

На правах рукописи

Потапова Зинаида Михайловна

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ЭКОФИЗИОЛОГИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ АЗОТНЫХ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ СЕВЕРНОГО ЗАБАЙКАЛЬЯ

03.00.16 – экология
03.00.07 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Улан-Удэ – 2010

Работа выполнена в Институте общей
и экспериментальной биологии СО РАН

- Научный руководитель: кандидат биологических наук
Бархутова Дарима Дондоковна
- Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Намсараев Баир Бадмабазарович
- Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Земская Тамара Ивановна
- кандидат биологических наук
Калашникова Ольга Михайловна
- Ведущая организация: **Институт природных ресурсов,
экологии и криологии СО РАН**

Защита диссертации состоится «25» марта 2010 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 212.022.03 в Бурятском государственном университете по адресу: 670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24 а, конференц - зал.

Факс: (3012)210588

E-mail: d21202203@mail.ru

Z.potapova@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Бурятского научного центра СО РАН и Бурятского государственного университета

Автореферат разослан «20» февраля 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Шорноева Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Микробные сообщества гидротермальных систем представляют значительный интерес с точки зрения эволюции биосферы и, по мнению многих исследователей, считаются аналогами древнейших биоценозов Земли (Заварзин, 1984, 2001; Barros, Hoffman, 1985; Stetter, 1996, Walter et. al., 1998). Распространение и видовой состав цианобактерий изучены в термальных источниках Кавказа, Армении, Азербайджана, Камчатки, Таджикистана, Туркмении, Киргизии (Змеев, 1872; Гутвинский, 1891; Еленкин, 1914; Воронихин, 1923; Petersen, 1930; Джибладзе, 1960; Кукк, 1963; Балашова, 1974 и др.).

В Байкальской рифтовой зоне существует большое количество выходов термальных вод (Борисенко, Замана, 1978). Ранее проведенные исследования гидротерм Северного Забайкалья, которые были сфокусированы на изучении структуры, видового разнообразия и функционирования микробных сообществ (Компанцева, Горленко, 1988; Юрков и др., 1991; Юрков и Горленко, 1992; Намсараев и др., 2003, Брянская и др., 2006), показали, что в микробных матах большинства источников присутствуют представители различных таксонов цианобактерий.

Изучение таксономического разнообразия цианобактерий и особенностей их распространения в зависимости от экологических условий в минеральных источниках является важным направлением водной микробиологии. В последнее время проводятся мониторинговые исследования минеральных источников Северного Забайкалья, в том числе изучение видового разнообразия цианобактерий и их роли в круговороте веществ и энергии. В настоящей работе продолжено дальнейшее пополнение и уточнение имеющегося общего систематического списка *Cyanoprocariota*. Вместе с этим, к началу нашей работы практически не были выделены чистые культуры термофильных цианобактерий, поэтому их выделение и описание является актуальной задачей.

Цель исследования - изучение видового состава и экофизиологических особенностей цианобактерий азотных гидротерм Северного Забайкалья.

В задачи исследования входило:

1. Изучить условия развития циано-бактериальных сообществ в гидротермах Северного Забайкалья;
2. Оценить продуктивность циано-бактериальных матов;
3. Изучить изотопный состав углерода органического вещества циано-бактериальных матов;
4. Выделить монокультуры цианобактерий, определить их таксономическое положение;
5. Изучить экофизиологические характеристики чистых культур цианобактерий.

Научная новизна и практическая значимость. С помощью микробиологических методов выявлено широкое распространение термофильных цианобактерий в азотных гидротермах Северного Забайкалья. Определены структурные и функциональные характеристики цианобактериальных сообществ и показана зависимость их разнообразия и активности от экологических условий. Проведена инвентаризация цианобактерий и составлен их таксономический спектр, насчитывающий 41 вид и разновидность цианобактерий. В исследованных источниках впервые выявлены 18 видов цианобактерий представителей родов *Leptolyngbya*, *Planktolyngbya*, *Gloeocapsa*, *Anabaena*, *Calothrix*, *Oscillatoria*, *Pseudanabaena*, *Microcystis*, *Gloeotrichia*. Выделены пять альгологически чистых культур цианобактерий: *Komvophoron jovis*, *Synechococcus bigranulatus* Skuja, *Leptolyngbya laminosa*, *Anabaena variabilis*, *Calothrix clavata* и описаны их экофизиологические особенности.

Полученные результаты расширяют представление о разнообразии алкалотермофильных цианобактерий в природе и их функциональной активности. Результаты исследований могут быть использованы в биотехнологии и бальнеологии. Полученный экспериментальный материал может быть использован в учебном процессе при чтении курсов «Микробиология», «Экология» и подготовке учебно-методических пособий.

Апробация работы. Результаты исследований были доложены на Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии», Улан-Удэ, 2006; Всероссийской конференции молодых ученых «Экология в современном мире: взгляд научной молодежи», Улан-Удэ, 2007; Молодежной школе-конференции «Актуальные аспекты современной микробиологии», Москва, 2008; Международной научной конференции «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии», Минск, 2008.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ.

Работа выполнена при поддержке грантов Минобразования и науки РФ № РНП 2.1.1/2165, НОЦ «Байкал», Президиума СО РАН № 38 и 95.

Объем и структура диссертации: Материалы диссертации изложены на _____ страницах, включая _____ таблиц и _____ рисунков. Диссертация состоит из разделов «Введение», «Обзор литературы», «Экспериментальная часть», «Заключение», «Выводы» и «Список литературы».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Литературный обзор

В литературном обзоре приведена краткая история исследования термальных источников мира и Байкальского региона. Дана оценка состояния изученности цианобактерий в гидротермах Забайкалья. Рассмотрена роль цианобактерий в продукции органического вещества и влияние факторов среды на развитие цианобактерий. Приведены данные об особенностях роста и развития цианобактерий в зависимости от температуры.

Экспериментальная часть

Методы исследования. Температуру измеряли сенсорным электрометром Prima (Португалия), pH среды - потенциометрическим портативным pH-метром (pHep2, Португалия), общую минерализацию - портативным рефрактометром MASTER-PM (Atago, Япония). Концентрацию основных ионов определяли общепринятыми титриметрическими методами (Алекин и др., 1973).

Пробы воды, микробных матов отбирали в стерильные емкости по общепринятой методике (Водоросли..., 1989). Введение радиоизотопов и фиксацию проб проводили непосредственно на месте. Для определения хлорофилла *a* в пробы добавляли глицерин или 96% спирт (Thompson et al., 1999). Для определения видового состава цианобактерий пробы фиксировали 4% формалином.

Скорости фотосинтеза определяли радиоизотопным методом (Кузнецов, Дубинина, 1989; Полевой практикум, 2006). Определение изотопного состава углерода в микробных матах проводилось при помощи масс-спектрометра МИ-1201 (Есиков, 1980). Анализ проведен к.б.н. Дамбаевым В.Б. (ИОЭБ СО РАН).

Микроскопирование цианобактерий проводили с помощью микроскопа Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия). Определение таксономической принадлежности цианобактерий на основании морфологических признаков проводили по Еленкину, Голлербаху (Еленкин, 1949; Голлербах и др., 1953) и уточняли по Комареку и Анагностидису (Komárek & Anagnostidis, 1999, 2007). Для оценки сходства или различия таксономического спектра цианобактерий был применен коэффициент флористической общности Жаккара, модифицированный Малышевым (Малышев, 1972).

Для получения активных накопительных культур цианобактерий была выбрана модифицированная среда Кастенхольца следующего состава (г/дм³): NaHCO₃ – 0,1; NaCl – 0,008; K₂HPO₄ – 0,1; MgSO₄ · 7H₂O – 0,1; NaNO₃ – 0,6; CaCl₂ -10%, Na₂SiO₄ – 0,2; FeCl₃ – 0,28; раствор микроэлементов «А5» - 1 мл. Раствор микроэлементов «А5» содержал (г/дм³): H₃BVO₃ –

2,86; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ – 1,81; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,22; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ – 0,39; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,08, $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ – 0,05.

Выделение монокультур цианобактерий проводили на агаризованных средах с помощью стереоскопического микроскопа МС-2 (Россия) с увеличением 7х-90х. Температурные диапазоны развития цианобактерий устанавливали в градиентном термостате по описанной ранее методике (Юрков и др., 1991). Градиент рН (7,5 – 10) задавали разными концентрациями бикарбоната и карбоната натрия. Культивирование цианобактерий проводили в условиях лабораторного люминостата с освещением на поверхности среды 2000 лк и при температуре 45°C. Прирост биомассы оценивали в жидкой среде по оптической плотности с помощью спектрофотометра СЕСІL 1021 (США). Продолжительность эксперимента составила от 4 до 8 недель. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 6.0.

Выделение ДНК и амплификация генов 16S рРНК были проведены в ИОЭБ СО РАН. Ген 16S рРНК амплифицировали со специфичным цианобактериальным праймером СУА (5' - AGAGTTGATCCTGGCTCAG - 3') и универсальным эубактериальным праймером 1492г (5' - TACGGYTACCTTGTTACGACTT - 3') (Lane, 1991). Определение нуклеотидной последовательности генов 16S рРНК проводили на автоматическом секвенаторе СЕQ 2000 XL (Beckman Coulter, США) в соответствии с инструкцией.

Объекты и предмет исследования. Объектами исследований являлись термальные азотные гидротермы Северного Забайкалья: Алла, Баунтовский, Гарга, Кучигер, Горячинск, Гусиха, Сея и Уро. Для исследования были отобраны пробы воды и микробных матов в период с 2006 по 2009 гг.

Результаты исследования и обсуждение

Физико-химическая характеристика исследованных источников

Наиболее горячими на выходе была вода гидротерм Алла (79⁰С), Гарга (74⁰С) Гусиха (71,5⁰С) и Уро (69,1⁰С). Температура воды источников Горячинск, Баунтовский и Сея была приблизительно одинаковой (49⁰С - 53⁰С) (табл. 1). Значения рН минеральной воды варьировали от 8,2 до 9,9. Более щелочные рН зарегистрированы в воде гидротерм Алла, Сея и Кучигер. Минерализация воды не превышала 1 г/дм³. Высоким содержанием сероводорода отличались гидротермы Кучигер (25,6 мг/дм³), Баунтовский (17,5 мг/дм³) и Алла (16,5 мг/дм³). В водах Горячинска концентрация сероводорода составляла 5,9 мг/дм³, в источнике Сея – 1,8 мг/дм³, а в остальных гидротермах концентрация сероводорода не превышала 0,1 мг/дм³ (табл. 1).

Изучение катионного состава минеральных вод гидротерм показало преобладание в них щелочных металлов. Содержание ионов магния колеблется от 0,25 до 15,25 мг/дм³. Содержание ионов кальция в водах источников варьирует в пределах 0,37 – 32,06 мг/дм³ (табл. 2).

Исследование анионного состава показало, что в воде большинства источников гидрокарбонаты и сульфаты преобладали над остальными ионами.

Физико-химическая характеристика гидротерм Северного Забайкалья

| Источник | Местоположение | Тип воды | T, °C (на из- ливе) | pH | M*, г/д м ³ | H ₂ S, мг/дм ³ |
|-------------|----------------------|--------------------------------------|---------------------------|------|------------------------------|---|
| Алла | Курумканский район | гидрокарбонатно-сульфатный натриевый | 79,0 | 9,9 | 0,30 | 16,5 |
| Баунтовский | Баунтовский район | гидрокарбонатно-сульфатный натриевый | 53,0 | 8,4 | 0,20 | 17,9- |
| Гарга | Курумканский район | карбонатно-сульфатный натриевый | 74,0 | 8,2 | 0,30 | <0,1 |
| Горячинск | Прибайкальский район | сульфатный натриевый | 53,0 | 9,0 | 0,53 | 5,9 |
| Гусиха | Баргузинский район | сульфатный натриевый | 71,5 | 8,2 | 0,93 | <0,1 |
| Сея | Курумканский район | сульфатно-гидрокарбонатный натриевый | 49,0 | 9,7 | 0,29 | 1,8 |
| Уро | Баргузинский район | сульфатно-гидрокарбонатный натриевый | 69,1 | 8,8 | 0,50 | <0,1 |
| Кучигер | Курумканский район | сульфатно-гидрокарбонатный натриевый | 41 | 9,85 | 0,30 | 25,6 |

Примечание: *M – общая минерализация.

Таблица 2

Катионно-анионный состав воды термальных источников Северного Забайкалья

| Источ- ник | HCO ₃ ⁻ , мг/дм ³ | CO ₃ ²⁻ , мг/дм ³ | Cl, мг/дм ³ | SO ₄ ²⁻ , мг/дм ³ | Ca ²⁺ , мг/дм ³ | Mg ²⁺ , мг/дм ³ | Na мг/дм ³ | K ⁺ , мг/дм ³ |
|------------------|---|---|---------------------------|---|--|--|--------------------------|--|
| Алла | 85,40 | 42,0 | 14,38 | 86,38 | 32,06 | 9,73 | 181,60 | 7,2 |
| Баун- товский | 139,50 | 18,0 | 19,97 | 57,21 | 3,42 | 0,25 | 91,8 | |
| Гарга | 48,80 | 66,0 | 55,03 | 110,53 | 1,38 | 6,37 | 345,53 | 9,8 |
| Горя- чинск | 48,80 | 54,0 | 34,61 | 126,26 | 0,71 | - | - | - |
| Гусиха | 109,80 | 0 | 36,39 | 130,93 | 0,71 | 0 | 76,97 | |
| Сея | 73,20 | 43,2 | 16,51 | 66,45 | 0,37 | 7,29 | - | - |
| Уро | 45,10 | 25,2 | 17,75 | 67,90 | 6,01 | 15,25 | - | - |
| Кучигер | 109,80 | 60,0 | 31,95 | 126,25 | 8,02 | 19,46 | 208,50 | 2,5 |

Примечание: «-» - не определено

Структура циано-бактериальных матов и видовой состав циано-бактерий

Источник Уро. На термальной площадке развиваются микробные маты различной окраски, многослойные, толщиной до 2,5 см. В данном источнике выделено 8 типов микробных сообществ и объединены в 4 зоны, согласно температуре. Всего в матах обнаружено 10 видов цианобактерий. С уменьшением температуры наблюдается смена доминирующих цианобактерий. При температурах выше 40°C доминирует нитчатая цианобактерия *Leptolyngbya laminosa*, содоминантом которой является *Komvophoron jovis*, более характерная для нейтральных гидротерм. Ее присутствие может быть объяснено относительно невысоким значением pH воды в источнике Уро. При снижении температуры ниже 40°C происходит смена доминирующих цианобактерий, возрастает роль *Oscillatoria limosa* (табл. 3).

Источник Баунтовский. В данном источнике обнаружено максимальное количество видов и разновидностей цианобактерий (16 видов), что, вероятно связано со слабым течением воды и температурой (28-47°C). При температуре около 40°C микробные маты имеют ярко-изумрудный цвет, где доминирующим родом является *Leptolyngbya*. При понижении температуры до 38°C появляются белые нитевидные маты, представленные серными бактериями морфотипа *Thiothrix*. При низких концентрациях сероводорода и температуре 30°C формообразующими видами являются цианобактерии родов *Leptolyngbya* (5 видов). Реже встречаются рода *Synechocystis*, *Microcoleus*, *Gloeocapsa*, *Anabaena*, *Oscillatoria*. В местах, где наблюдалось слабое течение воды, развивались маты, с доминированием цианобактерий *Planktolyngbya contorta* (табл. 3).

Источник Алла. В микробных матах при температуре 65°C обнаружены 2 вида цианобактерий *Synechococcus bigranulatus* Skuja и *Leptolyngbya laminosa*. При низких значениях температуры основу матов составляют нитчатые цианобактерии *Leptolyngbya* (табл. 3).

Источник Горячинск. Циано-бактериальные маты в источнике Горячинск в основном состояли из семейства осцилаториевых: *Leptolyngbya fragile*, *Leptolyngbya angustissima*, *Leptolyngbya fragilis*, *Leptolyngbya frigida*, *Leptolyngbya foveolarum*, *Oscillatoria limosa*, *Pseudanabaena papillaterminata*, *Planktolyngbya contorta*. Наибольшее видовое разнообразие цианобактерий отмечено в феврале – 7 видов, наименьшее – весной и осенью (табл. 3).

Доминирующие виды цианобактерий микробных матов гидротерм
Северного Забайкалья

| Источ-ник | Стан-ция | T, °C | Доминирующие виды цианобактерий |
|-----------|----------------------|-------|---|
| Алла | 1 | 50-65 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Synechococcus bigranulatus</i> Skuja. |
| | 2 | 24-45 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Leptolyngbya woronichinii</i> , <i>Leptolyngbya frigida</i> , <i>Geitlerinema amphibium</i> , <i>Gloeocapsa minuta</i> , <i>Microcystis firma</i> . |
| | 3 | 20-35 | <i>Leptolyngbya woronichinii</i> |
| | Пра- вый берег | 45 | <i>Synechococcus bigranulatus</i> Skuja, <i>Leptolyngbya woronichinii</i> , <i>Gloeocapsa minuta</i> , <i>Microcystis firma</i> , <i>Planktolyngbya holsatica</i> , <i>Heteroleibleinia kuetzingii</i> . |
| | Пра- вый | 55 | <i>Synechococcus bigranulatus</i> Skuja, <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Leptolyngbya woronichinii</i> . |
| Гагра | 2 | 57 | <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Anabaena contorta</i> , <i>Synechococcus lividus</i> . |
| | 3 | 45-54 | <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Anabaena contorta</i> , <i>Anabaena minutissima</i> , <i>Synechococcus lividus</i> , <i>Synechococcus bigranulatus</i> Skuja. |
| | 4 | 30-44 | <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Anabaena contorta</i> , <i>Anabaena minutissima</i> , <i>Phormidium valderie</i> f. <i>tenuis</i> , <i>Phormidium molle</i> , <i>Oscillatoria tambi</i> f. <i>uralescens</i> , <i>Lyngbya aestuarii</i> , <i>Microcystis pulvereis</i> , <i>Gloeocapsa minuta</i> . |
| Гусиха | 1 | 40-50 | <i>Leptolyngbya tenuis</i> , <i>Leptolyngbya fragilis</i> , <i>Leptolyngbya frigida</i> , <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Komvophoron jovis</i> . |
| | 2 | 50-60 | <i>Synechococcus bigranulatus</i> Skuja, <i>Leptolyngbya tenuis</i> , <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Komvophoron jovis</i> . |
| Сея | Озеро | 49,7 | <i>Synechococcus lividus</i> , <i>Leptolyngbya laminosa</i> <i>Phormidium valderie</i> f. <i>pseudovalderianum</i> , <i>Synechococcus lividus</i> . |
| | Ручей | 47-49 | <i>Phormidium valderie</i> f. <i>pseudovalderianum</i> . |
| | Ручей | 43-47 | <i>Leptolyngbya woronichinii</i> , <i>Lyngbya aestuarii</i> , <i>Gloeocapsa minuta</i> , <i>Gloeocapsa minor</i> , <i>Phormidium valderie</i> f. <i>pseudovalderianum</i> , <i>Gloeocapsa punctata</i> , <i>Calothrix sp1</i> , <i>Gloeocapsa minor</i> , <i>Gloeocapsa minima</i> , <i>Calothrix sp2</i> . |
| Уро | 1 | 66-69 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> . |
| | 2 | 60-65 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Synechococcus lividus</i> , <i>Pleurocapsa sp.</i> , <i>Komvophoron jovis</i> , <i>Leptolyngbya fragilis</i> , <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Synechococcus lividus</i> . |
| | 3 | 45-50 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Synechococcus lividus</i> , <i>Komvophoron jovis</i> , <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Leptolyngbya fragilis</i> , <i>Calothrix elenkinii</i> . |
| | 4 | 35-40 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Leptolyngbya fragilis</i> , <i>Oscillatoria chalybea</i> , <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Calotrix elenkinii</i> , <i>Komvophoron jovis</i> , <i>Calotrix parietina</i> . |

| | | | |
|-----------------------|----|----|--|
| Баун- тов- ский | 2 | 47 | <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Leptolyngbya fragilis</i> , <i>Anabaena contorta</i> . |
| | 4 | 38 | <i>Planktolyngbya contorta</i> . |
| | 5 | 43 | <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Anabaena contorta</i> . |
| | 6 | 40 | <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Planktolyngbya contorta</i> , <i>Gloeocapsa minuta</i> , <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Leptolyngbya frigida</i> , <i>Leptolyngbya laminosa</i> . |
| | 7 | 35 | <i>Planktolyngbya contorta</i> , <i>Gloeocapsa minor</i> . |
| | 8 | 34 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Planktolyngbya contorta</i> , <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Gloeocapsa minor</i> . |
| | 9 | 28 | <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Microcystis firma</i> . |
| | 10 | 40 | <i>Leptolyngbya frigida</i> , <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Microcystis firma</i> , <i>Gloeocapsa punctata</i> , <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Oscillatoria annae</i> , <i>Gloeocapsa minor</i> , <i>Gloeocapsa minuta</i> , <i>Leptolyngbya foveolarum</i> , <i>Gloeotrichia echinulata lintermedia</i> . |
| Горя- чинск | 1 | 53 | <i>Leptolyngbya frigida</i> , <i>Anabaena variabilis</i> , <i>Calothrix clavata</i> , <i>Oscillatoria limosa</i> , <i>Leptolyngbya laminosa</i> . |
| | 2 | 43 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> , <i>Leptolyngbya angustissima</i> , <i>Leptolyngbya fragilis</i> , <i>Pseudanabaena papillaterminata</i> . |

Источник Гарга. Расположение микробных матов в источнике Гарга было различным, в связи с периодическими изменениям русла источника и литификацией микробного мата. Тем не менее, типы микробных сообществ в различных температурных зонах источника были неизменными. При температуре 57°C, рН 8,4 и при практическом отсутствии сульфида в воде по дну русла источника преобладает цианобактерия *Leptolyngbya angustissima*. В меньшем количестве встречаются цианобактерии *Anabaena contorta* и *Synechococcus lividus* (табл. 3).

Источник Гусиха. В источнике Гусиха при температуре от 40 до 50°C развивается тонкий рыхлый желто-зеленый микробный мат толщиной 0,2 см. В настоящее время в данном источнике известны представители двух классов цианобактерий *Chroococcophyceae* (1 вид) и *Hormogoniophyceae* (6 видов) (табл. 3).

Источник Сея. Состав микробных сообществ источника Сея формируется под воздействием ряда физико-химических условий среды, прежде всего, температуры, рН и содержания сероводорода. Видовой состав цианобактерий включает термо- и мезофильные виды цианобактерий, типичные для микробных сообществ гидротерм. На дне озера и на его поверхности развиваются циано-бактериальные маты, где преобладают *Leptolyngbya* и *Oscillatoria*. Матообразующими организмами являются нитчатые цианобактерии рода *Leptolyngbya*. При понижении температуры и уменьшении концентрации сероводорода состав сообщества расширяется в пользу одноклеточных колониальных форм цианобактерий рода *Gloeocapsa* и крупных представителей *Lyngbya* (табл. 3).

В исследованных источниках обнаружено 41 вид и разновидность цианобактерий. Наибольшее их количество зарегистрировано в источнике Баунтовский (16 видов), наименьшее – в источнике Гусиха (7 видов). В высокотемпературных источниках Алла, Гарга и Уро обнаружено одинаковое количество видов цианобактерий (10 видов). В источниках Горячинск и Сея обнаружено по 11 видов (табл. 4).

Ведущим классом является *Hormogoniophyceae*, включающий 30 видов, менее разнообразно представлен класс *Chamaesiphonophyceae* (1 вид). По богатству видового состава следует выделить роды: *Leptolyngbya* (8 видов), *Calothrix* (по 5 видов), *Gloeocapsa* (по 4 вида).

Большинство обнаруженных нами видов цианобактерий ранее были выявлены в гидротермах Северного Забайкалья (Брянская и др., 2006). Наши исследования позволили дополнить и уточнить имеющийся список цианобактерий еще 16 широко распространенными, но ранее не отмеченными видами и разновидностями. Из них 5 относятся к роду *Leptolyngbya*: *Leptolyngbya angustissima*, *Leptolyngbya laminosa*, *Leptolyngbya frigida*, *Leptolyngbya foveolarum*, *Leptolyngbya fragilis*, остальные представлены по одному виду *Planktolyngbya contorta*, *Gloeocapsa minuta*, *Anabaena variabilis*, *Calothrix clavata*, *Oscillatoria limosa*, *Pseudanabaena papillaterminata*, *Microcystis firma*, *Oscillatoria limosa*, *Gloeotrichia echinulata*.

Таблица 4

Таксономический спектр цианобактерий изученных источников

| № | Таксоны | Гидротермы | | | | | | |
|----|---|------------|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 1 | <i>Anabaena contorta</i> Bachm | | + | + | | | | |
| 2 | <i>Anabaena minutissima</i> Lemmermann | | | + | | | | |
| 3 | <i>Anabaena variabilis</i> Kütz. | | | | + | | | |
| 4 | <i>Calothrix Elenkii</i> Kossinsk. | | | | | | | + |
| 5 | <i>Calothrix sp1</i> | + | | | | | + | |
| 6 | <i>Calothrix clavata</i> A.S. West | | | | + | | | |
| 7 | <i>Calothrix sp2</i> | | | | | | + | |
| 8 | <i>Calothrix parietina</i> (Näg.) Thur. | | | | | | | + |
| 9 | <i>Gloeocapsa minima</i> (Keissl.) Hollerb. | | | | | | + | |
| 10 | <i>Gloeocapsa minuta</i> (Kütz.) Hollerb. | + | + | + | | | + | |
| 11 | <i>Gloeocapsa minor</i> (Kütz.) Hollerb. | | + | | | | + | + |
| 12 | <i>Gloeocapsa punctata</i> Näg. Hollerb. | | + | | | | + | |
| 13 | <i>Gloeotrichia echinulata</i> (J. S. Smith) P. Richt. | | + | | | | | |
| 14 | <i>Lyngbya aestuarii</i> (Mert.) Liebm. | | | + | | | + | |
| 15 | <i>Planktolyngbya contorta</i> (Lemmermann) <i>Anagnostidis</i> et Komárek | | + | | + | | | |
| 16 | <i>Planktolyngbya holsatica</i> (Lemm.) <i>Anagnostidis</i> et Komárek | + | | | | | | |
| 17 | <i>Heteroleibleinia kuetzingii</i> (Schmidle) | + | | | | | | |

| | | | | | | | | |
|-------|---|----|----|----|----|---|----|----|
| | Compere | | | | | | | |
| 18 | <i>Komvophoron jovis</i> (Copeland) Anagnostidis et Komárek | | | | + | + | | + |
| 19 | <i>Microcystis pulverea</i> (Wood) Forti emend. Elenk. | | | + | | | | |
| 20 | <i>Microcystis firma</i> (Breb.et Lenorm.) Schmidle | + | + | | + | | | |
| 21 | <i>Microcoleus sp.</i> | | + | | | | | |
| 22 | <i>Geitlerinema amphibium</i> (Agardh ex Gomont) Anagnost. | + | | | | | | |
| 23 | <i>Phormidium chalybeum</i> (Mertens ex Gomont) Anagnostidis et Komárek | | | | | | | + |
| 24 | <i>Oscillatoria limosa</i> Agardh | | + | | + | + | | + |
| 25 | <i>Oscillatoria annae</i> van Goor | | + | | | | | |
| 26 | <i>Oscillatoria tambi f. uralescens</i> Woronich | | | + | | | | |
| 27 | <i>Phormidium molle</i> (Kütz.) Gom. | | | + | | | | |
| 28 | <i>Leptolyngbya angustissima</i> (W. et G. S. West) Anagnostidis et Komárek | | + | + | + | | | |
| 29 | <i>Leptolyngbya valderie f. pseudovalderianum</i> | | | | | | + | |
| 30 | <i>Leptolyngbya fragilis</i> (Gomont) Anagnostidis et Komárek | | + | | + | + | | + |
| 31 | <i>Leptolyngbya frigida</i> (Fritsch) Anagnostidis et Komárek | + | + | | + | + | | |
| 32 | <i>Leptolyngbya laminosa</i> (Gomont) Anagnostidis et Komárek | + | + | | | + | + | + |
| 33 | <i>Leptolyngbya foveolarum</i> (Rabenhorst ex Gomont) Anagnostidis et Komárek | | + | | + | | | |
| 34 | <i>Pseudanabaena papillaterminata</i> (Kiselev) Kukk | | | | + | | | |
| 35 | <i>Leptolyngbya tenuis</i> (Gomont) Anagnostidis et Komárek | | | | | + | | |
| 36 | <i>Phormidium valderie f. tenue</i> (Delp.) Geitl | | | + | | | | |
| 37 | <i>Leptolyngbya woronichinii</i> (Anisimova) Anagnostidis et Komárek. | + | | | | | + | |
| 38 | <i>Pleurocapsa sp.</i> | | | | | | | + |
| 39 | <i>Synechocystis minuscula</i> Woronich | | + | | | | | |
| 40 | <i>Synechococcus lividus</i> Hollerb. | | | + | | | + | + |
| 41 | <i>Synechococcus bigranulatus</i> Skuja (Näg.) | + | | + | | + | | |
| Всего | | 10 | 16 | 11 | 11 | 7 | 11 | 10 |

Примечание: 1 – Алла, 2 – Баунтовский, 3 – Гарга, 4 – Горячинск, 5 – Гусиха, 6 – Сея, 7 – Уро.

Статистический анализ распределения таксонов цианобактерий в гидротермах

С помощью коэффициента флористической общности Жаккара (κ) были проанализированы спектры встречаемости таксонов цианобактерий в горячих источниках Северного Забайкалья. Сравнение сходства сообществ проведено в координатах: виды, роды – температура 30-40; 40-50; 50-60°C.

На видовом уровне между сообществами различных источников коэффициенты сходства варьировали ($k = 0,0 - 0,36$). Для сообществ одного

источника, развивающихся при разных температурах k составляет от 0 до 0,60. В случаях, когда сходства между циано-бактериальными комплексами гидротерм значительно, они объединяются в кластеры (рис. 1).

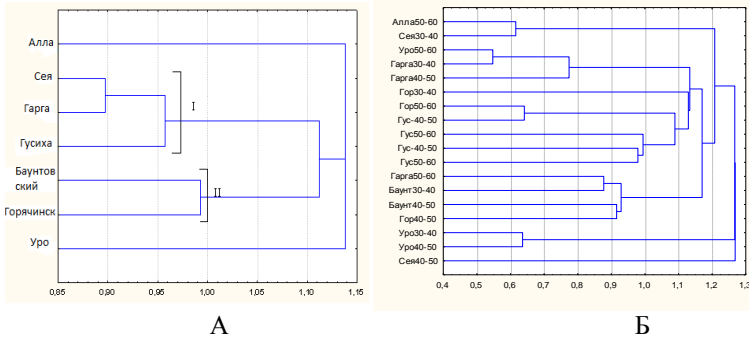


Рис. 1. Дендрограмма кластерного анализа для комплексов цианобактерий гидротерм (по оси Y – сходства для видовых спектров (А), в спектрах виды-температура (Б); по оси X – Евклидовое расстояние). I, II – кластеры.

Из дендрограммы видно, что все исследованные источники по представленным в них цианобактериальным комплексам объединяются в два кластера, за исключением источников Уро и Алла (рис. 1 А). Это обусловлено преобладанием в источнике Алла нитчатых форм цианобактерий родов *Phormidium*, *Oscillatoria* и одноклеточных форм цианобактерий родов *Synechococcus*, *Calothrix* и *Gloeocapsa* в Уро. В I кластер вошли высокотемпературные источники – Гарга (74°C) и Гусиха (71,5°C), исключением является источник Сея (49°C). Во II кластер – среднетемпературные источники, Баунтовский (53°C) и Горячинск (53°C).

Изменение k по градиенту температур внутри источников сообществ составляет 0,0-0,60. Максимальный коэффициент сходства отмечен для источника Уро, а минимальный – источника Алла. Максимальный коэффициент сходства отмечен между сообществами различных источников, развивающихся в температурном диапазоне 40-50°C $k=0-0,36$ (для диапазонов 30-40°C - $k = 0-0,29$; 50-60°C - $k = 0-0,33$) (рис. 1 Б).

Функциональная активность продуцентов исследуемых источников

Скорость продукционных процессов в циано-бактериальных матах.

В термальных источниках высокие значения температуры ограничивают развитие высших форм жизни, поэтому первичными продуцентами в них являются цианобактерии и фотобактерии. Максимальное количество хлорофилла a в матах гидротерм было отмечено в источнике Уро в температурном диапазоне 45-50°C (429 мг/м²), при более высоких температурах

(60-65°C) его значения были невелики (44,73 мг/м²). При температуре 34-35°C содержание хлорофилла *a* достигало 463,2 мг/м². Максимальная скорость окислительного фотосинтеза составляет 3,5 г С/м² сут. С понижением температуры активность продукционных процессов возрастает. Наибольшей продуктивностью в исследованных источниках обладают микробные маты развивающиеся при температуре ниже 50°C. В источниках Гарга, Сея и Уро, с невысоким содержанием сульфида, наиболее продуктивными являются микробные маты из температурных зон: 45-50°C (табл. 5).

Таблица 5

Скорость продукционных процессов и содержание хлорофилла *a*
в микробных сообществах гидротерм

| Источник | Станции | T°C | Хлорофилл <i>a</i> , мг/м ² | Скорости окислительного фотосинтеза, гС/ (м ² сут) |
|----------|---------|-------|---|--|
| Сея | - | 30-50 | 15-70 | 0,06-3,5 |
| Алла | - | 24-65 | 138-352 | 0,01-0,08 |
| Гарга | - | 30-65 | 5,9-430 | 0,01-1,29 |
| Уро | 1 | 60-65 | 3,1-45 | 0,01-0,02 |
| | 3 | 45-50 | 4,2-893 | 0,02-3,5 |
| | 4 | 35-40 | 6,7-462 | 0,02-3,3 |

Изотопный состав углерода циано-бактериальных матов

Исследован изотопный состав углерода органического вещества (ОВ) и карбонатов циано-бактериальных матов термальных источников Гарга, Сея и Алла. Микроорганизмы-продуценты используют, в первую очередь, изотопно-легкий ¹²C. Поэтому, органический углерод микробных матов обеднен изотопно-тяжелой формой ¹³C (Зякун, 1994). Сравнительный анализ изотопного состава углерода термофильных матов показал, что δ¹³C ОВ варьирует от - 6,92 ‰ до - 23,89 ‰ (табл. 6). Наиболее легкие значения δ¹³C органического вещества матов измерены в ручье источников Алла и Сея. Карбонаты микробных матов термальных источников в целом отяжелены углеродом δ¹²C.

Таблица 6

Изотопный состав углерода циано-бактериальных матов
термальных источниках Северного Забайкалья, ‰

| Источник | Место отбора | Станции | δ ¹³ C ОВ | δ ¹³ C карбонаты | Δ δ |
|----------|--------------|---------|----------------------|-----------------------------|--------|
| Гарга | Левое русло | 4 | -9,99 | +2,96 | +12,95 |
| | Левое русло | 11 | -15,29 | +0,21 | +15,50 |
| | Правое русло | 1 | -7,17 | -5,11 | +2,06 |

| | | | | | |
|------|-------|---|--------|-------|--------|
| Алла | Ручей | 3 | -15,62 | +1,73 | +17,35 |
| | Ручей | 2 | -19,46 | -8,58 | 10,88 |
| Сея | Озеро | 1 | -6,92 | +1,70 | +8,62 |
| | Озеро | 2 | -13,28 | +1,70 | +14,98 |
| | Ручей | 4 | -23,89 | - | - |

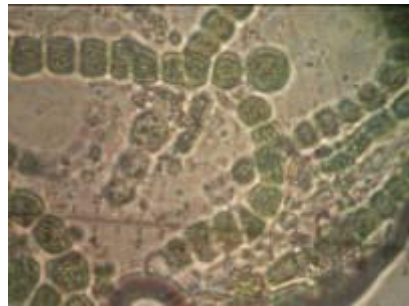
Экофизиология и систематическое положение цианобактерий

Систематическое положение цианобактерий

Из циано-бактериальных матов гидротерм Северного Забайкалья было получено пять монокультур (Суа 1, Суа 2, Суа 3, Суа 4 и Суа 5) (табл. 7). Две культуры (Суа 4 и 5) отнесены к порядку *Nostocales* (семейство *Anabaenaceae* и *Rivulariaceae*), культуры (Суа 1) – к порядку *Chroococcales* (семейство *Coccobacreaeae*), одна культура (Суа 2) – к порядку *Mastigocladales* (семейство *Mastigocladaceae*), культуры (Суа 3) к порядку *Oscillatoriales* (семейство *Oscillatoriaceae*). Молекулярно-генетический анализ показал, что культура Суа 1 относится к роду *Synechococcus*.



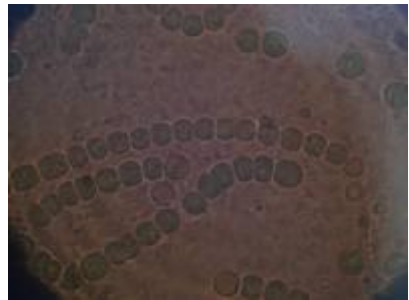
А



Б



В



Г

Рис. 2. Фото культуры цианобактерий, шкала 10 мкм: А – Суа 5, Б – Суа 2, В – Суа 3, Г – Суа 4.

Культуры цианобактерий, выделенные из гидротерм Северного Забайкалья

| Культура | Источники | Классификация по Еленкину (1949), Голлербах и др. (1953) | Классификация по Komárek&Anagnostidis (1999, 2007) |
|----------|-----------|--|--|
| Суа 1 | Гарга | <i>Synechococcus elongates</i> Nag | <i>Synechococcus bigranulatus Skuja</i> |
| Суа 2 | Уро | <i>Mastigocladus Laminosus</i> | <i>Komvophoron jovis</i> |
| Суа 3 | Кучигер | <i>Phormidium Laminosum</i> | <i>Leptolyngbya laminosa</i> |
| Суа 4 | Горячинск | <i>Anabaena variabilis rotundospora</i> | - |
| Суа5 | Горячинск | <i>Calothrix clavata</i> A.S. West | - |

Культура Суа 1 была выделена из циано-бактериальных матов источника Гарга и по морфологическим характеристикам относится *Synechococcus elongates* Nag (Еленкин, 1949) или *Synechococcus bigranulatus Skuja* (Komárek & Anagnostidis, 2007).

Культура Суа 2, выделенная из циано-бактериального мата высоко-температурного источника Уро, по морфологии была идентифицирована как *Mastigocladus Laminosus* (Еленкин, 1949) или как *Komvophoron jovis* (Komárek & Anagnostidis, 1998).

Культура Суа 3 выделена из циано-бактериального мата источника Кучигер и была идентифицирована как *Phormidium Laminosum* (Голлербах и др., 1953) или *Leptolyngbya laminosa* (Komárek & Anagnostidis, 1998).

Культура Суа 4 выделена из источника Горячинск и определена как *Anabaena variabilis rotundospora* (Голлербах и др., 1953).

Культура Суа 5, выделенная из источника Горячинск, была идентифицирована как *Calothrix clavata* A.S. West.

Особенности роста культур цианобактерий при различных значениях температуры, pH и содержания сероводорода

Культура Суа 2 относится к классу Гормогониевые (*Hormogoneae*). Максимальный уровень прироста биомассы цианобактерии наблюдался при температуре 50°C (рис. 3). Рост культуры продолжался вплоть до 25°C, но менее интенсивно. При температуре выше 60°C происходило отмирание культуры.

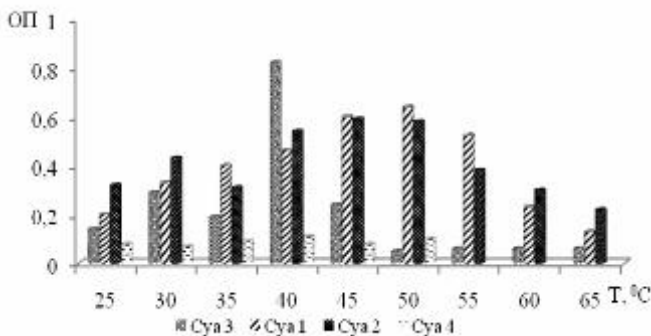


Рис. 3. Выход биомассы культур при различных температурах.

Таким образом, обнаруженный в источнике Уро и выделенный в культуру вид *Mastigocladus Laminosus* (Еленкин, 1949) или как *Komvophoron jovis* (Komárek & Anagnostidis, 1998) проявляет свойства, характерные для термофильной цианобактерии. Максимальное накопление биомассы отмечено в диапазоне рН 9-10.

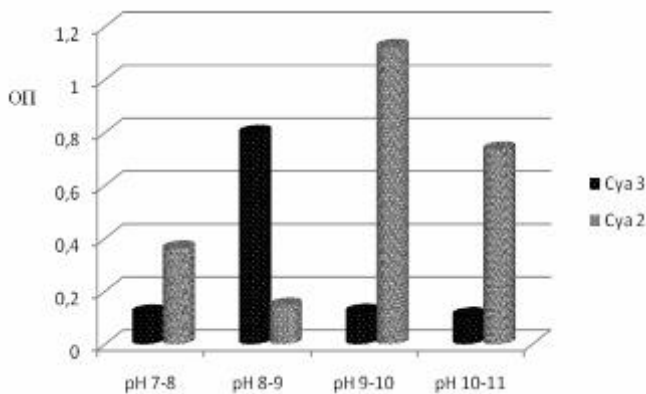


Рис. 4. Выход биомассы культур при различных значениях рН.

Культура Cya 3 имела температурный оптимум развития при 40°C (рис. 3). При температуре 45°C практически полностью угнетался рост. Оптимум рН данной культуры составляет 8- 9 (рис. 4).

Культура Cya 4 имела диапазон развития при температуре от 25 до 45°C (рис. 3.). При дальнейшем увеличении температуры рост не наблюдался. Наибольший прирост биомассы приходился на 41°C.

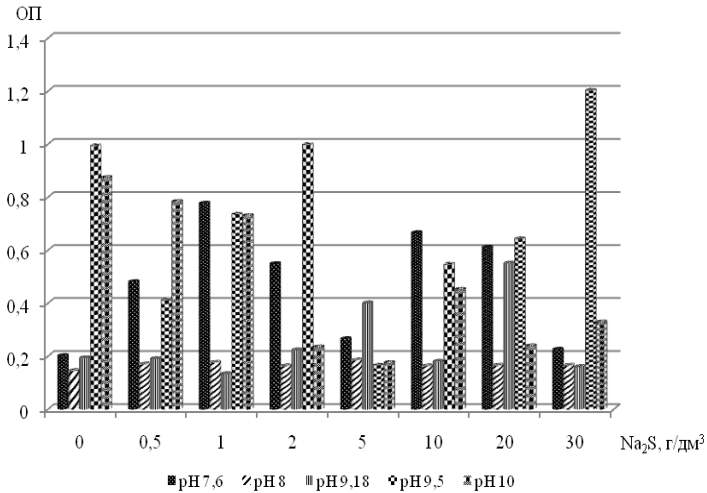


Рис. 5. Выход биомассы культуры Суа 1 в градиенте pH- Na₂S.

Температурный оптимум развития культуры Суа 1 приходился на 50°C. При значении pH 7,6 происходит задержка роста и развития культуры. При pH 9,18 весь сероводород переходит в гидросульфид – ион и как видно из рис.5 повышается скорость накопление биомассы культуры. При pH 9,5 наблюдался прирост, что может быть объяснено снижением токсичности сероводорода при повышении значений pH. Оптимальные значения pH и Na₂S для данной культуры составляют 9,5 и 20 мг/дм³ (рис. 5).

Проведенные исследования позволили установить, что выделенные культуры цианобактерий были представлены мезофильными и термофильными алкалофилами.

ВЫВОДЫ

1. Развитие цианобактерий, участвующих в формировании микробных матов в гидротермах Северного Забайкалья, наблюдалось при температуре от 24 до 65°C, pH от 8,20 до 9,9 и содержание сероводорода до 30 мг/дм³.
2. В гидротермах обнаружено 41 вид и разновидность цианобактерий. В циано-бактериальном сообществе доминировали представители *Oscillatoriales* и *Chroococcales*. Наибольшее видовое разнообразие цианобактерий отмечено в горячих источниках Баунтовский (16 видов) и Сея (11 видов).

3. В гидротермах с понижением температуры происходило изменение видового состава циано-бактериального сообщества, как в качественном, так и в количественном отношении. Максимальное разнообразие отмечено при температуре 35-40°C, минимальное при температуре 65-69°C. Каждому температурному интервалу соответствовал определенный тип сообщества.
4. Наиболее продуктивными являются циано-бактериальные сообщества, развивающиеся в температурном диапазоне 35-50°C. Концентрация хлорофилла *a* составляет 3,1-893 мг/м². Максимальная скорость оксигенного фотосинтеза достигает 3,65 г С/м² сут. Цианобактерии для синтеза органического вещества используют в основном вулканогенную и атмосферную углекислоту.
5. Для сообществ одного источника, развивающихся при различных температурах, коэффициент Жаккара составляет от 0,10 до 0,75. Максимальный коэффициент сходства отмечен для источника Уро, а минимальный – для источника Алла. Максимальный коэффициент сходства отмечен между сообществами различных источников, развивающихся в температурном диапазоне 40-50°C.
6. Выделены и описаны пять альгологически чистые культуры цианобактерий, которые были определены как *Komvophoron jovis*, *Synechococcus bigranulatus Skuja*, *Leptolyngbya laminose*, *Anabaena variabilis*, *Calothrix clavata A.S. West*.
7. Изученные монокультуры цианобактерий относятся к мезофильным и термофильным алкалофилам. Оптимумы их развития рН 8,5-9,5 и температура 45-50°C, что соответствуют или близки к условиям в местах отбора проб.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации

1. Доржиева Г. С.-С. Гидрохимическая характеристика и описание циано-бактериальных матов источников Северного Прибайкалья / Г. С.-С. Доржиева, З.М. Потапова, А.В. Брянская, Т.Г. Банзаракцаева, В.В. Хяхинов // Вестник БГУ. Сер. Биология. Улан-Удэ, 2007. Вып. 2. С. 10-14.
2. Потапова З.М. Температурные параметры роста культур *Mastigocladus laminosus* и *Phormidium laminosum*, выделенных их термальных источников Уро и Кучигер (Прибайкалье) / З. М. Потапова, А.В. Брянская // Вестник БГУ. Сер. Биология. Улан-Удэ, 2008. Вып. 4. С. 75-77.
3. Тудупов А.В. Гидрохимические показатели щелочных гидротерм Прибайкалья / А.В. Тудупов, З.М. Потапова, Э.П. Дашиева, Д.Д. Бархутова // Вестник БГУ. Сер. Химия. Улан-Удэ, 2008. Вып. 3. С. 42-45.
4. Потапова З.М. Влияние температуры на распределение цианобактерий в гидротермах Северного Прибайкалья / З. М. Потапова, А.В. Брянская // Вестник ИГУ. Сер. Биология. Улан-Удэ, 2008. Вып. 2. С. 10-14
5. Потапова З.М. Влияние температуры на содержание хлорофилл «а» в термальных источниках Уро и Горячинск / З.М. Потапова, А.В. Тудупов, Д.Д.

- Цыренова, Д.Д. Бархутова // Вестник БГУ. Сер. Химия. Улан-Удэ, 2009. Вып. 3. С. 27-31.
8. Потапова З.М. Экофизиология накопительной культуры, выделенной из термального источника Уро / З.М. Потапова, Б.Б. Намсараев // Вестник БГУ. Сер. Биология. Улан-Удэ, 2009. Вып. 5. С. 10-14
 9. Потапова З.М. Разнообразие термофильных цианобактерий щелочных гидротерм Прибайкалья / З.М. Потапова, Д.Д. Балданова // Экология в современном мире: тез. взгляд научной молодежи. Материалы Всероссийской конференции молодых ученых, Улан-Удэ, 2007. Т.2. С. 206
 10. Потапова З.М. Влияние температуры на рост цианобактерий гидротерм Прибайкалья / З.М. Потапова, А.В. Брянская, Б.Б. Намсараев // Актуальные аспекты современной микробиологии: молодежная школа-конференция. / Ин-т микробиологии. – М., 2008.
 11. Балданова Д.Д. Алкалофильные и термофильные цианобактерии экстремальных экосистем Забайкалья / З.М. Потапова, Д.Д. Балданова // Международная научная конференция «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии» - Минск, 2008. С
 12. Потапова З.М. Цианобактериальные сообщества гидротерм Прибайкалья. Экология в современном мире: взгляд научной молодежи / З.М. Потапова, Д.Д. Балданова, А.В. Брянская // Материалы международной научной школы-конференции студентов и молодых ученых. Вып., 2006 Т.1.

Св-во РПУ-У №1020300970106 от 08.10.02.

Подписано в печать 19.02.10. Формат 60×84¹/₁₆.
Усл.-печ. л. 1,2. Тираж 100. Заказ 671.

Издательство Бурятского госуниверситета
670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24 а