаэробного синтеза CH_4 (метаногенез) и аэробного/анаэробно-аэробного окисления CH_4 [21]. В свою очередь, CO_2 образуется как при аэробном, так и анаэробном дыхании или транспортируется из наземных источников [22], в то время как он потребляется путем фиксации CO_2 .

Озера в Антарктике часто являются подледниковыми, то есть постоянно покрытыми льдом, и к настоящему времени было обнаружено около 400 из них [23]. В этих замкнутых экосистемах цикл CH_4 активен, но без какого-либо заметного обмена с атмосферой. Однако не все антарктические озера являются подледниковыми. На краю Антарктического континента, а также на полуострове Файлдс острова Кинг Джордж и на окружающих его островах, то есть в морской Антарктиде, можно найти множество озер с коротким ежегодным периодом отсутствия льда. Морские антарктические озера подвержены круглогодичному холодному и относительно сухому океаническому климату с коротким мягким летом, то есть холодному морскому [24], а ландшафт характеризуется отсутствием или спорадической растительностью, состоящей из мхов и лишайников, что приводит к низкому содержанию органики в почве [25,26]. Кроме того, приток воды в озера в основном ограничен осадками и талой водой снега или ледников в течение короткого мягкого лета. Таким образом, эти озера полностью изолированы от атмосферы на 9-11 месяцев в году и имеют ограниченный обмен органическим веществом с окружающей средой в течение короткого периода без льда. Определение круговорота CH_4 в этих озерах имеет большое значение не только для восполнения пробела в знаниях, но и для содействия установлению исходных данных о том, каков круговорот CH_4 в нетронутых озерах с низким содержанием углерода и подверженных круглогодичным холодам, которые являются условиями, неблагоприятными для производства CH_4 [27,28,29]. Тем не менее, сообщалось о психрофильных и/или психротолерантных метаногенах

в постоянно холодных условиях Антарктики [30]. Более того, в контексте изменения климата, с более длительными периодами отсутствия льда, повышением температуры поверхности и уровня воды [31] и увеличением площадей, свободных ото льда в Антарктиде [32], эти озера могут приобрести важное значение [33,34].

Цикл CH_4 в водных экосистемах полуострова Файлдс, не подверженных вечному оледенению, активен, что приводит к низким, но постоянным выбросам CH_4 в атмосферу в течение короткого незамерзающего сезона. Эти выбросы CH_4 компенсируются значительным улавливанием атмосферного CO_2 , что делает их поглотителями парниковых газов. В целом, такое поведение может быть объяснено постоянно холодными условиями, доминирующей автотрофностью в течение годового цикла и низким содержанием экзогенной органики, получаемой водными экосистемами, о чем свидетельствует отсутствие растительности и ограниченное/отсутствующее антропогенное и орнитогенное поступление питательных веществ. По сравнению с другими пресноводными экосистемами, о которых ранее сообщалось в других регионах морской Антарктики, показатели цикла CH_4 в озерах п-ва Файлдс ниже, но в пределах того же порядка величин. Таким образом, водные экосистемы, не подверженные многолетнему оледенению, расположенные вокруг Антарктического континента, вероятно, не вносят существенного вклада в выбросы парниковых газов, связанные с водными экосистемами, расположенными на других широтах. Более того, в контексте будущего потепления, с более длительными незамерзающими периодами и большими незамерзающими территориями в Антарктиде, эти озера, которые могли бы приобрести важное значение и могут превратиться в особенность антарктического ландшафта, вряд ли смогут существенно изменить вклад в текущий бюджет выбросов парниковых газов [7].

Глава 2. Объект и методы исследования

2.1 Описание объекта исследований, отбор образцов

Остров Кинг Джордж является частью архипелага Южных Шетландских островов в Западной Антарктике. Архипелаг состоит из 62 островов и множества скал, выступающих из моря. На севере он отделен от мыса Хоум-Кейп проливом Дрейка, а на юге - от Антарктического полуострова проливом Брансфилд. С биogeографической точки зрения архипелаг Южные Шетландские острова относится к морской Антарктике. Остров Кинг Джордж - самый большой остров, его длина составляет около 64,8 км, а ширина - 40 км. Он простирается с северо-востока на юго-запад между 61°50' северной широты и 62°15' южной долготы, 57°30' и 59°01' западной долготы. Береговая линия хорошо развита и содержит множество бухт. Оледенение на острове Кинг-Джордж образует обширную систему полицентрических ледяных шапок, покрывающих почти весь остров. Большинство незамерзающих участков суши граничат с морем, причем самые крупные “оазисы” расположены вдоль побережья. Самым большим незамерзающим участком на острове Кинг-Джордж является полуостров Файлдс, расположенный на юго-западе острова (Рисунок 2). Местность имеет множество холмов, максимальная высота которых достигает 165 метров. В этом районе также есть пресноводные озера. Флора острова в основном сосредоточена на полуострове Файлдс. Места произрастания растений приурочены к увлажненным местам, поймам рек и водотоков, берегам озер и местам скопления птичьего гуано [36]. Остров Ардли (62°13' ю.ш., 58°56' з.д.) (морская Антарктида), длина которого 2,0 км, а ширина 1,5 км, признан Научным комитетом по исследованию Антарктиды (SCAR) объектом особого научного интереса. В сезон размножения 1998 года на острове насчитывалось около 10 000 пингвинов; 70-80% территории острова

вокруг места обитания пингвинов было покрыто тремя основными типами растительности: водорослями, мхами и лишайниками [Jianjun Wang].

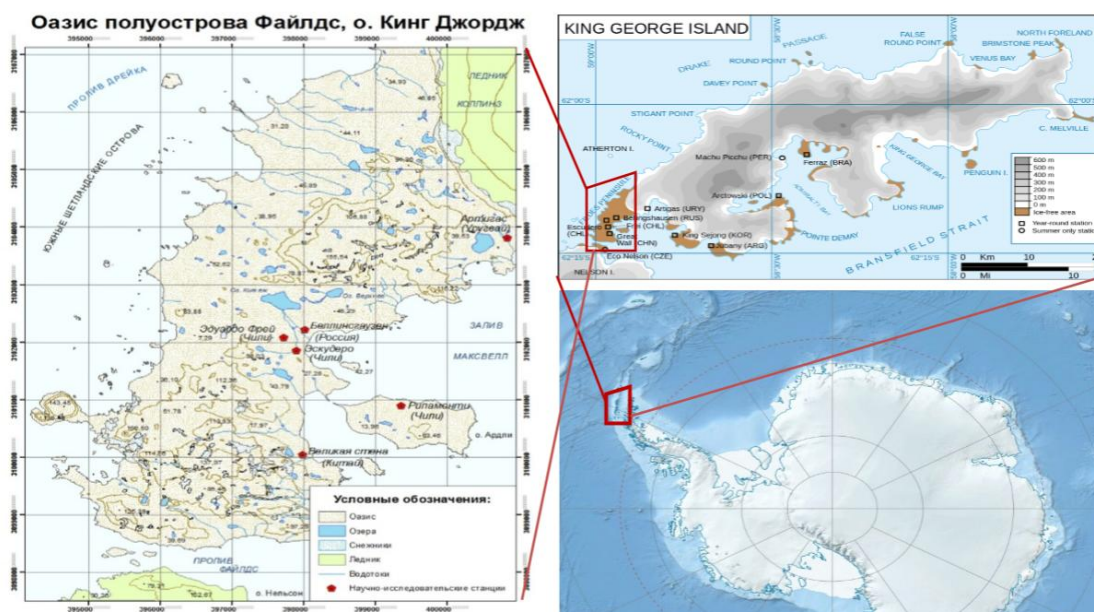


Рисунок 2 - полуостров Файлдс, остров Кинг Джордж, маритимная Антарктика.

В данной работе в качестве объекта исследования были использованы образцы донных отложений, отобранные из террасового озера, расположенного на территории колонии пингвинов на острове Ардли (вблизи полуострова Файлдс, остров Кинг Джордж, маритимная Антарктика). Образцы отобраны в марте (первый месяц антарктической астральной осени) с глубины 0-5 см, 5-10 см и 10-15 см. Образцы замораживали при -18°C и транспортировали в лабораторию «Экофизиология биогеоценозов криолитозоны» Института леса им. Сукачёва СО РАН (ИЛ СО РАН).

Содержание углерода и азота в органическом веществе донных отложений определяли на элементном анализаторе Vario Isotope Cube (Elementar, Germany), соотношение $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ определяли на изотопном масс-спектрометре IsoPrime 100 (IsoPrime, England) по стандартной методике в ИЛ СО РАН.

2.2 Лабораторные инкубационные эксперименты

В ходе работы были проведены инкубационные эксперименты по определению потенциальной способности выделения метана, выделяемым микробными сообществами с образцами донных отложений антарктического террасового озера. Инкубационный эксперимент был выполнен в соответствии со стандартным протоколом, принятым для инкубации почвы [35], который был модифицирован для инкубации жидких субстратов в анаэробных условиях. Образцы донных отложений помещались по 20 г в инкубационные сосуды объемом 150 мл в трех повторностях. Образец состоял из твердой (минеральной) и водной фаз. Затем сосуд закрывался герметичной закручивающейся крышкой с силиконовой прокладкой. Перед каждой экспозицией свободное пространство инкубационных сосудов продувалось бескислородным потоком инертного газа (азотом) через герметичный кран, расположенный на крышке сосуда, в течение 40 секунд, что позволяло оценивать эмиссию углерода из образца без примесной составляющей углерода атмосферы лаборатории. Так как метан тяжелее воздуха и имеет тенденцию опускаться на дно сосудов, для точных измерений в крышках сосудов были предусмотрены длинные трубки, доходившие до дна. Схема использовавшейся в эксперименте инкубационной камеры представлена на рисунке 3.

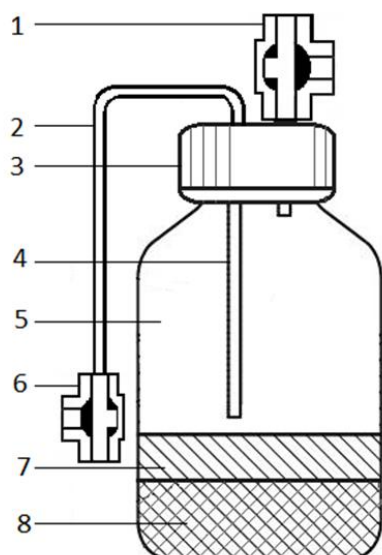


Рисунок 3 – Схема инкубационной системы для жидких субстратов в анаэробных условиях

1- кран для подачи азота; 2 – трубка для отбора образовавшихся газов; 3 – герметичная крышка; 4 – внутренняя трубка для отбора газа; 5 – инкубационный сосуд; 6 – кран для отбора газа; 7 – вода; 8 – образец донных отложений

По окончании экспозиции анализ концентрации и изотопной композиции парниковых газов проводился при помощи газового анализатора Picarro 2201-i с модулем отбора образцов малого объема (SSIM), позволяющим одновременно осуществлять регистрацию концентрации диоксида углерода и его изотопное смещение. Каждый образец инкубировался в 3-х повторностях. После каждого измерения сосуды продувались азотом в течении 40 секунд, закрывались и отправлялись на дальнейшую инкубацию. Инкубация проводилась при комнатной температуре (24°C) Длительность проведения инкубационных экспериментов составила 233 дня. Периодичность измерения эмиссии образцами донных отложений парниковых газов (CO_2 , CH_4) составляла от 1 до 26 дней в течение всего периода инкубации.

Поток CH_4 на 1 г осадков был рассчитан по формуле (1):

$$mgCH_4 = \Delta CH_4 \times \left(\frac{V_{air} \cdot MCH_4}{22,41} \right) \times \left(\frac{273,15}{T_{air}} \right) \times \left(\frac{1}{g} \right), \quad (1)$$

где ΔCH_4 - выброс CH_4 между двумя периодами времени, ppm;

V_{air} – объем свободного пространства инкубационного сосуда, л;

T_{air} - температура воздуха, (К);

g - масса образца, абсолютно сухой вес, г;

M_{CH_4} - молярная масса метана.

Поток CO_2 на 1 г осадка был рассчитан по формуле (2):

$$mgCO_2 = \Delta CO_2 \times \left(\frac{V_{air} \cdot MCO_2}{22,41} \right) \times \left(\frac{273,15}{T_{air}} \right) \times \left(\frac{1}{g} \right), \quad (2)$$

где ΔCO_2 - выброс CO_2 между двумя периодами времени, ppm;

V_{air} – объем свободного пространства инкубационного сосуда, л;

T_{air} - температура воздуха, (К);

g - масса образца, абсолютно сухой вес, г;

M_{CO_2} - молярная масса диоксида углерода.

Значения выбросов CH_4 и CO_2 отложениями были рассчитаны как среднее значение потока газа (формулы 1 или 2 соответственно) за период между двумя измерениями.

Статистическая обработка полученных экспериментальных данных производилась с использованием программного пакета Microsoft Excel 2013 для Windows 8.

Глава 3. Результаты

3.1 Характеристики органического вещества донных отложений террасового антарктического озера

Страницы 22-28 изъяты в связи с авторским правом

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В лабораторном инкубационном эксперименте с донными отложениями антарктического террасового озёра показана потенциальная способность микробных сообществ к выделению метана, которая наблюдалась по всему профилю исследуемых горизонтов отложений (0-15 см).

2. Исследования показали, что наибольшая метаногенная способность выявлена в слое донных отложений 0-5 см, с понижением к слою отложений 10-15 см в 8,7 раз. В целом за период инкубирования образцов из слоя донных отложений 0-5 см было выделено 9652 ± 1956 мг CH_4 г-1, из слоя отложений 5-10 см – 3243 ± 899 мг CH_4 г-1, а из слоя отложений 10-15 см – 1108 ± 512 мг CH_4 г-1. Максимальное выделение метана наблюдалось в первые дни инкубации (с 1 по 10 сутки), затем количественные характеристики выделения CH_4 постепенно уменьшались во всех исследуемых горизонтах.

3. Оценивая характер метаболических путей метаногенных сообществ террасового озера маритимной Антарктики, по полученным значениям $\delta^{13}\text{C}-\text{CH}_4$ в донных отложениях, можно сделать вывод о преимущественно ацетокластических путях метаногенеза. Также утяжеление изотопного состава углерода в метане в слое 0-5 см в первой трети периода инкубации до -20 ‰ могло свидетельствовать о присутствии микроорганизмов, осуществляющих анаэробные метанотрофные процессы, таких как представители группы ANME.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Valentine DL. Emerging topics in marine methane biogeochemistry//Ann Rev Mar Sci. – 2011. – №3. – P. 147-171.
2. Wuebbles DJ, Hayhoe K. Atmospheric methane and global change//Earth-Sci. Rev. – 2002. – №57. – P. 177–210.
3. Reay DS, Smith KA, Hewitt CN. 2007. Methane: importance, sources and sinks//In Greenhouse Gas Sinks, ed. DS Reay, CN Hewitt, KA Grace. – P. 51–143.
4. Dlugokencky E, Houweling S, Bruhwiler L, Masarie K, Lang P, et al. Atmospheric methane levels off: Temporary pause or a new steady-state?// Geophys. Res. Lett. – 2003. – Vol. 30. – №19.
5. Kirschke S, Bousquet P, Ciais P, Saunois M, Canadell JG, et al. Three decades of global methane sources and sinks//Nat. Geosci. –2013. – Vol.6. – №8. – P. 13–23.
6. Nisbet EG, Dlugokencky EJ, Bousquet P. Methane on the rise—again//Science. – 2014. –Vol.343. – P. 493–495.
7. Thalasso F, Sepulveda-Jauregui A, Cabrol L, et al. Methane and carbon dioxide cycles in lakes of the King George Island, maritime Antarctica// Science of the Total Environment. – 2022. – Vol. 848.
8. Intergov. Panel Clim. Change. 2013. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press
9. Saunois M., Bousquet P., Poulter B., et al. The global methane budget 2000–2012//Earth Syst. Sci. Data. – 2016. – Vol.8. – P. 697–751.

10. Lelieveld, Jos et al. Changing concentration, lifetime and climate forcing of atmospheric methane//Tellus B 50. – 1998. – P. 128-150.
11. Forster, P., T. Storelvmo, K. Armour, W. Collins, J. L. et al, The Earth's Energy Budget, Climate Feedbacks, and Climate Sensitivity. In: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change//Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. – 2021. – P. 923–1054.
12. Lyu Z, Shao N, Akinyemi T, Whitman WB. Methanogenesis//Curr Biol. – 2018. – Vol.28. – №1913. – P. 727-732.
13. Saunois, M., Bousquet, P., Poulter, B., et al. The global methane budget 2000–2012//Earth Syst. Sci. Data. – Vol.8. – P. 697–751.
14. USEPA: Office of Atmospheric Programs (6207J), Methane and Nitrous Oxide Emissions From Natural Sources, U.S. Environmental Protection Agency, EPA 430-R-10-001, Washington, DC 20460, available at: <http://nepis.epa.gov/>
15. McCalley, Carmody K., et al. Methane dynamics regulated by microbial community response to permafrost thaw//Nature. – 2014. – Vol.514. –№7523. – P. 478-481.
16. Yang, Sizhong, et al. In-depth analysis of core methanogenic communities from high elevation permafrost-affected wetlands//Soil Biology and Biochemistry. – 2017. – Vol.111. – P. 66-77.
17. Каллистова А. Ю., Меркель А. Ю., Тарновецкий И. Ю., Пименов Н. В. Образование и окисление метана прокариотами//Микробиология. – 2017. –Т.86. – № 6. – с. 661–683.
18. Lyu Z, Shao N, Akinyemi T, Whitman WB. Methanogenesis//Curr Biol. – 2018. – Vol.28. –№13. – P. 727-732.

19. Verpoorter, C., Kutser, T., Seekell, D.A., Tranvik, L.J., A global inventory of lakes based on high-resolution satellite imagery// *Geophys. Res. Lett.* –2014. – Vol.41. – P. 6396–6402.
20. DelSontro, T., Beaulieu, J.J., Downing, J.A., Greenhouse gas emissions from lakes and impoundments: upscaling in the face of global change//*Limnol. Oceanogr. Lett.* – 2018. – Vol.3. – P. 64–75.
21. Borrel, G., Jézéquel, D., Biderre-Petit, C., Morel-Desrosiers, N., Morel, J.P., Peyret, P., Fonty, G., Lehours, A.C. Production and consumption of methane in freshwater lake ecosystems//*Res. Microbiol.* –2011. – Vol.162. – P. 833–847.
22. Engel, F., Farrell, K.J., McCullough, I.M., et al. A lake classification concept for a more accurate global estimate of the dissolved inorganic carbon export from terrestrial ecosystems to inland waters//*Sci. Nat.* – 2018. – Vol.105. – №25.
23. Ashmore, D.W., Bingham, R.G., Antarctic subglacial hydrology: current knowledge and future challenges//*Antarct. Sci.* – 2014. – Vol.26. – P. 758–773.
24. Bañón, M., Justel, A., Velázquez, D., Quesada, A., Regional weather survey on byers peninsula, Livingston Island, South Shetland Islands, Antarctica//*Antarct. Sci.* – 2013. – Vol.25. – P. 146–156.
25. Burkins, M.B., Virginia, R.A., Chamberlain, C.P., Wall, D.H., Origin and distribution of soil organic matter in Taylor Valley, Antarctica//*Ecology.* – 2000. – Vol.81. – №2377.
26. Burkins, M.B., Virginia, R.A., Wall, D.H., Organic carbon cycling in Taylor Valley, Antarctica: quantifying soil reservoirs and soil respiration//*Glob. Chang. Biol.* – 2001. – Vol.7. – P. 113–125.
27. Beaulieu, J.J., Downing, J.A., Eutrophication will increase methane emissions from lakes and impoundments during the 21st century//*Nat. Commun.* – 2019. – P. 3–7.

28. Martinez-Cruz, K., Sepulveda-Jauregui, A., Walter Anthony, K., Thalasso, F., Geographic and seasonal variation of dissolved methane and aerobic methane oxidation in alaskan lakes//Biogeosciences. – 2015. – Vol.12. – P. 4595–4606.
29. Yvon-Durocher, G., Allen, A.P., Bastviken, D., Conrad, R., Gudas, C., St-Pierre, A., ThanhDuc, N., del Giorgio, P.A., Methane fluxes show consistent temperature dependence across microbial to ecosystem scales//Nature. – 2014. – №507. – P. 488–491.
30. Aguilar-Muñoz, P., Lavergne, C., Chamy, R., Cabrol, L., The biotechnological potential of microbial communities from Antarctic soils and sediments: application to low temperature biogenic methane production//J. Biotechnol. – 2022. – Vol.351. – P. 38–49.
31. Woolway, R.I., Kraemer, B.M., Lenters, J.D., Merchant, C.J., O'Reilly, C.M., Sharma, S., Global lake responses to climate change//Nat. Rev. Earth Environ. – 2020. – Vol.8. – №1. – P. 388–403.
32. Garbe, J., Albrecht, T., Levermann, A., Donges, J.F., Winkelmann, R., The hysteresis of the Antarctic Ice Sheet//Nature. – 2020. – Vol.7826. – №585. – P. 538–544.
33. Sasaki, M., Imura, S., Kudoh, S., Yamanouchi, T., Morimoto, S., Hashida, G., Methane efflux from bubbles suspended in ice-covered lakes in syowa oasis, East Antarctica//J. Geophys. Res. Atmos. – 2009. – Vol.114. – №18114.
34. Sasaki, M., Endoh, N., Imura, S., Kudoh, S., Yamanouchi, T., Morimoto, S., Hashida, G., Air-lake exchange of methane during the open water season in syowa oasis, East Antarctica//J. Geophys. Res. Atmos. – 2010. – Vol.115. – №16313.
35. ГОСТ Р ИСО 15473-2016 Качество почвы. Оценка анаэробной биоразлагаемости органических химических веществ в почве. – Введ. 01.02.2017. – Москва: Стандартинформ, 2017. – С. 11.

36. Olech M. Lichens of King George Island, Antarctica//The Institute of Botany of the Jagiellonian University, Kraków. – 2004. – P. 391.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и
биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

 Т.Г. Волова

« 16 » июня 2023 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

МЕТАНОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ
АНТАРКТИЧЕСКИХ ТЕРРАСОВЫХ ОЗЕР

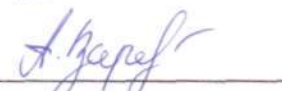
(тема)

Руководитель



к.б.н., доцент С.Ю. Евграфова

Выпускник



А.В. Заренкова

Красноярск 2023