

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ЛИМНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи

ГАЛАЧЬЯНЦ АГНИЯ ДМИТРИЕВНА

**ПОВЕРХНОСТНЫЙ МИКРОСЛОЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ:
ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ, ЧИСЛЕННОСТЬ И АКТИВНОСТЬ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ**

03.02.08 – экология
(биологические науки)

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
В.В. Дрюккер

Иркутск, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Физико-химическая характеристика поверхностного микрослоя воды.....	12
1.1.1. Толщина поверхностного микрослоя воды.....	12
1.1.2. Состав и структура поверхностного микрослоя воды.....	17
1.1.3. Роль поверхностного микрослоя воды в газообмене.....	21
1.2. Методы отбора проб поверхностного микрослоя воды.....	22
1.2.1. Устройства для отбора проб поверхностного микрослоя воды	22
1.2.2. Сравнение различных методик пробоотбора.....	25
1.3. Эколого-биологические особенности поверхностного микрослоя воды.....	28
1.3.1. Методы изучения микробных сообществ поверхностного микрослоя воды.....	29
1.3.2. Разница в составе, численности и активности микробных сообществ поверхностного микрослоя и подповерхностного слоя воды.....	31
1.3.3. Фитонейстон.....	34
1.4. Роль микроорганизмов в функционировании экосистемы поверхностного микрослоя воды.....	35
1.4.1. Участие микробных сообществ поверхностного микрослоя воды в газообмене.....	36
1.4.2. Адаптация микробных сообществ поверхностного микрослоя воды к УФ излучению.....	38
1.5. Эколого-географическая характеристика озера Байкал.....	41

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
2.1. Объекты исследования и отбор проб поверхностного микрослоя воды.....	44
2.2. Культивирование гетеротрофных бактерий.....	47
2.3. Изучение морфологических признаков гетеротрофных бактерий..	47
2.3.1. Световая и эпифлюоресцентная микроскопия.....	47
2.4. Изучение физиолого-биохимических признаков гетеротрофных бактерий.....	48
2.4.1. Изучение способности бактерий утилизировать моно- и дисахариды, спирты, аминокислоты.....	48
2.4.2. Определение активности внеклеточных ферментов.....	49
2.5. Молекулярно-генетические методы исследования микробных сообществ поверхностного микрослоя воды.....	51
2.5.1. Выделение геномной ДНК.....	51
2.5.2. Полимеразная цепная реакция	52
2.5.3. Секвенирование по Сэнгеру и филогенетический анализ.....	52
2.5.4. Метагеномный анализ ампликонов.....	53
2.6. Биоинформационный анализ и статистическая обработка данных	54
ГЛАВА 3. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЧИСЛЕННОСТЬ БАКТЕРИЙ В ПОВЕРХНОСТНОМ МИКРОСЛОЕ ВОДЫ ОЗЕРА БАЙКАЛ.....	56
3.1. Адаптация методов отбора проб поверхностного микрослоя воды в условиях озера Байкал.....	56
3.1.1. Оценка толщины забираемого поверхностного микрослоя воды с помощью разного инструментария для пробоотбора.....	56

3.1.2. Количественная характеристика бактериальных сообществ поверхностного микрослоя воды озера Байкал при отборе проб сеткой и фильтрами.....	58
3.2. Распределение общей численности бактерий и численности культивируемых гетеротрофных бактерий в поверхностном микрослое и подповерхностном слое воды озера Байкал.....	60
3.3. Влияние физических факторов на численность бактерий в поверхностном микрослое и подповерхностном слое воды озера Байкал.....	66
3.4. Физико-химические особенности поверхностного микрослоя воды озера Байкал.....	69
ГЛАВА 4. ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОВЕРХНОСТНОГО МИКРОСЛОЯ ВОДЫ ОЗЕРА БАЙКАЛ ПО ДАННЫМ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ.....	73
4.1. Состав бактериальных сообществ поверхностного микрослоя воды озера Байкал в весенний и летний периоды.....	73
4.2. Эукариоты поверхностного микрослоя воды озера Байкал, детектированные по последовательностям гена 16S рДНК хлоропластов.....	94
ГЛАВА 5. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ ПОВЕРХНОСТНОГО МИКРОСЛОЯ ВОДЫ ОЗЕРА БАЙКАЛ.....	97
5.1. Разнообразие и физиолого-биохимические свойства гетеротрофных бактерий, выделенных из поверхностного микрослоя воды озера Байкал.....	97
5.2. Ферментативная активность бактериальных сообществ поверхностного микрослоя озера Байкал.....	107
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	110

ВЫВОДЫ.....	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	142
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	143

ВВЕДЕНИЕ

Водный поверхностный микрослой (ПМС) является физической границей между гидросферой и атмосферой. ПМС характеризуется незначительной толщиной, не превышающей нескольких десятков микрометров, тем не менее, он резко отличается от водной толщи по физико-химическим характеристикам и содержит большое количество органических соединений, таких как липиды, белки и полисахариды (Гладышев, 1993; Лапшин, 2004; Zhang et al., 1998, 2003; The sea surface..., 2005). Поверхностный микрослой занимает около 70% земной поверхности, покрывая все без исключения водоемы, как морские, так и пресные. В связи с особенностями расположения ПМС подвержен сильному влиянию климатических и погодных явлений таких, как солнечная радиация, ветер, осадки, изменения температуры и т.п.; здесь в высоких концентрациях присутствуют вещества, переносимые аэрозолями, в том числе различные загрязнители (Cunliffe et al., 2011). ПМС, располагаясь на границе раздела фаз вода–воздух и обладая уникальными физико-химическими характеристиками, образует особую среду для обитания гидробионтов и обуславливает формирование специфического сообщества микроорганизмов, называемого нейстоном. Бактерии, обитающие в ПМС, или бактерионейстон, являются важным компонентом водных экосистем. Они играют существенную роль в поддержании физико-химических свойств ПМС, активно участвуют в обмене веществ и газов между атмосферой и гидросферой (Liss, Duce, 2005; Upstill-Goddard et al., 2003). Показано важное значение бактерионейстонных сообществ в глобальном цикле углерода (Kuznetsova, Lee, 2001; Cunliffe et al., 2009).

Поверхностный микрослой является той критической точкой, в которой биота может существенно влиять на параметры окружающей неживой среды. Проявления жизнедеятельности гидробионтов, никак не отражающиеся на физическом состоянии пелагиали, могут вызвать на поверхности раздела водоем-

атмосфера большие изменения, имеющие важные экологические последствия (Гладышев, 1993).

Множество работ посвящено изучению бактерионейстона морских водоемов (Зайцев, 1970; Garrett, 1965; Dietz et al., 1976; Franklin et al., 2005; Cunliffe et al., 2011; Santos et al., 2014 и др.); информации о бактериях ПМС пресноводных экосистем значительно меньше (Заварзин, 1955; Maki, Remsen, 1989; Sarmiento et al., 2015 и др.). В последние два десятилетия особое внимание уделяется молекулярной экологии микробных сообществ ПМС. С применением молекулярно-генетических методов удалось выявить значительное разнообразие бактерионейстона морских водоемов (Agogue et al., 2004; Aller et al., 2005; Azevedo et al., 2012 и др.). До настоящего времени слабо изученными остаются видовой состав и физиолого-биохимические свойства бактерий, населяющих поверхностный микрослой пресных водоемов, что затрудняет понимание роли бактерионейстонных сообществ в функционировании пресноводных экосистем.

На озере Байкал исследование нейстона проводил В. М. Никитин в конце 1970-х – в начале 1980-х годов, им была определена численность и описаны физиологические группы бактерий в поверхностной пленке (Никитин, 1976, 1979, 1983).

Цель исследования – изучить бактерионейстонные сообщества озера Байкал в различных экологических условиях на основании качественных и количественных микробиологических и генетических характеристик, определяющих их состав, структуру и функционирование.

Для достижения этой цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить количественные характеристики, провести сравнительный анализ численности бактерий в поверхностном микрослое и подповерхностном слое воды озера Байкал, оценить экологические факторы, влияющие на численность бактерий в поверхностном микрослое.

2. Выяснить таксономический состав, генетическое разнообразие и структуру бактериоценозных сообществ озера Байкал с помощью молекулярно-биологических методов, включая высокопроизводительное секвенирование.
3. Определить роль бактерий, изолированных из поверхностного микрослоя озера Байкал, в трофической структуре сообщества, охарактеризовав полученные культуры комплексом методов, и сформировать из них коллекцию.

Научная новизна. Проведено комплексное изучение микробных сообществ поверхностного микрослоя воды самого крупного и древнего пресного озера в мире – озера Байкал. Впервые проведены сравнительные исследования различных методов отбора проб бактериоценоза в пресных водоемах. Впервые оценена численность бактерий в поверхностном микрослое в различные сезоны года методом эпифлюоресцентной микроскопии, изучено их пространственное распределение, выявлена зависимость от различных экологических факторов. Создана и охарактеризована коллекция чистых культур бактерий из поверхностного микрослоя озера Байкал. Впервые с использованием современных молекулярно-генетических методов и биоинформационного анализа данных получены сведения о таксономическом разнообразии бактериоценозных сообществ озера Байкал.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты работы позволили значительно расширить знания о составе и функционировании бактериоценозных сообществ пресноводных экосистем. Сведения о составе и разнообразии микробных сообществ поверхностного микрослоя, а также об их физиолого-биохимических свойствах являются первым шагом в определении функциональной активности этих бактерий и установлении их роли как в обмене химических элементов между атмосферой и гидросферой, так и в круговороте веществ в водоеме. Полученные результаты могут быть использованы в курсах лекций по экологии и микробиологии. Сведения о ферментативной активности

микробных сообществ ПМС позволяют судить об их потенциале в самоочищении водоема от органических загрязнителей, накапливающихся в поверхностном микрослое. Данные о ферментативной активности штаммов гетеротрофных бактерий, выделенных из поверхностной пленки, могут быть использованы для разработки микробиологических методов борьбы с загрязнением водоемов различными органическими поллютантами, такими как полиароматические углеводороды.

Положения, выносимые на защиту:

- 1) Бактерионейстон озера Байкал характеризуется высокой численностью, сезонной изменчивостью, равномерно распределен по акватории озера; численность бактерий в поверхностном микрослое находится в прямой зависимости от температуры, мутности воды, а также от концентрации органических веществ.
- 2) Бактериальное сообщество поверхностного микрослоя озера Байкал отличается высоким содержанием бактерий фил *Actinobacteria*, *Proteobacteria* (класс *Alphaproteobacteria*, семейство *Pelagibacterales*; класс *Betaproteobacteria*, род *Limnohabitans*) и *Bacteroidetes* (род *Flavobacterium*), значительным количеством микроорганизмов с фотогетеротрофным типом метаболизма, а также большой долей представителей с гидролитической активностью. На состав, структуру и функционирование бактерионейстонного сообщества значительное влияние оказывает атмосфера и нижележащие слои воды.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов подтверждается использованием современных методов, основанных на анализе гена 16S рибосомной РНК (rRNA). В диссертации используется материал, собранный и проанализированный по общепринятым методам (Практикум...,1976; Практикум..., 2005; Garrett, 1965; Schloss et al., 2009 и др.). Материал собран по всей акватории озера Байкал в ходе 8 экспедиций,

проводившихся во время двух сезонов в течение четырех лет. При анализе материалов использовались стандартные статистические методы (критерий суммы рангов Манна-Уитни для двух независимых выборок, AMOVA, PCoA, NMDS) и пакеты программ Mothur v.1.33.3, языка программирования R 2.4-3 (Phyloseq, Vegan), BioEdit, BLAST. Сравнение полученных последовательностей проводили в базах данных с валидированной таксономией микроорганизмов Ribosomal Database Project (RDP) и SILVA. Полученные нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК депонированы в базе данных NCBI – Sequence Read Archives (SRA).

Личный вклад автора. Автор принимал участие в трех из восьми экспедиционных работах, результаты которых вошли в диссертацию. Все результаты за исключением химического анализа воды получены лично автором, либо при его непосредственном участии в ходе коллективных работ. По результатам проведенных работ в соавторстве подготовлены статьи в рецензируемых изданиях. Автор принимал непосредственное участие в определении цели и задач диссертации, анализе и обобщении имеющейся литературы по теме, обсуждении полученных результатов в ходе полевых и лабораторных работ, статистической и биоинформационной обработке данных.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на Научно-практической конференции с международным участием «Питьевая вода в XXI веке» (Иркутск, 2013 г.), XXI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов - 2014» (Москва, 2014г.), 10-й Международной конференции «Экстремофилы 2014» (Санкт-Петербург, 2014), IV Региональной научно-практической конференции «Экологические проблемы Байкальского региона» (Улан-Удэ, 2014 г.), Шестой Международной Верещагинской Байкальской Конференции (Иркутск, 2015г.), 4-м Байкальском Микробиологическом Симпозиуме с международным участием «Микроорганизмы и вирусы в водных экосистемах» (BSM – 2015) (Иркутск,

2015г.), IV Всероссийской конференции молодых ученых «Биоразнообразие: глобальные и региональные процессы» (Улан-Удэ, 2016), на семинарах лаборатории водной микробиологии и Ученых советах ЛИИ СО РАН.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 работ, из них 3 статьи в рецензируемых российских изданиях, входящих в список ВАК и включенных в систему цитирования Scopus и Web of Science, а также 7 работ в материалах конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 185 страницах машинописного текста, состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, списка литературы, списка сокращений и приложения. Работа иллюстрирована 13 рисунками и 20 таблицами. Список литературы включает 214 работ, из которых 161 на английском языке, одна на немецком языке.

Благодарности. Работа посвящена светлой памяти Парфеновой В. В. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю, д.б.н., профессору, г.н.с. лаборатории водной микробиологии Дрюккеру В. В., к.б.н., доценту, в.н.с., руководителю лаборатории водной микробиологии Белых О. И., академику Грачеву М. А., д.б.н. Лихошвай Е. В., к.б.н. Бельковой Н. Л., д.б.н. Земской Т. И., к.б.н. Павловой О. Н., к.б.н. Галачьянцу Ю. П., к.г.н. Томберг И. В., к.г.н. Сакирко М. В., к.г.н. Домышевой В. М., к.г.н. Блинову В. В., к.б.н. Мамаевой Е. В. и всем сотрудникам лаборатории водной микробиологии за помощь в проведении работы, обсуждении результатов и всестороннюю поддержку.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Микрослой на границе раздела воды и воздуха всех открытых водоемов занимает ~70% всей земной поверхности. В связи с особенностями расположения этот слой подвержен сильному влиянию солнечной радиации, резкому изменению температурных условий; здесь в высоких концентрациях присутствуют загрязняющие вещества, переносимые аэрозолями (Cunliffe et al., 2011). Для каждого экологически специфичного участка водоема характерна своя удельная скорость и кинетика биodeградации поллютантов (Гладышев, 1993). Уникальное экологическое расположение поверхностного микрослоя (ПМС) обуславливает также его важную роль в обмене веществ между атмосферой и гидросферой.

1.1. Физико-химическая характеристика поверхностного микрослоя ВОДЫ

Физические свойства поверхностного микрослоя океана во многом определяют потоки тепла, соли, влаги, атмосферных газов между океаном и атмосферой (Лапшин, 2004). Имея незначительную толщину, не превышающую нескольких десятков микрометров, ПМС тем не менее резко отличается от водной толщи по физико-химическим характеристикам (Лапшин, 2004; Zhang et al., 1998, 2003; The sea surface..., 2005). По сравнению с подповерхностной водой поверхностный микрослой физически более стабилен из-за поверхностного натяжения на границе раздела воздух-вода (Hardy, 1982).

1.1.1. Толщина поверхностного микрослоя воды

Исходя из второго закона термодинамики, американский ученый Гиббс в 1876 году вывел важное уравнение, связывающее величину адсорбции со способностью растворенного вещества изменять поверхностное натяжение раствора. Это уравнение является фундаментальным в науке о стыке фаз и имеет

широкое применение в химии, биологии и геохимии. Граница раздела газа и жидкости или поверхность Гиббса является идеальной геометрической поверхностью, не имеющей толщины. Рисунок 1 показывает трехслойную модель адсорбционного поверхностного слоя согласно теореме. Джанг с соавторами дополнили модель Гиббса (Zhang et al., 1998, 2003), основываясь на теоретическом анализе и экспериментальных данных, и построили собственную, многослойную модель (рис. 2).

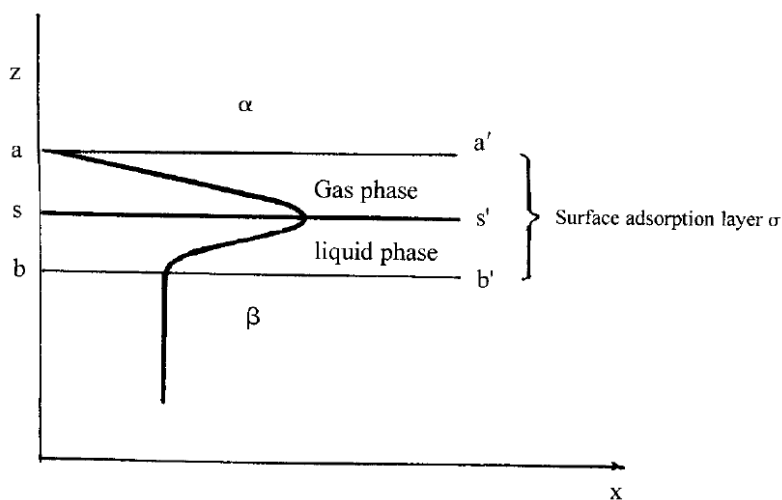


Рис. 1. Трехслойная модель строения ПМС согласно Гиббсу (по Zhang et al, 1998)

Фаза α – газ, β – жидкость. Фаза σ , находящаяся между фазами α и β , является неоднородной переходной фазой, называемой пограничной.

Ось ординат z показывает толщину слоя. На оси абсцисс представлены физико-химические свойства системы, такие как концентрации сурфактантов, частиц, поверхностное натяжение, величина рН.

Плоскость $s-s'$ – граница раздела газа и жидкости

От плоскости $a-a'$ до плоскости $s-s'$ и от $b-b'$ до $s-s'$ физико-химические параметры значительно меняются.

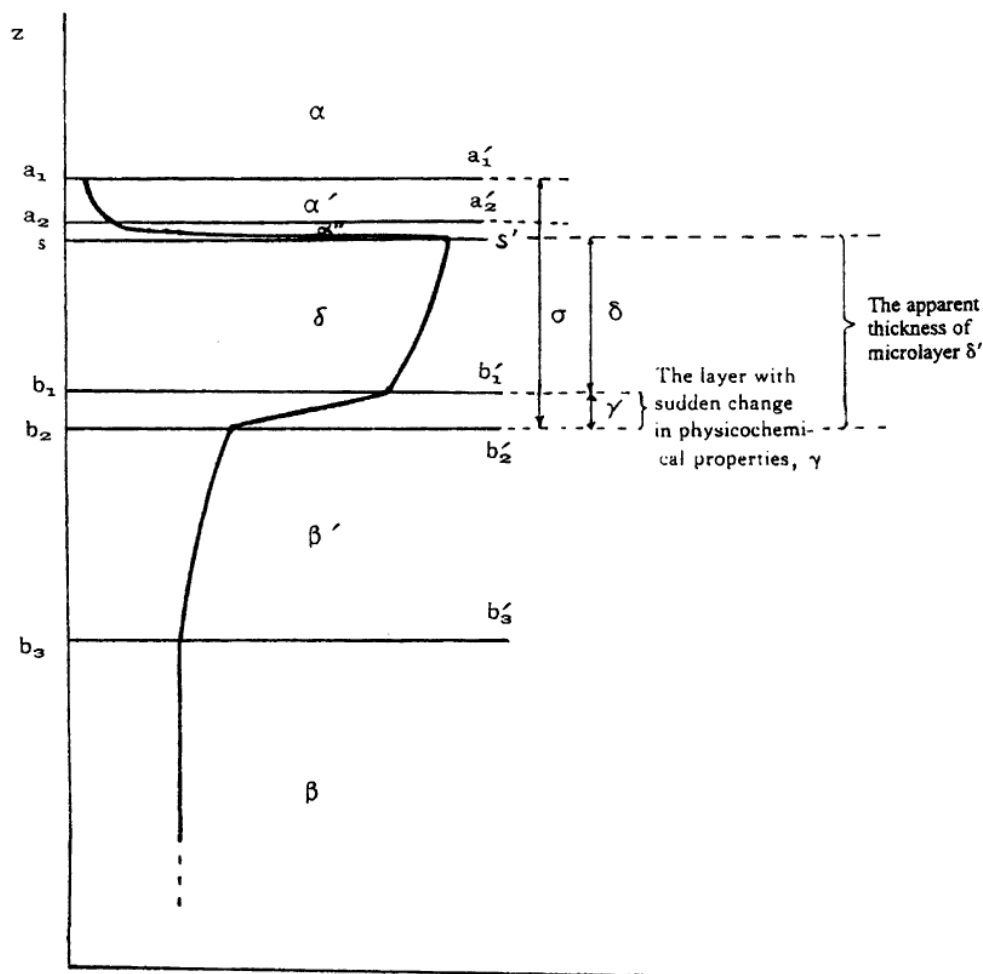


Рис. 2. Многослойная модель строения ПМС (по Zhang et al., 1998)

1. Фаза α – это газовая фаза, состоящая из трех частей – α , α' и α'' . Концентрации веществ в фазах α' и α'' выше, чем в фазе α , но гораздо ниже, чем в жидкостной фазе.
2. Фаза σ включает фазы δ , α' , α'' и γ . Толщина фазы δ намного больше, чем $\alpha' + \alpha''$, поэтому толщиной $\alpha' + \alpha''$ можно пренебречь ($\sigma = \delta + \alpha' + \alpha'' + \gamma \sim \delta + \gamma$).
3. Жидкость состоит из слоя β (однородный раствор), слоя γ и слоя δ (микрослой). При этом толщина слоя $\beta > \beta' > \delta > \gamma$.
4. Ось ординат z показывает толщину слоя. На оси абсцисс представлены физико-химические свойства системы, такие как концентрации сурфактантов, частиц, поверхностное натяжение, величина рН.

Предполагается, что с увеличением толщины отбираемого слоя воды физико-химические свойства системы меняются следующим образом:

- 1) От плоскости $a_1-a'_1$ до плоскости $a_2-a'_2$ физико-химические параметры меняются очень мало.
 - 2) От плоскости $a_2-a'_2$ до плоскости $s-s'$ физико-химические параметры начинают значительно меняться.
 - 3) В плоскости $s-s'$ физико-химические параметры имеют свои максимальные или минимальные (минимальные для поверхностного натяжения, рН и т.д.) показатели.
 - 4) В поверхностном микрослое δ физико-химические параметры значительно не меняются.
 - 5) Между слоями δ и β' находится слой γ , в котором физико-химические параметры меняются резко – слой резких изменений физико-химических параметров
 - 6) В слоях β' и β котором физико-химические параметры относительно постоянны.
5. Толщина слоя δ' ($\delta' = \delta + \gamma$) является собственно толщиной поверхностного микрослоя солевых растворов.

плоскость $s-s'$ – граница раздела газа и жидкости

плоскость $b_1-b'_1$ разделяет поверхностный микрослой и слой резких изменений физико-химических свойств

плоскость $b_2-b'_2$ разделяет слой резких изменений физико-химических свойств и подповерхностный слой воды

плоскость $b_3-b'_3$ разделяет подповерхностный слой воды и водную толщу

Отличительной чертой многослойной модели является присутствие слоя резких изменений физико-химических свойств, который не является простой геометрической плоскостью, а имеет определенную толщину. Ниже этого слоя физические и химические свойства воды меняются медленно, но внутри него более 20 параметров изменяются резко.

Мнения по поводу толщины ПМС различаются. До работ Джанга с соавторами толщина ПМС не была четко установлена, ее определяли исходя из метода отбора проб или по изменению каких-либо физико-химических или биологических параметров (Garrett, 1965; Harvey, 1966; Harvey, Burzell, 1972; Crow et al., 1975; Kjelleberg et al., 1979; Carlson, 1982). Однако в этих работах не были проведены эксперименты по определению точной толщины ПМС. В 1974 г. Брокер и Пенг впервые исследовали толщину ПМС, применив метод меченых изотопов, и пришли к выводу, что она составляет 30-80 мкм (Broecker, Peng, 1974). Лисс и Дюс проанализировали различные работы, мнения и пришли к выводу, что толщина ПМС должна составлять 50 мкм (The sea surface..., 2005).

По экспериментальным и теоретическим данным Джанг с соавторами слой резких изменений физико-химических свойств был найден на 50 мкм ниже границы между водой и воздухом. Именно в этой зоне происходит резкое изменение химических и физических параметров: концентрации растворенного и нерастворенного органического углерода, растворенных биогенных веществ (фосфора, азота, кремния и т.д.), металлов, хлорофилла *a*, а также поверхностного натяжения, рН и др. (Zhang et al., 1998, 2003). На основании полученных результатов ученые пришли к выводу, что толщина ПМС составляет 50 ± 10 мкм (Zhang et al., 1998, 2003).

Экспериментальные данные Джанг с соавторами показали, что фосфаты, частицы и другие неорганические компоненты концентрируются в ПМС, что не может быть описано уравнением адсорбции Гиббса. Согласно ему, неорганическое вещество не накапливается в поверхностном микрослое,

уравнение описывает только повышенную концентрацию органических веществ в ПМС. Известно однако, что металлы и твердые частицы могут создавать комплексы с органическими лигандами (Adamson, 1990), в результате чего они накапливаются в ПМС вместе с органическим веществом.

Таким образом, на основании экспериментальных и расчетных данных было показано, что истинная толщина ПМС составляет 50 ± 10 мкм, именно в таких пределах происходит резкое изменение физических и химических параметров, таких как поверхностное натяжение, pH, температура, концентрации различных органических и неорганических соединений.

1.1.2. Состав и структура поверхностного микрослоя воды

В состав ПМС входят как органические, так и неорганические вещества. Известно, что в ПМС выявлено концентрирование биогенных веществ (фосфора, азота, кремния) (Михайлов 1994; Лапшин, 2004), максимальная концентрация отмечена для фосфора. Матрикс ПМС составляют органические вещества, такие как липиды, полисахариды и белки.

Раньше считалось, что липиды составляют значительную фракцию ПМС, формируя сплошной слой над белково-полисахаридным слоем; это было основой слоистой модели ПМС (рис. 3) (Norkrans, 1980; Hardy, 1982). Сейчас очевидно, что хотя липидов в ПМС меньше, чем считалось раньше, однако они играют важную роль в физико-химических свойствах ПМС (Mazurek et al., 2008; Frka et al., 2009). Концентрации растворенных и нерастворенных липидов в ПМС разнятся в зависимости от локализации, сезона, трофического статуса, преобладающих погодных условий, внося вклад 3-7 и 10-15% в пул растворенного и нерастворенного органического материала, соответственно (Salot et al., 1991; Gašparović et al., 1998; Penezić et al., 2010). Роль липидов в формировании и стабилизации ПМС не ясна, но скорее всего липиды обуславливают вязко-эластические свойства ПМС (Frew, Nelson, 1992).

Лабораторные эксперименты показывают, что липидный монослой эффективно аккумулирует углеводы из водной толщи при помощи водородных связей, неполярных и электростатических взаимодействий (Kozarac et al., 2000). Поскольку углеводы не формируют пленки (Gaines, 1966), особенно в природных концентрациях, весьма вероятно, что липиды играют важную роль на начальных стадиях формирования ПМС.

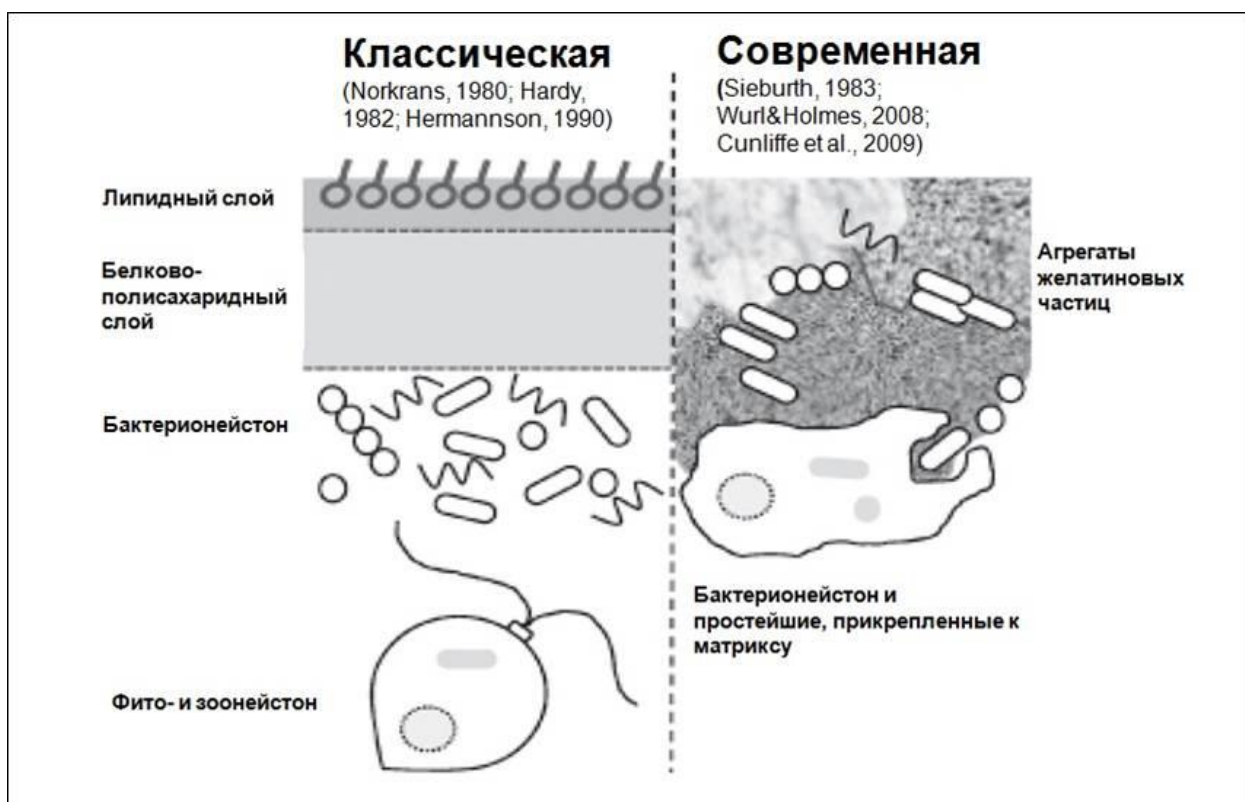


Рис. 3. Классическая трехслойная и современная модели строения ПМС (по Cunliffe et al., 2011).

Некоторые исследователи давно предполагали, что углеводы являются важным компонентом ПМС. Сибурт (1983) предположил, что ПМС – это «высокогидратированный рыхлый гель, состоящий из переплетенных макромолекул и коллоидов» (Sieburth, 1983). Недавние научные исследования дополнили оригинальную идею Сибурт открытием микрогелей как доминирующего углеводного компонента микрослоя (Wurl, Holmes, 2008;

Cunliffe et al., 2009b; Wurl et al., 2009, 2011a, 2011b), тогда же была разработана новая модель строения ПМС (рис. 3). Степень агрегации микрогеля в ПМС пятикратно превышает таковую в нижележащих слоях воды (Wurl et al., 2011a). Частицы микрогеля, такие как прозрачные экзополимерные частицы, формируются из растворенных полисахаридов, образующихся в ходе процессов микробной продукции и декомпозиции (Alldredge et al., 1993). Благодаря липким свойствам микрогелей они могут агрегировать живой и мертвый планктон, минеральные частицы и, соответственно, становятся центром микробной активности в водной толще (Simon et al., 2002), а за счет положительной плавучести поднимаются на поверхность воды и агрегируются в ПМС (рис. 4).

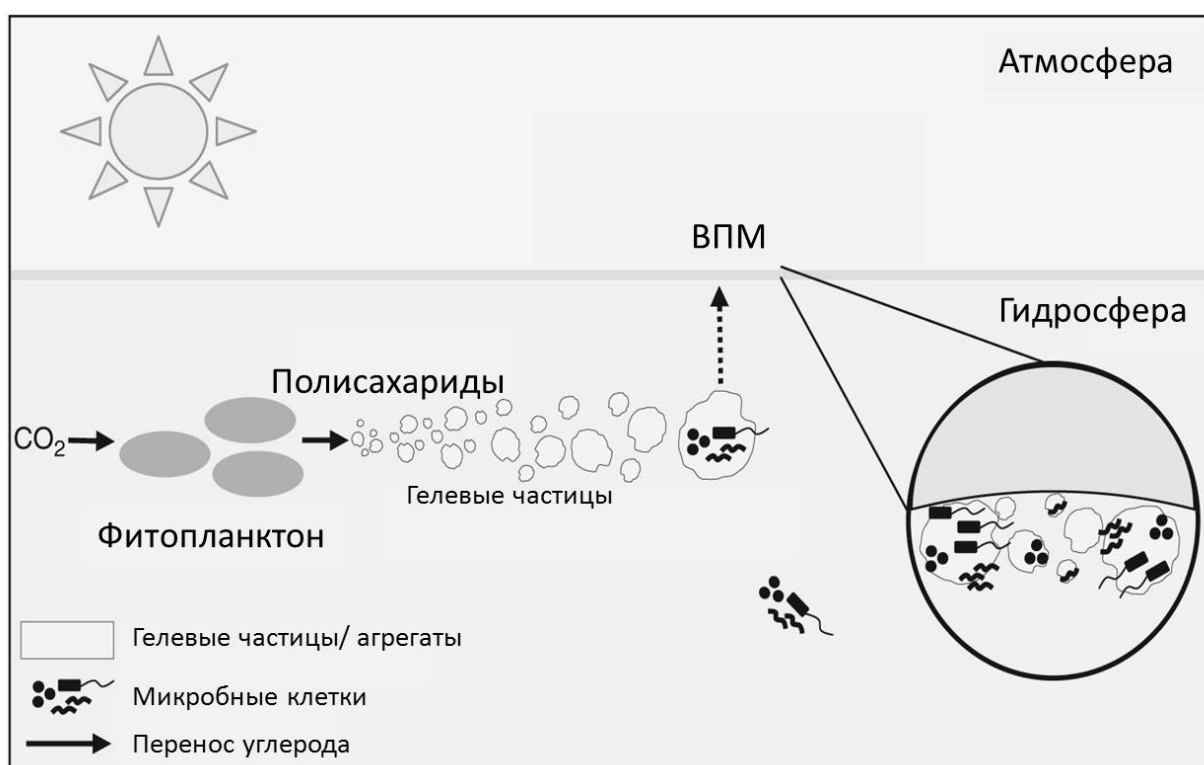


Рис. 4. Схема формирования ПМС (по Cunliffe, Murrell, 2009)

Аминокислоты и белки в ПМС были изучены меньше, чем липиды или углеводы. Аккумуляцию аминокислот и белков в ПМС можно предсказать из-за гидрофобной и, следовательно, поверхностно активной природы некоторых

аминокислот, имеющих алифатические или ароматические боковые цепи. Количество белковой фракции обратно пропорционально трофическому статусу, т.е. большие концентрации наблюдаются в олиготрофных районах, чем в высокопродуктивных прибрежных водах (Kuznetsova et al., 2004). Микроорганизмы ПМС вне сомнения выполняют важную роль как продуценты, консументы и модификаторы белков в биопленках. При помощи жидкостной хроматографии было показано, что уровень обмена белкового материала в ПМС был выше, чем в подповерхностном слое воды (Kuznetsova, Lee, 2001).

Когда концентрация нерастворимых сурфактантов в ПМС превышает некое пороговое значение, начинается спонтанное формирование так называемых сликов, различимых невооруженным глазом на поверхности воды. Слики – это мономолекулярные пленки со средней толщиной 2-3 нм (Huhnerfuss, 2006). Их можно наблюдать во время увеличения поступления органического материала в ПМС, например, во время цветения фитопланктона (Sieburth, Conover, 1965; Lee, Williams, 1974; Wurl et al., 2011b). Слики становятся заметными благодаря гашению поверхностных волн (ряби на воде), что приводит к сокращению обмена газов, веществ, тепла и импульсов между водой и воздухом (Лапшин, 2004; Salter et al., 2011). Это происходит за счет изменений вязко-эластических свойств межфазного поверхностного слоя (Cini et al., 1983) и называется эффектом Мангарони, являющимся фундаментальным в понимании эффекта гашения волн и, следовательно, процессов переноса между водой и воздухом (Kozarac et al., 2003; Botte, Mansutti, 2005; Huhnerfuss, 2006; McKenna, Bock, 2006). В сликах было показано более высокое содержание частиц, поверхностно активных веществ, а также более высокая адсорбция растворенного органического вещества по сравнению с невидимым ПМС (Wurl et al., 2009; Stolle et al., 2010). Площадь мирового океана, покрытая сликами, составляет 10-22% (Romano, 1996).

Вурл с соавторами показал, что ПМС достаточно стабилен, чтобы существовать при средней скорости ветра 6,6 м/с (Wurl et al., 2011б). Другие исследования поддерживают это заключение, подтверждая присутствие в ПМС химических веществ в повышенных концентрациях при скорости ветра до 10 м/с (Carlson, 1983; Михайлов, 1994; Kuznetsova et al., 2004; Reinthaler et al., 2008). Стики, в отличие от невидимого ПМС, начинают разрушаться уже при скоростях ветра выше 4-5 м/с (Romano, 1996). После разрушения волнами раздробленное вещество ПМС адсорбируется на поверхность всплывающих пузырей, образованных волнами (Wurl et al., 2011б). Этот механизм может быть наиболее важным в отношении переноса поверхностно активного материала в ПМС после разрушения его волнами (Wurl et al., 2011б). Прямые оценки сроков восстановления ПМС после его разрушения немногочисленны, но опубликованные данные свидетельствуют о том, что это происходит очень быстро – в пределах 1 минуты (Van Vleet, Williams, 1983; Williams et al., 1986; Kuznetsova, Lee, 2001; Kozarac et al., 2005).

Таким образом, в поверхностном микрослое доминирующим компонентом являются полисахариды в виде микрогелей, агрегирующихся на поверхности благодаря положительной плавучести. Липиды обуславливают вязко-эластические свойства ПМС, аккумулируют углеводы из водной толщи. ПМС остается химически стабилен при скоростях ветра до 10 м/с.

1.1.3. Роль поверхностного микрослоя воды в газообмене

Обмен газов между водой и воздухом играет фундаментальную роль в глобальной биогеохимии и происходит благодаря молекулярной и турбулентной диффузии. Турбулентная диффузия определяется длиной и скоростью турбулентных завихрений в водной толще и в воздухе вблизи водной поверхности, в то время как молекулярная диффузия действует на уровне ПМС, где эти завихрения подавляются (Upstill-Goddard, 2006). Поверхностно активные

вещества ПМС (сурфактанты), включающие биогенные полисахариды, липиды и белки, влияют на газообмен между водой и воздухом двумя принципиальными способами: как физико-химический барьер и при помощи модификации гидродинамики водной поверхности (Tsai, 1996, 1998; McKenna, McGillis, 2004). Вероятнее всего, сурфактанты подавляют газообмен между водой и воздухом (Brockmann et al., 1982). Л. Н. Карлин изучал влияние температуры поверхности океана на обмен углекислым газом с атмосферой. Показано, что изменения температуры поверхности океана в экваториальной зоне являются главным регулятором межгодовых колебаний результирующего потока CO_2 в системе океан–атмосфера (Карлин, 2015).

Таким образом, ПМС значительно влияет на газообмен между водой и воздухом, замедляя его за счет высокого содержания сурфактантов.

1.2. Методы отбора проб поверхностного микрослоя воды

При изучении ПМС очень важным для получения корректных данных является отбор интегральной пробы ввиду небольшой толщины исследуемого слоя воды. Как установил Джанг с совт., толщина ПМС составляет 50 ± 10 мкм (Zhang et al., 1998, 2003). При отборе слоя воды толщиной более 50 мкм приходится говорить о контаминации пробы подповерхностной водой.

1.2.1. Устройства для отбора проб поверхностного микрослоя воды

Применяемые на данный момент устройства для отбора ПМС отбирают слой воды разной толщины. Так, сетчатый экран (Garrett, 1965) и стеклянная тарелка (Harvey, 1966; Harvey, Burzell, 1972) отбирают 200-500 и 20-150 мкм, соответственно. Вращающийся барабан (Harvey, 1966) отбирает верхние 50 мкм (Brooks et al., 2009). Гидрофильные и гидрофобные мембранные фильтры отбирают 35-42 и около 6 мкм, соответственно (Crow et al., 1975; Kjelleberg et al., 1979; Cunliffe et al., 2009б). Каждый из методов имеет свои преимущества и

недостатки, и пока нет единого подхода к отбору проб ПМС. Предпочтения применения того или иного подхода основываются на цели и задачах исследования. Тем не менее, исследователи сходятся в том, что нежелательно сравнивать между собой данные, полученные разными методами отбора проб. Каждое устройство отбирает слой воды разной толщины, тем самым в разной степени контаминируя пробу ПМС подповерхностной водой; кроме того, нельзя исключить избирательную селективность в отношении отдельных химических соединений или микроорганизмов при использовании разных приспособлений для отбора проб (Agogue et al., 2004; Stolle et al., 2009). Поэтому крайне желательным было бы достижение соглашения о стандартизации отбора проб ПМС, поскольку это позволит исследователям из разных областей науки, изучающих ПМС, сравнивать данные между собой.

Сетчатый экран является одним из самых распространенных методов получения пробы поверхностного микрослоя воды для химического и биологического анализа (приложение 1). Принцип отбора проб ПМС сетчатым экраном основан на задержке воды в ячейках сетки за счет силы поверхностного натяжения (Garrett, 1965; Van Vleet, Williams, 1980). Толщина водного слоя, получаемого этим методом, составляет 200-500 мкм (Carlson, 1982; Cunliffe et al., 2009б; наши данные). Объем воды, отбираемой таким способом, составляет 20–23 мл для сетки площадью 0.0551 м² с размером ячеек 1 мм² (наши данные). К недостаткам этого метода относится невозможность стандартизации процедуры (Hatcher, Parker, 1974) и неизбежная контаминация пробы подповерхностной водой.

Стеклянная тарелка также является широко распространенным устройством для отбора проб ПМС. Тарелка вертикально погружается под воду, затем также вертикально поднимается обратно. Воду, адгезированную к поверхности тарелки, снимают специальным лезвием в контейнер для сбора проб (Harvey, Burzell, 1972). Толщина отбираемого слоя воды при этом составляет 20-150 мкм

(Harvey, Burzell, 1972; Cunliffe et al., 2009б). Тарелка может быть сделана из других материалов, например, из тефлона для селективной адсорбции липидов и углеводов (Larsson et al., 1974). К недостаткам этого метода также относится невозможность стандартизации процедуры (Hatcher, Parker, 1974) и контаминация пробы подповерхностной водой.

Метод мембранных фильтров опирается на адсорбцию поверхностного микрослоя воды к порам фильтра (Crow et al., 1975). Этот метод применяют не так широко, как сетку и тарелку. Стерильный фильтр (диаметр пор 0,22 мкм) помещается на поверхность воды на несколько секунд. Специальным пинцетом мембрану поднимают с поверхности воды и обрабатывают далее в зависимости от типа требуемого химического или биологического анализа (Maki, Remsen, 1983). Например, фильтры помещают во флакон с вымывающим агентом Tween 80 для десорбции бактерий с поверхности фильтра. Толщина поверхностного микрослоя при отборе гидрофильными поликарбонатными фильтрами составляет 35-42 мкм по данным Франклин и Канлифф (Franklin et al., 2005; Cunliffe et al., 2009б). При отборе проб гидрофобными фильтрами толщина отбираемого поверхностного микрослоя составляет 1-40 мкм по данным Канлифф, Кроу, Кьеллеберга (Crow et al., 1975; Kjelleberg et al., 1979; Cunliffe et al., 2009б). При отборе проб поверхностного микрослоя этим методом не происходит контаминации подповерхностной водой, однако объем отбираемой воды составляет всего около 1мл (Cunliffe et al., 2009б), что может быть недостаточным для всех запланированных исследований.

Вращающийся барабан состоит из цилиндра, или барабана, прикрепленного к поплавкам (Harvey, 1966; Carlson et al., 1988). Нижняя часть цилиндра погружена в воду. При движении конструкции барабан начинает вращаться, поверхностный слой воды адсорбируется на поверхность цилиндра и затем снимается специальным лезвием в коллектор. Толщина отбираемого таким способом микрослоя составляет 60-100 мкм (Harvey, 1966; Munster et al., 1998).

На озере Байкал изучение бактериоценозов в 1975–1979 гг. проводил В.М. Никитин, который использовал для отбора проб специальную стерильную рамочку из полиэтилена, которую он прикладывал к поверхности воды, поднимал, а затем давал стекать адгезированной воде в специальный контейнер (Никитин, 1983). Однако толщину отбираемого данным методом слоя воды он не определял.

Таким образом, существующие устройства для отбора проб применяют для изучения химического состава ПМС, численности микроорганизмов и состава микробных сообществ и отличаются друг от друга прежде всего разной толщиной отбираемого слоя воды, а также скоростью пробоотбора.

1.2.2. Сравнение различных методик пробоотбора

Сравнение различных методик пробоотбора имеет большое значение, поскольку при этом становятся более очевидными особенности того или иного метода, что в итоге позволяет правильно интерпретировать данные, полученные разными методами. Однако исследований, посвященных сравнению методик пробоотбора, немного и они выполнены в основном для морских экосистем. Авторы сравнивали микробное разнообразие (Agogue et al., 2004; Cunliffe et al., 2009a, 2009b; Stolle et al., 2009; Lindroos et al., 2011), численность микроорганизмов (Maki, Remsen, 1989; Agogue et al., 2004; Kuznetsova et al., 2004; Cunliffe et al., 2009a; Stolle et al., 2009), активность микробных сообществ (Agogue et al., 2004; Stolle et al., 2009) в пробах, отобранных разными методами.

Агога с соавторами (Agogue et al., 2004) для оценки эффективности пробоотбора металлической сеткой, стеклянной тарелкой и мембранными фильтрами опирались на целый ряд количественных характеристик. Было выявлено, что мембранные фильтры отбирают большее количество микроорганизмов в поверхностном микрослое, чем сетка. Авторами была экспериментально подтверждена гипотеза о селективной адсорбции

бактериальных клеток на поверхности поликарбонатного фильтра, приводящей к завышению количественных показателей, и сделано заключение о нежелательности применения данного метода при оценке микробной численности. В то же время стеклянная тарелка и сетчатый экран не обладают избирательной селективностью в отношении микроорганизмов и рекомендованы для количественной оценки микробиологических показателей, равно как и для изучения бактериальной активности и структуры бактериальных сообществ. Кроме того, скорость пробоотбора сеткой в несколько раз выше, чем стеклянной тарелкой.

Канлифф с соавторами (Cunliffe et al., 2009б) полагают, что оптимальным способом отбора проб ПМС являются мембранные фильтры. Фильтрами отбирается более тонкий слой воды, не превышающий толщину поверхностного микрослоя, и не происходит контаминации пробы подповерхностной водой. Исследователи пришли к выводу, что, принимая во внимание разбавление проб ПМС, отобранных сеткой, для характеристики разнообразия бактериальных сообществ предпочтительно использовать метод мембранных фильтров (Cunliffe et al., 2009б). Однако в другой работе, выполненной Канлифф с соавторами в Северном море, сетчатый экран и мембранные фильтры показали сопоставимые результаты при сравнении состава микробных сообществ нейстона; кроме того, при отборе проб обоими методами были выявлены существенные различия между нейстонными сообществами поверхностного микрослоя и подповерхностного слоя воды (Cunliffe et al., 2009а). Линдрос с соавторами также провели сравнение методов сетчатого экрана и поликарбонатных мембранных фильтров, определяя состав микробных сообществ нейстона в Балтийском море (Lindroos et al., 2011). Авторы отмечают сопоставимость результатов, полученных обоими методами, однако указывают на неудобства, связанные с малым объемом воды, забираемым фильтрами.

М. Кузнецова с соавторами отбирали пробы ПМС в Атлантическом океане при помощи сетчатого экрана и вращающегося барабана (Kuznetsova et al., 2004). Авторы показали при помощи анализа главных компонент, что пробы, отобранные металлическим экраном, сильнее отличаются от подповерхностной воды, чем отобранные вращающимся барабаном, по общей численности микроорганизмов и количеству аминокислот. Также отбор проб вращающимся барабаном занимает в 10 раз больше времени, чем сетчатым экраном.

Штолле с соавторами исследовали влияние металлического сетчатого экрана, стеклянной тарелки и вращающегося барабана на активность инкорпорации тимидина микробными сообществами нейстона (Stolle et al., 2009). Авторы пришли к выводу, что металлическая сетка и стеклянная тарелка угнетают активность микробных сообществ нейстона, в то время как вращающийся барабан не оказывает такого эффекта. В то же время общая численность микроорганизмов и состав микробных сообществ нейстона были сопоставимы при отборе всеми тремя методами.

Единственная работа на пресноводном водоеме была выполнена в 1989 году Маки и Ремсеном (Maki, Remsen, 1989). Они сравнили общую численность микроорганизмов ПМС маленького пресноводного пруда в пробах, отобранных сетчатым экраном и стеклянной тарелкой. Авторы указывают, что пробы, отобранные стеклянной тарелкой, всегда отличались по численности микроорганизмов от подповерхностного слоя воды, в то время как в случае металлического экрана такого постоянства выявлено не было, что объясняется большим разбавлением ПМС подповерхностным слоем воды в случае сетчатого экрана.

Таким образом, большинство авторов отмечает сопоставимость различных методик отбора проб при определении общей численности микроорганизмов и состава микробных сообществ. Металлический экран и стеклянная тарелка могут

ингибировать активность микробных сообществ. Самая высокая скорость пробоотбора показана для сетчатого экрана.

1.3. Эколого-биологические особенности поверхностного микрослоя ВОДЫ

В морских и пресных водоемах поверхностный микрослой, формирующийся на границе раздела воды и воздуха, представляет собой особую экосистему, отличную от водной толщи (Гладышев, 1993; Cunliffe et al., 2011). Термин нейстон ввел в 1917 году шведский ботаник Эйнар Науманн для идентификации организмов, ассоциированных с границей раздела воды и воздуха, чтобы отличать их от планктона (Naumann, 1917). Последующие исследования показали, что разнообразие микроорганизмов в ПМС может значительно отличаться от такового в подповерхностном слое воды, даже в нескольких сантиметрах ниже ПМС (Tsyban, 1971; Jones et al., 1991; Donderski et al., 1999; Agogue et al., 2004; Franklin et al., 2005; Auguet, Casamayor, 2008; Cunliffe et al., 2008, 2009a, 2009б; Hervas, Casamayor, 2009; Hörtnagl et al., 2010a, 2010б; Lindroos et al., 2011; Stolle et al., 2011; Azevedo et al., 2012; Santos et al., 2014).

Биологические характеристики этого микрослоя, такие как состав, структура, функционирование микробных сообществ до сих пор исследованы недостаточно. Большинство подобных работ выполнено на морских экосистемах (Tsyban, 1971; Dietz et al., 1976; Fehon, Oliver, 1979; Hardy, Apts, 1984; Mudryk, Skorczewski, 2000; Kuznetsova, Lee, 2001; Agogue et al., 2004, 2005a, 2005б; Kuznetsova et al., 2004; Aller et al., 2005; Franklin et al., 2005; Obernosterer et al., 2005, 2008; Joux et al., 2006; Cunliffe et al., 2008, 2009a, 2009б, 2009в; Reinthaler et al., 2008; Santos et al., 2009, 2011б, 2012a, 2014; Stolle et al., 2009, 2011; Coelho et al., 2011; Lindroos et al., 2011; Azevedo et al., 2012). В них освещен довольно широкий круг вопросов, таких как численность, состав, структура, метаболическая активность микробных сообществ, а также их роль в

круговороте климатически активных газов и адаптация к УФ излучению. Работ, выполненных на пресных водоемах, значительно меньше. Однако в последние годы охарактеризованы бактерионейстонные сообщества некоторых высокогорных озер в Альпах и Пиренеях, а также равнинных озер в Северной Америке (Maki, Remsen, 1989; Jones et al., 1991; Donderski et al., 1999; Auguet, Casamayor, 2008; Hervas, Casamayor, 2009; Hörtnagl et al., 2010a, 2010б; Vila-Costa et al., 2013; Barberan et al., 2014; Drudge, Warren, 2014; Sarmiento et al., 2015). В основном в них изучали численность, состав и структуру микробных сообществ ПМС, и лишь только две публикации посвящены определению активности микроорганизмов в отношении мономерных субстратов (Hörtnagl et al., 2010a; Sarmiento et al., 2015).

Таким образом, биологические характеристики ПМС пресных водоемов, в особенности активность микробных сообществ, их участие в газообмене и устойчивость к УФ излучению, исследованы не достаточно и необходимо проведение работ в этих направлениях.

1.3.1. Методы изучения микробных сообществ поверхностного микрослоя воды

Для исследования численности, состава и структуры микробных сообществ нейстона применяют широкий спектр подходов, таких как культивирование (Tsyban, 1971; Dietz et al., 1976; Fehon, Oliver, 1979; Jones et al., 1991; Mudryk, Skorczewski, 2000; Agogue et al., 2005б; Lindroos et al., 2011; Azevedo et al., 2012; Santos et al., 2012a), эпифлюоресцентная микроскопия (Hardy, Apts, 1984; Maki, Remsen, 1989; Donderski et al., 1999; Hörtnagl et al., 2010б; Kuznetsova et al., 2004; Aller et al., 2005; Obernosterer et al., 2005; Santos et al., 2009, 2011б, 2012a, 2014; Vila-Costa et al., 2013), разные варианты гибридизации *insitu* (Aller, 2005; Auguet, Casamayor, 2008; Santos et al., 2009, 2012a; Hörtnagl et al., 2010a, 2010б; Coelho, 2011), проточная цитометрия (Agogue et al., 2004; Obernosterer et al., 2005, 2008;

Joux et al., 2006; Reinthaler et al., 2008; Cunliffe et al., 2009в; Stolle et al., 2009; Sarmiento et al., 2015), а также молекулярно-генетические методы (приложение 1). Среди них – метагеномный анализ ампликонов (Vila-Costa et al., 2013; Barberan et al., 2014), клонирование и секвенирование целевых фрагментов ДНК (Hervas, Casamayor, 2009; Drudge, Warren, 2014), денатурирующий градиентный гель-электрофорез (ДГГЭ) (Agogue et al., 2004; Cunliffe et al., 2008, 2009б; Santos et al., 2009, 2012а; Azevedo et al., 2012), анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДФР) (Agogue et al., 2005а; Cunliffe et al., 2008; Lindroos et al., 2011), анализ конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК (англоязычный вариант SSCP) генов 16S рРНК (Agogue et al., 2005а; Obernosterer et al., 2008; Stolle et al., 2011), количественная ПЦР в реальном времени (Cunliffe et al., 2009в).

Много методов применяют и для изучения метаболической активности микробных сообществ ПМС. Измеряя уровень инкорпорации меченных радиоизотопами мономерных веществ, таких как лейцин (Joux et al., 2006; Reinthaler et al., 2008; Santos et al., 2009, 2014; Hörtnagl et al., 2010а; Sarmiento et al., 2015), тимидин (Agogue et al., 2004; Stolle et al., 2009), глюкоза (Dietz et al., 1976; Santos et al., 2009), ацетат (Santos et al., 2009), исследуют гетеротрофную активность микробных сообществ. Активность в отношении полимерных субстратов за счет наличия внеклеточных ферментов изучают путем культивирования на специальных средах (Tsyban, 1971; Mudryk, Skorczewski, 2000; Coelho et al., 2011), хроматографически (Kuznetsova, Lee, 2001) и фотометрически (Santos et al., 2009, 2014). При помощи флюоресцентной гибридизации *in situ* (Aller et al., 2005) выявляют метаболически активные клетки, при помощи MICROCARD-FISH (Obernosterer et al., 2008) – наиболее активные группы гетеротрофных бактерий. Определяют фотосинтетическую продуктивность микробного сообщества по разнице фиксации меченого углерода в темноте и на свету (Hardy, Apts, 1984) и по разнице концентраций кислорода в

пробе воды в начале и в конце эксперимента, проводимого в темноте и на свету (Obernosterer et al., 2005; Reinthaler et al., 2008).

Таким образом, микробные сообщества ПМС изучают разнообразными методами, дополняющими друг друга и позволяющими оценить те или иные характеристики сообщества или отдельных его представителей с разных точек зрения, при этом вырисовывается более объективная картина.

1.3.2. Разница в составе, численности и активности микробных сообществ ПМС и подповерхностного слоя воды

Исследования, посвященные изучению состава микроорганизмов в ПМС, приходят к противоречивым заключениям. Большая часть работ, проведенных в морских и пресных водоемах, подтверждает наличие обособленного микробного сообщества в ПМС как при помощи культивирования, так и с применением различных молекулярных методов (приложение 2) (Tsyban, 1971; Jones et al., 1991; Donderski et al., 1999; Agogue et al., 2004; Franklin et al., 2005; Auguet, Casamayor, 2008; Cunliffe et al., 2008, 2009a, 2009b; Hervas, Casamayor, 2009; Hörtnagl et al., 2010a, 2010b; Lindroos et al., 2011; Stolle et al., 2011; Azevedo et al., 2012; Santos et al., 2014). Однако существует группа исследований, также выполненных на морских и пресных экосистемах, в которых не была обнаружена разница в составе микробных сообществ ПМС и подповерхностного слоя воды (Agogue et al., 2005a; Obernosterer et al., 2008; Cunliffe et al., 2009b; Santos et al., 2009; Stolle et al., 2009; Vila-Costa et al., 2013). Интересен тот факт, что в одних и тех же водоемах разницу в составе микробных сообществ иногда обнаруживали, а иногда нет. Примером могут послужить работы Агога с соавторами, проводивших исследования в двух прибрежных районах на северо-западе Средиземного моря в 2004 и 2005 гг. методом анализа конформационного полиморфизма одноцепочечной ДНК генов 16S рРНК (Agogue et al., 2004, 2005a), работы Азеведо и Сантос, изучавших эстуарий Риа де Авейро в

Атлантическом океане методом ДГГЭ и при помощи флюоресцентной гибридизации *in situ* (Santos et al., 2009, 2014; Azevedo et al., 2012). Ученые предполагают, что степень схожести микробных сообществ нейстона и подповерхностной воды может зависеть от пространственных и временных факторов (Azevedo et al., 2012), а также от погодных условий, в особенности от ветра, способствующего перемешиванию поверхностных слоев воды (Tsyban, 1971; Stolle et al., 2009, 2011; Santos et al., 2011b), и атмосферных осадков, таких как пыль (Hervas, Casamayor, 2009; Vila-Costa et al., 2013; Barberan et al., 2014).

В нейстоне встречаются представители различных фил, широко распространенных в водных экосистемах: *Actinobacteria*, *Proteobacteria* (классы *Alpha-*, *Beta-* и *Gamma**proteobacteria*), *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*. Представители класса *Gamma**proteobacteria* доминируют в ПМС изученных морских экосистем; эти результаты подтверждены как культивированием, так и молекулярными методами (приложение3) (Tsyban, 1971; Fehon, Oliver, 1979; Agogue et al., 2005a; Franklin et al., 2005; Cunliffe et al., 2008, 2009a; Azevedo et al., 2012; Santos et al., 2012a, 2014). Представители класса *Betaproteobacteria* и филы *Actinobacteria* в основном доминируют в пресноводных экосистемах (Hervas, Casamayor, 2009; Hörtnagl et al., 2010a, 2010b; Vila-Costa et al., 2013; Barberan et al., 2014; Drudge, Warren, 2014), однако в олиготрофном озере Колдспринг на севере США доминировали представители филы *Bacteroidetes* (Drudge, Warren, 2014), а в эвтрофном озере Джезиорак Малый культивирование показало доминирование представителей класса *Gamma**proteobacteria* (Donderski et al., 1999) (приложение3).

Численность микробных сообществ ПМС в основном изучают при помощи эпифлюоресцентной микроскопии, проточной цитометрии и путем учета культивируемых гетеротрофов. В большинстве работ, в которых проводилось сравнение численности микроорганизмов в ПМС и подповерхностном слое воды, отмечалось большее количество микроорганизмов в ПМС (Tsyban, 1971; Dietz et

al., 1976; Fehon, Oliver, 1979; Hardy, Apts, 1984; Jones et al., 1991; Donderski et al., 1999; Agogue et al., 2004; Kuznetsova et al., 2004; Aller et al., 2005; Obernosterer et al., 2005; Joux et al., 2006; Auguet, Casamayor, 2008; Reinthaler et al., 2008; Cunliffe et al., 2009в; Santos et al., 2009, 2014; Hörtnagl et al., 2010a; Lindroos et al., 2011; Sarmiento et al., 2015). В некоторых работах, выполненных преимущественно при помощи проточной цитометрии, разницы в численности не наблюдали (приложение 2) (Obernosterer et al., 2008; Reinthaler et al., 2008; Cunliffe et al., 2009а; Stolle et al., 2009; Hörtnagl et al., 2010б; Santos et al., 2011б; Vila-Costa et al., 2013; Sarmiento et al., 2015). Авторы отмечают, что метод проточной цитометрии может недооценивать численность микроорганизмов, поскольку не учитывает формы, прикрепленные к частицам, накапливающимся в ПМС (Agogue et al., 2004; Aller et al., 2005; Obernosterer et al., 2005; Cunliffe et al., 2009в; Santos et al., 2011б; Stolle et al., 2011).

Метаболическая активность микробных сообществ является важной характеристикой, свидетельствующей о степени комфортности условий в экосистеме на данный момент. В большинстве работ отмечают повышенный уровень потребления кислорода в микробных сообществах ПМС, намного превышающий первичную продукцию (Obernosterer et al., 2005; Reinthaler et al., 2008; Sarmiento et al., 2015). Это свидетельствует о зависимости микробного сообщества ПМС от органики, которая поступает в экосистему извне путем вертикального переноса из водной толщи и является основой пищевой цепи (Obernosterer et al., 2005; Santos et al., 2009). Авторы констатируют высокую активность внеклеточных ферментов в отношении сложных субстратов (Tsyban, 1971; Mudryk, Skorczewski, 2000; Kuznetsova, Lee, 2001; Santos et al., 2009, 2014; Coelho et al., 2011) и в то же время низкий уровень инкорпорации мономерных субстратов, таких как глюкоза, ацетат, лейцин (Dietz et al., 1976; Obernosterer et al., 2005; Joux et al., 2006; Santos et al., 2009, 2014; Sarmiento et al., 2015). Вероятно, внеклеточную ферментативную активность стимулируют высокие

концентрации органических полимерных веществ (Santos et al., 2009), а мономерные субстраты содержатся в ПМС в очень низких концентрациях (Reinthalер et al., 2008). Тем не менее, есть работы, отмечающие не меньшую по сравнению с подповерхностным слоем активность микробных сообществ ПМС в отношении инкорпорации лейцина и тимидина (Agogue et al., 2004; Hörtnagl et al., 2010a). В микробном сообществе нейстона выявили низкое количество метаболически активных клеток, поскольку попадание в экстремальные условия ПМС может приводить к остановке их роста (Aller et al., 2005), и более низкую по сравнению с подповерхностным слоем концентрацию АТФ, что говорит о пониженной метаболической активности микроорганизмов ПМС (Dietz et al., 1976). Низкий уровень активности бактерионейстона, вероятно, является свидетельством того, что ПМС – это стрессовая среда для бактерий (Obernosterer et al., 2008; Stolle et al., 2009, 2011).

Таким образом, бактерионейстонные сообщества отличаются по составу и структуре от планктонных, численность микроорганизмов в ПМС превышает таковую в подповерхностном слое воды, что свидетельствует о наличии обособленного микробного сообщества нейстона. Метаболически микробные сообщества ПМС менее активны, чем бактериопланктон, что говорит о стрессовых условиях, в которых находятся микроорганизмы.

1.3.3. Фитонейстон

Особого внимания заслуживает фитонейстон, осуществляющий первичную продукцию вещества в ПМС. Автотрофные микроорганизмы могут находиться в ПМС в большем количестве, чем в подповерхностном слое воды (Hardy, Apts, 1984, 1989; Joux et al., 2006). Как и бактериальные сообщества ПМС, фитонейстонные ассоциации могут иметь иную структуру, чем планктонные (De Souza Limaа, Chretiennot-Dinet, 1984; Hardy, Apts, 1984, 1989; Montes-Hugo, Alvarez-Borrego, 2007). Автотрофный фитонейстон в комбинации с

гетеротрофами определяет суммарный метаболизм микробного сообщества ПМС и, соответственно, может влиять на обмен кислорода (Ploug, 2008) и углекислого газа (Calleja et al., 2005). Харди и Аптс показали, что плотность фитонейстона выше в ПМС, чем в подповерхностном слое воды, а значит уровень фиксации ими CO_2 может быть значительно выше, чем фитопланктоном (Hardy, Apts, 1989).

Таким образом, фитонейстон может отличаться по составу и численности от фитопланктона и значимо влиять на газообмен кислорода и углекислого газа.

Таким образом, микробные сообщества ПМС изучают разнообразными методами, дополняющими друг друга и позволяющими оценить те или иные характеристики сообщества или отдельных его представителей с разных точек зрения, при этом вырисовывается более объективная картина. Бактерионейстонные сообщества отличаются по составу и структуре от планктонных, численность микроорганизмов в ПМС превышает таковую в подповерхностном слое воды, что свидетельствует о наличии обособленного микробного сообщества нейстона. Метаболически микробные сообщества ПМС менее активны, чем бактериопланктон, что говорит о стрессовых условиях, в которых находятся микроорганизмы. Археи, вирусы и простейшие могут формировать особые сообщества в ПМС и отличаться численным превосходством по сравнению с подповерхностным слоем воды. Фитонейстон может отличаться по составу и численности от фитопланктона и значимо влиять на газообмен кислорода и углекислого газа.

1.4. Роль микроорганизмов в функционировании экосистемы поверхностного микрослоя воды

ПМС располагается на границе раздела воды и воздуха. Этим обусловлено его прямое участие в обмене веществ и газов между атмосферой и гидросферой (Liss, 1983; Upstill-Goddard, 2006). Участие в газообмене является одной из основных функций микроорганизмов ПМС (Agogue et al., 2004). На скорость

газообмена влияют различные факторы, такие как состояние морской поверхности и образование пузырей (Ho et al., 2000; Woolf, 2005), а также физико-химический и биологический состав ПМС (Upstill-Goddard et al., 2003; Frew, 2005).

Важным следствием расположения ПМС на границе воды и воздуха является подверженность активной инсоляции. УФ излучение считают одним из главнейших факторов, оказывающих влияние на жизнь в поверхностном микрослое (Garcia-Pichel, 1994). Способность адаптироваться к высоким дозам УФ излучения является необходимой для выживания на границе раздела воды и воздуха.

Таким образом, выявление роли микроорганизмов ПМС в газообмене, а также изучение способов их адаптации к экстремальным дозам УФ излучения представляет особый интерес.

1.4.1. Участие микробных сообществ поверхностного микрослоя воды в газообмене

Обмен газов между водой и воздухом играет фундаментальную роль в круговороте химических элементов в атмосфере Земли. Газы проходят через ПМС путем медленного молекулярного транспорта, поэтому у микробных сообществ ПМС есть достаточно времени для поглощения газов (Cunliffe et al., 2008). Проведенные исследования подтверждают, что бактерионейстон тесно вовлечен в круговорот по крайней мере некоторых климатически активных газов (CO_2 , CO , CH_4); в зависимости от происходящих в нем микробиологических и биогеохимических процессов он может быть как источником, так и потребителем газов. (Conrad, Seiler, 1988; Upstill-Goddard et al., 2000, 2003; Stubbins, 2001; Sabine et al., 2004). Обмен этих газов между воздухом и водой существен для глобальной циркуляции элементов и для климатических изменений (Cunliffe et al., 2011).

Прямое вовлечение бактерионейстона в газообмен между водой и воздухом было изучено экспериментально *in situ* при помощи свободно плавающих газообменных ящиков (Conrad, Seiler, 1988) и при помощи лабораторного газообменного бокса (Upstill-Goddard et al., 2003). Ранняя работа *in situ* выявила значительные несоответствия между поступлением и выходом монооксида углерода, метана, закиси азота (N_2O) и водорода в открытом океане, сопоставимые с микробным потреблением газа бактерионейстонным сообществом как единственным возможным поглотителем газа (Conrad, Seiler, 1988). Позже это было подтверждено Фрост, который обнаружил несоответствие в 8% между поступлением и выходом метана в прибрежных областях Северного моря (Frost, 1999). Исследование в субтропиках Атлантического океана показало, что разница между парциальным давлением CO_2 на поверхности океана и в атмосфере зависела от суммарного метаболизма микробного сообщества в поверхностном слое (≤ 2 см) и было независимым от метаболизма сообщества водной толщи на глубине 5 метров (Calleja et al., 2005).

Микробные популяции влияют на газообмен благодаря либо наличию специальных групп микроорганизмов (например, метанотрофов), либо преобладанию в сообществе фотоавтотрофов или гетеротрофов. Суммарный автотрофный метаболизм в верхних 2 см создал потребность в CO_2 и инициировал поглощение CO_2 в некоторых местах, в то время как в других суммарная гетеротрофная активность приводила к перенасыщению поверхности CO_2 и выбросу CO_2 в атмосферу (Calleja et al., 2005). Предполагаемая роль бактерионейстона в регуляции газообмена между водой и воздухом (Conrad, Seiler, 1988; Upstill-Goddard et al., 2003) требует присутствия специфических бактериальных популяций с определенным метаболизмом, чтобы значительно воздействовать на концентрации газов и газообмен. Эстуарии являются значительным источником CH_4 (Upstill-Goddard et al., 2000) и CO (Stubbins, 2001). Молекулярно-экологические исследования бактерионейстона с

использованием функциональных генетических зондов показали, что метаболическая способность участвовать в циркуляции газов широко распространена в ПМС (Cunliffe et al., 2008, 2011). Разнообразие функциональных генов, кодирующих субъединицы метан-монооксигеназы (mmoX) и углерод-монооксид-дегидрогеназы (coxL) в эстуарных образцах ПМС (глубина отбора проб 40 мкм) отличалось от разнообразия тех же самых генов в подповерхностной воде (глубина отбора 0.4 м) (Cunliffe et al., 2008). Это указывает на то, что требуемый необходимый потенциал для потребления этих газов присутствует по крайней мере в эстуарном ПМС и что бактериальные популяции там могут быть специфически адаптированы к этой среде обитания. Лабораторные эксперименты, проведенные с добавлением метан-окисляющих бактерий (метанотрофов) (Upstill-Goddard et al., 2003), подтвердили потенциал бактерионейстона контролировать обмен метана между водой и воздухом.

Таким образом, бактерионейстон тесно вовлечен в круговорот по крайней мере некоторых климатически активных газов и является потенциальным источником и потребителем газов в зависимости от состава микробных сообществ и физико-химического статуса экосистемы.

1.4.2. Адаптация микробных сообществ поверхностного микрослоя воды к УФ излучению

В связи с особенностями своего расположения – на границе раздела воды и воздуха – бактерионейстон по сравнению с бактериопланктоном особенно подвержен губительному влиянию солнечной радиации. Инсоляция является одним из главных факторов, влияющих на численность и активность бактерионейстонного сообщества (Garcia-Pichel, 1994). Водной поверхности в основном достигают солнечные лучи с длиной волны 320-400 нм (УФ-А излучение) и с длиной волны 280-320 нм (УФ-В излучение), причем последние являются наиболее опасными для бактерий, вызывая повреждения их

генетического материала. Считается, что токсический эффект УФ-В излучения обусловлен в основном поглощением фотонов молекулой ДНК, в результате чего появляются фотопродукты ДНК, которые блокируют репликацию ДНК и транскрипцию РНК, что в отсутствие эффективных репарационных механизмов может привести к гибели клетки (Cadet et al., 2005; Pattison, Davies, 2006). Кроме того, фотодеградация растворенного в воде органического вещества приводит к формированию реактивных кислородных радикалов и вызывает окислительные повреждения у бактерий (Baxter, Carey, 1983; Girotti, 2001; Pattison, Davies, 2006; Santos et al., 2013).

Несмотря на неблагоприятные условия жизни, в водном поверхностном микрослое микроорганизмы содержатся в большем количестве, чем в нижележащих слоях воды (Tsyban, 1971; Dietz et al., 1976; Fehon, Oliver, 1979; Hardy, Apts, 1984; Jones et al., 1991; Donderski et al., 1999; Agogue et al., 2004; Kuznetsova et al., 2004; Aller et al., 2005; Obernosterer et al., 2005; Joux et al., 2006; Auguet, Casamayor, 2008; Reinthaler et al., 2008; Cunliffe et al., 2009в; Santos et al., 2009, 2014; Hörtnagl et al., 2010a; Lindroos et al., 2011; Sarmiento et al., 2015). Из этого можно сделать вывод, что бактериальное сообщество поверхностного микрослоя воды имеет определенную стратегию выживания в таких экстремальных условиях. Вопрос о том, является ли бактерионейстонное сообщество специфически адаптированным к высокому уровню ультрафиолетового излучения, до сих пор открыт. С одной стороны, показано, что среди штаммов, выделенных как из поверхностного микрослоя, так и из водной толщи, доли устойчивых и чувствительных форм к УФ излучению сопоставимы (Agogue et al., 2005б). С другой стороны, культивирование бактерий при воздействии возрастающих доз УФ излучения на развивающиеся культуры изолятов и учет выживших клеток по числу колониеобразующих единиц выявили более высокую устойчивость изолятов из поверхностного

микрослоя. Они выживали при более высоких дозах УФ (Santos et al., 2011a, 2012b).

Сантос с соавторами отметили, что профильтрованные образцы водного поверхностного микрослоя в два раза более чувствительны к УФ излучению, чем нефильтрованные образцы. Этими учеными была выдвинута гипотеза, что секрет УФ резистентности кроется не только в самих бактериях, но и в их окружении, поэтому они решили выявить относительный вклад биотических и абиотических факторов в формирование УФ резистентности в бактерионейстоне (Santos et al., 2014). Методом многоступенчатой линейной регрессии было показано, что главными маркерами УФ чувствительности бактериальных сообществ являются степень бета-галактозидазной активности (показатель биологической доступности полисахаридов), концентрации фосфатов, аммиака и относительное количество *Gamma*proteobacteria и *Actinobacteria*. Положительная корреляция была выявлена между УФ чувствительностью и концентрацией аммиака и бета-глюкозидазной активностью, отрицательная – между УФ чувствительностью и концентрацией фосфатов и относительным количеством *Gamma*proteobacteria и *Actinobacteria*. Эффект фосфора на УФ чувствительность бактериальных сообществ связан, вероятно, с потребностью в АТФ для механизмов темновой репарации, которые важны при ответе бактерий на УФ радиацию (Mitchell, Karentz, 1993; Lyons et al., 1998; Pakulski et al., 1998). Отрицательный эффект доступности углерода и азота на УФ чувствительность бактерий может быть связан с негативным эффектом на метаболизм фосфора (Nausch, Nausch, 2004). *Gamma*proteobacteria неизменно относят к УФ резистентной группе бактерий (Agogue et al., 2005b; Alonso-Saez et al., 2006; Santos et al., 2012a). Высокое содержание азотистых оснований G и C, пигментация и способность к споруляции определяют высокую УФ резистентность *Actinobacteria* (Singer, Ames, 1970; Hervas, Casamayor, 2009). Кроме того, сразу после облучения УФ в бактерионейстоне и бактериопланктоне было замечено увеличение доли

Gammaproteobacteria и *Actinobacteria* (Santos et al., 2012a). Эти результаты говорят о наличии связи между долей предположительно УФ резистентных бактериальных групп и УФ чувствительностью бактериального сообщества в целом.

Фотодеградация растворенного органического вещества – еще один важный эффект УФ в ПМС. Фотохимически продуцированные низкомолекулярные карбонильные соединения, такие как ацетон и ацетальдегид, легко доступны для микробного потребления в ПМС (Bushaw et al., 1996; Moran, Zepp, 1997; Bertilsson, Tranvik, 1998), что может служить компенсацией за прямые негативные эффекты облучения.

Таким образом, адаптация микробных сообществ нейстона к УФ излучению происходит не только благодаря приспособленности отдельных микроорганизмов, но и за счет особого химического состава ПМС.

1.5. Эколого-географическая характеристика озера Байкал

Озеро Байкал является крупнейшим в мире пресноводным водоемом, располагается на северо-востоке Центральной Азии на высоте 455,9 над уровнем моря. Длина озера составляет 636 км, ширина – от 25 до 80 км (в среднем 47,8 км), общая площадь – 31500 км². Водосборная площадь 540000 км², длина береговой линии 1800 км (Атлас..., 1993). Максимальная глубина наблюдается в Средней Котловине озера и составляет 1637 м. Характерны два периода стратификации – прямая (летом) и обратная (зимой), два периода гомотермии – в середине весны и осени, когда благодаря перемешиванию ветрами и движению водных масс температура воды по всей акватории озера одинакова и составляет около 4° С. Одним из ведущих механизмов обновления глубинных вод являются крупномасштабные присклоновые циркуляции в области весенних термобаров (Шимараев и др., 1995; Shimaraev et al., 1993). Их действие вызывает поступление на большие глубины вод с повышенным содержанием кислорода и

органических веществ. Ледовый покров держится 4 месяца в году, толщина льда варьирует от 80 до 120 см и более (Lake Baikal..., 1998). Температура поверхности воды летом 12-14° С, в сорах и мелководных заливах вода прогревается до 17-18° С и 22-24° С, соответственно. Сезонные изменения охватывают лишь верхние слои – до 200-250 м, ниже температура всегда постоянна и держится на уровне 3,3-3,6°С (Shimaraev et al., 1994). Прозрачность воды наибольшая в зимнее время, в открытых глубоководных участках она достигает 25-40 м, летом снижается до 6-8 и даже 5-4 м, особенно вблизи устьев крупных рек. Вода Байкала формируется почти целиком за счет вод притоков. Особенности химического состава воды являются крайне слабая минерализация (не более 100 мг/л), исключительная бедность кальцием (15 мг/л), высокая насыщенность кислородом (не ниже 70% насыщения). На Байкале велика продолжительность солнечного сияния, которая составляет 1900 – 2000 ч/год. Приход солнечной радиации составляет в среднем 60 ккал/см² в год (Атлас..., 1993).

Большие глубины, длительный ледовый период, низкая температура воды, высокое содержание кислорода и низкая концентрация органических веществ обуславливают специфические условия жизнедеятельности микроорганизмов и направление процессов деструкции органических веществ (Гаранкина, Дагурова, 2009). Первые микробиологические исследования на Байкале были проведены еще в первой половине 20 века (Яснитский и др., 1927). Во второй половине 20 века проводили масштабные работы по изучению вертикального и горизонтального распределения, сезонной динамики общей численности бактерий и гетеротрофных микроорганизмов в водной толще озера Байкал (Кузнецов, 1951, 1957; Мессинева, 1957; Кожова, Казанцева, 1961; Младова, 1971; Максимова, Максимов, 1989 и др.). Микробиологические процессы вносят огромный вклад в круговорот органического вещества и биогенных элементов в озере. В олиготрофных пресных водоёмах за эти процессы главным образом

ответственны гетеротрофные бактерии, являющиеся показателем поступления широкого спектра органических веществ в озеро.

Гетеротрофные бактерии являются одной из самых изучаемых физиологических групп микроорганизмов озера Байкал. Их выделяли из водной толщи (Младова, 1971; Верховина, 1983; Дрюккер, Павлова, 2000; Дрюккер, Теркина, 2002; Теркина и др., 2002; Павлова и др., 2003; Виноградова, 2004; Дрюккер, Коваadlo, 2006; Парфенова и др., 2006, 2008а; Белых и др., 2013), донных осадков (Намсараев и др., 1995; Намсараев, Земская, 2000; Парфенова и др., 2005), биопленок на абиотических субстратах (Парфенова и др., 2008б), а также из ассоциаций с гидробионтами (Парфенова и др., 2008в; Jung et al., 2014). Отмечено большое разнообразие микроорганизмов, изучены их физиолого-биохимические свойства и экофизиологические особенности.

Изучение бактерионейстона озера Байкал начато в 1973 г. М. А. Мессиневой и Е. И. Бережных. Исследовалась концентрация микроорганизмов нейстонной пленки и поверхностного слоя воды 0-2 см (Никитин, 1979). В 1975-1979 гг исследование бактерионейстонных сообществ на озере Байкал проводил В. М. Никитин. Он исследовал общую численность микроорганизмов ПМС, а также проводил учет численности гетеротрофных бактерий, разлагающих легкоусвояемые органические вещества, фенолразлагающих, углеводородокисляющих и целлюлозоразрушающих микроорганизмов (Никитин, 1976, 1983). Установлено, что численность гетеротрофных бактерий нейстона значительно превышает их содержание в толще воды. Гетеротрофные микроорганизмы нейстона неравномерно распределяются по всей акватории Байкала. Их численность в большинстве случаев увеличена на прибрежных станциях вблизи населенных пунктов, а также в районе дельты р. Селенга. Выявлена прямопропорциональная зависимость между численностью гетеротрофов нейстонной пленки и осадочной микрофлорой воздуха.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования и отбор проб поверхностного микрослоя воды

Пробы поверхностного микрослоя отбирали по всей акватории озера Байкал в мае–июне 2013 – 2016 гг. (НИС “Г.Ю. Верещагин”, НИС “В.А. Коптюг”), в августе 2013, 2015, 2016 гг. (НИС “Г.Ю. Верещагин”, НИС “Г. Титов”) (рис. 5, табл. 1, приложение 4).

Пробы поверхностного микрослоя и подповерхностного слоя воды для проведения метагеномного анализа ампликонов были отобраны в мае – июне (станции 1, 8, 15) и в августе (станции 1, 3, 8, 15, 16, 18, 19) 2013 года.

Отбор проб проводили из лодки преимущественно в условиях штиля. Металлическую сетку (диаметр 26.5 см) предварительно стерилизованную 70% раствором этанола, промывали природной водой, погружали горизонтально в воду, затем так же горизонтально поднимали вверх. Через несколько секунд сетку сгибали, наклоняли и давали стечь воде, оставшейся в ячейках, в стерильный контейнер. Интегральную пробу воды (около 500 мл) собирали в течение 20–30 мин непрерывного пробоотбора. Поликарбонатные фильтры (май – июнь 2013 г.) (диаметр фильтра 47 мм, размер пор 0.22 мкм) стерильным пинцетом выкладывали на поверхность воды на 15–30 с, затем аккуратно поднимали и помещали в стерильную пробирку объемом 50 мл. Для получения интегральной пробы объединяли шесть фильтров с впитавшимся поверхностным слоем воды. Для десорбции бактерий в пробирку с фильтрами добавляли 20 мл раствора Tween-80 (конечная концентрация 2%) и интенсивно встряхивали в течение 5 мин.

Таблица 1.

Станции отбора проб поверхностного микрослоя воды в 2013 – 2016 гг.

	станция	2013		2014	2015		2016	
		май	август	май	май	август	май	июль
1	12 км п. Култук	+	+	+		+		
2	3 км п. Солзан	+	+	+				
3	ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	+	+	+			+	
4	3 км п. Маритуй	+	+	+			+	
5	ц. ст. м. Ивановский–п. Мурино					+		
6	з. Лиственничный	+	+	+				
7	ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой	+	+	+				
8	3 км п. Танхой	+	+	+				
9	напротив п. Большие Коты					+		
10	напротив г. Бабушкин				+			
11	б. Песчаная							+
12	б. Бабушка		+					
13	1 км прот. Харауз (р. Селенга)		+					
14	3 км прот. Харауз (р. Селенга)	+	+					
15	ц. ст. р. Анга–р. Сухая	+	+	+				
16	з. Мухор (пр. Малое Море)		+					
17	б. Базарная (пр. Малое Море)		+					
18	ц. ст. пр. Малое Море	+	+	+				
19	напротив п. Хужир				+			
20	3 км м. Ухан	+	+					
21	ц. ст. м. Ухан–м. Тонкий	+	+	+	+			
22	3 км м. Тонкий	+	+	+	+			
23	м. Шунте Правый				+			
24	пр. Малое Море							+
25	ц. ст. з. Баргузинский		+	+		+		
26	м. Солнечный					+		
27	з. Чивыркуйский	+						+
28	ц. ст. м. Заворотный–р. Сосновка					+		
29	ц. ст. м. Елохин–п. Давша					+	+	
30	3 км п. Давша			+				
31	ц. ст. м. Котельниковский–р. Амнундакан						+	
32	3 км м. Турали			+			+	
33	ц. ст. п. Байкальское–м. Турали			+		+	+	
34	3 км п. Байкальское			+				
35	б. Ая							+
36	б. Фролиха							+
37	напротив б. Фролиха							+
38	ц. ст. р. Тья–м. Немнянка	+			+			
39	м. Биракан				+			
40	5 км р. Верхняя Ангара				+			
41	Ангари-Кичерское мелководье (о. Миллионный)					+		
42	3 км г. Нижнеангарск	+				+		



Рис. 5. Схема станций отбора проб поверхностного микрослоя воды на озере Байкал в 2013 – 2016 гг.

Толщину забираемого слоя воды определяли как отношение объема собранного образца к площади сетки или фильтра соответственно (Agogue et al., 2004). Объем воды (V), впитываемой фильтром, определяли по формуле: $V = m/\rho$, где m – масса впитавшейся воды, ρ – плотность воды. Массу впитавшейся воды рассчитывали как разницу при взвешивании фильтра, впитавшего в себя поверхностный микрослой воды, и сухого фильтра, средняя масса которого составила 0.028 ± 0.001 г.

2.2. Культивирование гетеротрофных бактерий

Для культивирования гетеротрофных микроорганизмов проводили глубинный посев воды на среды R2A (SIGMA-ALDRICH, USA) (pH 7,2), РПА/10 (г/л: питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой – 2.0, бактериологический агар – 15.0, pH 7.2) и ПДС (г/л: пептон сухой ферментативный – 1.0, дрожжевой экстракт – 1.0, бактериологический агар – 15.0, pH 7.2). Чашки со средой R2A культивировали при температуре 4°C в течение 12–14 суток, остальные – при 20–25°C в течение 5–7 суток. Чистые культуры получали в серии истощающих посевов до отдельных колоний.

2.3. Изучение морфологических признаков гетеротрофных бактерий

2.3.1. Световая и эпифлюоресцентная микроскопия

Морфологические свойства изучали путем микроскопирования окрашенных по методу Грама мазков (микроскоп Axiostar Plus, Carl Zeiss, Германия) с увеличением $\times 100$ (Практикум..., 2005). При этом отмечали форму микробных клеток, характер их расположения, наличие спор, тинкториальные свойства, определяли чистоту культуры.

Метод окраски по Граму: Мазки окрашивали в течение 1-2 минут карболовым генциановым фиолетовым, затем краситель сливали, но не промывали водой. Мазок обрабатывали 1–2 минуты раствором Люголя до почернения. Раствор Люголя смывали. Далее препарат обрабатывали для обесцвечивания 1 минуту 96% этаноловым спиртом. Спирт наливали на мазки, слегка покачивая стекло, и меняли его несколько раз. Чтобы исключить излишнее обесцвечивание клеток, к спирту добавляли йод (2 см³ 10% спиртового раствора йода на 100 см³ этанола). Препарат промывали водой. Дополнительно окрашивали 1–2 минуты водным фуксином. Краситель сливали.

Для эпифлюоресцентной микроскопии в пробу воды, фиксированную глутаровым альдегидом до 1% финальной концентрации или формалином до 2%

финальной концентрации, добавляли краситель ДАФИ из расчета 0,002 мг сухого красителя на 1 мл пробы или SYBRGreenI. Пробу окрашивали в темноте в течение 10 минут, затем фильтровали через окрашенные суданом черным поликарбонатные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм. Фильтры подсушивали на воздухе и помещали на каплю иммерсионного масла под покровное стекло и микроскопировали (микроскоп Axiostar Plus, Carl Zeiss, Германия, снабженный ртутной лампой HBO 100W и камерами MRm и MRc5) с увеличением $\times 100$. Для эпифлюоресцентной микроскопии использовали ультрафиолетовый фильтр. Подсчет микроорганизмов проводили не менее чем в 20 полях зрения по формуле:

$$x = (e \times 10^6 \times d) / (a \times ж \times г),$$

где x – количество бактерий в 1 мл воды; e – площадь фильтра, мм^2 ; 10^6 – переводной коэффициент (мм^2 в мкм^2); d – сумма подсчитанных бактерий в полях зрения $г$; a – площадь (мкм^2) окулярного сетчатого окуляра при том же увеличении, т.е. площадь поля зрения (15542 мкм^2); $ж$ – объем профильтрованной воды (мл), $г$ – число полей зрения, в которых подсчитывались бактерии на площади a .

2.4. Изучение физиолого-биохимических признаков гетеротрофных бактерий

2.4.1. Изучение способности бактерий утилизировать моно- и дисахариды, спирты, аминокислоты

Культуры микроорганизмов высевали на синтетические среды, содержащие в качестве единственного источника углерода различные моно-, дисахариды и многоатомные спирты (арабиноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, лактоза, мальтоза, манноза, рамноза, рафиноза, сахароза, фруктоза, дульцит, инозит, маннит, сорбит). Для этого использовали готовые среды Гисса «БиоКомпас-С» (Углич, Россия). Сухие готовые среды заливали дистиллированной водой,

кипятили 1–2 минуты, затем разливали в пробирки по 5 мл, автоклавировали 12 минут при температуре 112°C 0.5 атм. Исследуемую культуру бактериологической петлей заседали в пробирку со средой уколом, инкубировали 24 часа при комнатной температуре. Изменение цвета среды свидетельствовало о способности микроорганизма утилизировать тот или иной субстрат (Практикум..., 2005).

Для тестирования культур на способность утилизировать аминокислоты применяли среды следующего состава (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 0.5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.2; NaCl – 0.1; аминокислота (пролин, лейцин, фенилаланин или аланин (Sigma)) – по 3.5; индикатор бромтимоловый синий – 0.04; агар бактериологический – 8. Сухие навески сред заливали дистиллированной водой, плавил на водяной бане до полного растворения. Затем доводили рН до 7.2, используя 1Н раствор NaOH или HCl . Среда разливали в пробирки по 5 мл, автоклавировали 20 минут при температуре 112°C (0.5 атм). Исследуемую культуру бактериологической петлей заседали в пробирку со средой уколом, инкубировали при комнатной температуре в течение суток. Изменение цвета среды свидетельствовало о способности утилизировать ту или иную аминокислоту (Практикум..., 1976).

2.4.2. Определение активности внеклеточных ферментов

Каталаза. Исследуемую культуру выращивали на поверхности плотной питательной среды, затем наносили каплю 10% раствора перекиси водорода на колонию. Отмечали интенсивность выделения кислорода, хорошо заметное по образованию пузырьков газа, что свидетельствовало о продукции клетками каталазы (Практикум..., 1976).

Фосфатаза. Для определения фосфатазной активности использовали стандартный набор реагентов ALKALINEPHOSPHATASE "FL" (VITALDIAGNOSTICSSPb, Россия). Стандартный раствор реагента, содержащий *n*-нитрофенилфосфат, капают в планшеты по 0.25 мл в каждую лунку, куда

вносили биомассу исследуемых культур в размере 1 бактериальной петли. Фосфатазную активность оценивали по интенсивности желтой окраски полученной суспензии через час и 24 часа инкубирования при комнатной температуре (Практикум..., 2005).

Протеаза. Тестирование на протеолитическую активность проводили на молочном агаре (протеолиз казеина) и на среде с желатином. Для приготовления молочного агара в стерильный голодный агар (1.8%) добавляли стерильное обезжиренное молоко (15 мл на 100 мл). Учет результатов проводили на 3–5 сутки инкубирования при комнатной температуре по диаметру зоны просветления вокруг колонии. Гидролиз желатина изучали на чашках Петри, которые предварительно заливали голодным агаром, а затем – 25%мясопептонным желатином. Учет результатов проводили на 3–5 сутки инкубирования при комнатной температуре по диаметру воронки, образующейся вокруг колонии (Практикум..., 2005).

Амилаза. Для определения амилалитической активности использовали крахмальный агар (г/л): KH_2PO_4 – 0.5; K_2HPO_4 – 0.5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.2; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0.2; крахмал – 10; агар бактериологический – 15. В готовую среду уколом вносили исследуемые культуры. Гидролиз крахмала оценивали на 3–5 сутки культивирования при комнатной температуре по зоне просветления вокруг укола, проявляющейся после нанесения раствора Люголя (Практикум..., 2005).

Липаза. Тестирование на липолитическую активность проводили на желточном (гидролиз фосфолипидов) и трибутириновом агарах. Для приготовления желточного агара к расплавленному и охлажденному до 50°C голодному агару добавляли 5% стерильный «яичный раствор» (яичный желток, разведенный 1:1 0.85% раствором NaCl). Для приготовления трибутиринового агара в стерильный 2% голодный агар, охлажденный до 80°C, добавляли трибутирин (Fluka №91010) и перемешивали на магнитной мешалке в течении 2–3 часов до полной гомогенизации. На застывшие агаровые пластинки уколом

наносили культуры и инкубировали в течение 5 дней при комнатной температуре. Учет результатов проводили по мере роста культур по диаметру зоны просветления вокруг колонии (Практикум..., 2005).

Для изучения ферментативной активности бактериальных сообществ нейстона и подповерхностного слоя воды в весенние и летние сезоны 2015–2016 гг. был проведен глубинный посев проб воды на молочный (МА), крахмальный (КА) и желточный (ЖА) агар.

2.5. Молекулярно-генетические методы исследования микробных сообществ поверхностного микрослоя воды

2.5.1. Выделение геномной ДНК

Выделение геномной ДНК отдельных штаммов проводили из суточных культур с помощью коммерческого набора «ДНК-сорб В» по прилагаемым к наборам инструкциям производителя (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). К 100 мкл взвеси чистых культур в стерильной воде добавляли 300 мкл лизирующего раствора. Центрифугировали 7 минут при 12000 об/мин и переносили надосадочную жидкость в новую пробирку. К надосадочной жидкости добавляли 25 мкл сорбента универсального, суспендировали на вортексе и ставили на 10 мин в ротатор. Центрифугировали при 8000 об/мин в течение 30 с, затем удаляли надосадочную жидкость. Далее проводили серию отмывок сорбента с ДНК от белков, солей и других ингибиторов ПЦР согласно протоколу. Отмытый сорбент сушили 15 мин при 65°C в термостате «Термит». Для элюирования ДНК добавляли 25 мкл H₂O и центрифугировали при 13400 об/мин в течение 3 мин.

Для выделения суммарной ДНК 50 мл воды фильтровали через поликарбонатные фильтры с диаметром пор 0.22 мкм (Millipore, США). В пробирку с фильтром добавляли 100 мкл ТЕ-буфера (10 мМ трис-HCl, pH=7.5; 1 мМ ЭДТА). Суммарную ДНК выделяли коммерческими наборами ДНК-сорб В

(ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) и BacterialGenomicDNAkit (Axugen, USA) согласно протоколу производителей и эквимольно объединяли в пул перед использованием в качестве матрицы в дальнейшем анализе.

2.5.2. Полимеразная цепная реакция

ПЦР проводили с использованием консервативных бактериальных праймеров на фрагмент гена 16S рРНК EUB27L (5′–3′: AGAGTTTGATCATGGCTCAG) – EUB1542R (5′–3′: САКАААGGAGGTGATCC) (Brosius et al., 1981). В состав реакционной смеси (объем 10 мкл) для проведения полимеразной цепной реакции входили следующие компоненты: 1×ПЦР буфер (рН=8.8), 2.5 мМ MgCl₂, 1 мМ дНТФ, два праймера (по 10 пмоль/ 25 мкл каждого), *N-Taq* ДНК-полимераза (1 ед. акт./25 мкл) и от 10 до 50 нг (1 мкл) ДНК. Использовали следующий режим реакции: в первом цикле денатурация при 95°C – 5 мин, затем 30 циклов: денатурация 94°C – 30 с, отжиг 58°C – 30 с и элонгация 72°C – 90 с, в последнем цикле время элонгации увеличивали до 7 мин. Амплификацию проводили в термоциклере Бис (БИС-Н, Россия). Ампликоны анализировали с помощью электрофореза в 1.5 % агарозном геле в 1×ТАЕ с добавлением этидиум бромид (конечная концентрация 2 мкг/мл), визуализировали на трансиллюминаторе и очищали.

2.5.3. Секвенирование по Сэнгеру и филогенетический анализ

Для секвенирования по Сэнгеру целевые ампликоны вырезали из геля и элюировали ДНК центрифугированием при 13400 об/мин в течение 15 мин. Сиквенсную реакцию вели с набором BigDye® Terminator (Applied Biosystems) согласно протоколу фирмы-производителя. В реакцию брали 10–20 нг ампликона и 3–5 пмоль праймера. Нуклеотидные последовательности определяли на автоматическом капиллярном секвенаторе ABI3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Филогенетический анализ полученных последовательностей проводили с помощью программ Clustal-W, Mega 6.06 (Neighbour-Joining, Kimura 2-parameter model), сравнительный анализ – с базами данных ENA Prokaryota и ENA Environmental. Бутстреп поддержка была рассчитана на 1000 реплик.

2.5.4. Метагеномный анализ ампликонов

Май 2013 (3 пробы): Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК, содержащего три переменных района V1–V3, проводили на зубактериальных праймерах V1-9F и V3-541R (5'-X-AC-GAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' и 5'-X-AC-WTTACCGCGGCTGCTGG-3' соответственно, где X – 8-нуклеотидный бар-код, уникальный для каждого отдельного образца, за которым следует линкер AC) (Chun et al., 2010). Амплификация и метагеномное секвенирование ампликона 16S рДНК было проведено на реактивах и пиросеквенаторе 454 Genome Sequencer FLX Titanium (Roche) компанией ChunLab Inc. (Корея).

Август 2013 (7 проб): Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК, содержащего три переменных района V4–V6, проводили на зубактериальных праймерах V4-518FiV6-1064R (5'-CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGAC-TCAG-X-CCAGCAGCYGCGGTAAN-3' и 5'-CCATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTC-TCAG-CGACRRCCATGCANCACCT-3' соответственно), где X – 10-нуклеотидный бар-код, уникальный для каждого отдельного образца) (Filkins et al., 2012).

Для амплификации в состав реакционной смеси (25 мкл) входили следующие компоненты: 1×ДНК-полимераза (Encyclopolymerasemix), 1×буфер Encyclobuffer, 0.2 мкМ (2,5 мкл) прямого и обратного праймера, 10 нг (5 мкл) ДНК и 1 мМ дНТФ (ThermoScientific). Температурный режим амплификации был следующий: изначальная денатурация матрицы при 94°C 2 мин – 1 цикл, 94°C – 30 с, 58°C – 30 с, 72 °C – 45 с (25 циклов), и постэлонгация при 72°C 10 мин. Метагеномное секвенирование ампликонов 16S рДНК было проведено на реактивах и

пиросеквенаторе 454 Genome Sequencer FLX Titanium (Roche) (Лимнологический институт СО РАН).

2.6. Биоинформационный анализ и статистическая обработка данных

Секвенирование по Сэнгеру. Редактирование полученных последовательностей проводили в программе BioEdit. Последовательности анализировали с использованием программы BLAST сервера NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>).

Метагеномное секвенирование. Обработку метагеномных данных проводили в программе Mothur.v.1.33.3 (Schloss et al., 2009) (<http://www.mothur.org>). Последовательности длиннее 150 нуклеотидов были отобраны для дальнейшего анализа и выравнены с последовательностями, зарегистрированными в базе данных SILVA (http://www.mothur.org/wiki/Silva_reference_files). Для упрощения массива данных выполнили прекластеризацию путем группирования последовательностей, различающихся на два нуклеотида. Химерные последовательности обнаруживали при помощи алгоритма UCHIME (Edgar et al., 2011) со стандартными параметрами и удаляли из дальнейшего анализа. Полученные в ходе метагеномного секвенирования последовательности были идентифицированы путем сравнения с данными, зарегистрированными в базе RibosomalDatabaseProject (RDP) (<http://rdp.cme.msu.edu>) (Cole et al., 2009) и SILVA, при этом бутстреп поддержка составляла не менее 80%. Филотипы (операционные таксономические единицы, ОТЕ) выделяли при кластерном расстоянии 0.03. Сопоставление полученных последовательностей с известными последовательностями гена 16S рРНК проводили в программе BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Анализ альфа- и бета-разнообразия выполняли в программе Mothur. Для оценки видового богатства были рассчитаны индексы разнообразия (ACE,

СНАО, обратный индекс Симпсона), построены кривые накопления видов. Для оценки достоверности различий между бактериальными сообществами поверхностного микрослоя по составу и представленности ОТЕ применяли анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) в программе Mothur.

Для построения графиков применяли программу Mothur v.1.33.3 и пакеты языка программирования R 2.4-3. Phyloseq (McMurdie, Holmes, 2013) и Vegan (Oksanen et al., 2017). Для подготовки данных метагеномного секвенирования к анализу проведена стандартизация количества прочтений для каждой ОТЕ относительно медианы глубины секвенирования каждой пробы. Отфильтрованы ОТЕ с количеством прочтений < 5 , а также имеющие коэффициент вариации по пробам $< 0,1$ (май-июнь) или $< 0,5$ (август) и встречающиеся в малом количестве проб ($< 20\%$ проб). Проведено сравнение бактериоценозных сообществ, отобранных летом, методами NMDS и PCoA. Для сравнения весенних и летних бактериоценозных сообществ полученные наборы данных объединяли по таксономии. Проводили процедуру стандартизации прочтений по медианам глубины секвенирования каждой пробы. Удаляли таксоны с количеством прочтений < 5 . Отфильтровывали таксоны, имеющие коэффициент вариации по пробам $< 0,5$, а также встречающиеся менее чем в 20% проб. Анализ полученной таблицы встречаемости таксонов осуществляли методами NMDS и PCoA. Для визуализации данных в виде Plotbar дополнительно удаляли таксоны с числом последовательностей < 100 .

Нуклеотидные последовательности фрагмента гена 16S рРНК депонированы в базу данных NCBI: (LN736018, LN831989–LN832022, KU844067, KY454478–KY454528).

Результаты метагеномного анализа зарегистрированы в международной базе данных NCBI (№№ PRJNA298850, PRJNA374757).

Статистическая обработка результатов проведена при помощи программы R-Studio 3.3.1 (<https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/3.1.1/>).

ГЛАВА 3. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЧИСЛЕННОСТЬ БАКТЕРИЙ В ПОВЕРХНОСТНОМ МИКРОСЛОЕ ВОДЫ ОЗЕРА БАЙКАЛ

3.1. Адаптация методов отбора проб поверхностного микрослоя воды в условиях озера Байкал

Для получения корректных результатов очень важен отбор интегральной пробы ПМС из-за небольшой толщины исследуемого слоя воды. По литературным данным работы, посвященные сравнению методик пробоотбора, выполнены только для морских экосистем (Agogue et al., 2004; Cunliffe et al., 2009б). Поэтому в начале работы было проведено сопоставление разных методов отбора проб поверхностного микрослоя с целью определения оптимального в условиях пресноводного озера Байкал.

На основе изучения мирового опыта были выбраны два метода отбора проб ПМС для адаптации в условиях оз. Байкал: сетчатый экран Гарретта (Garrett, 1965) и поликарбонатные мембранные фильтры (Crow et al., 1975; Kjelleberg et al., 1979). Сетчатый экран был выбран, учитывая широкую распространенность метода и максимальную скорость при отборе проб. Преимущество мембранных фильтров состоит в том, что они впитывают слой воды, сопоставимый с истинной толщиной ПМС.

Сравнение этих методов было проведено в ходе экспедиции на НИС “Г.Ю. Верещагин” в мае–июне 2013 г. на станциях 3 км от м. Тонкий, пр. Малое Море, 12 км от п. Култук, 3 км от п. Маритуй, а также на центральных станциях разрезов п. Маритуй–п. Солзан, п. Листвянка–п. Танхой и р. Тья–м. Немнянка.

3.1.1. Оценка толщины забираемого поверхностного микрослоя воды с помощью разного инструментария для пробоотбора

Толщину забираемого слоя воды определяли как отношение объема собранного образца к площади сетки или фильтра соответственно (Agogue et al.,

2004). Объем воды (V), впитываемой фильтром, определяли по формуле: $V = m/\rho$, где m – масса впитавшейся воды, ρ – плотность воды. Массу впитавшейся воды рассчитывали как разницу при взвешивании фильтра, впитавшего в себя поверхностный микрослой воды, и сухого фильтра, средняя масса которого составила 0.028 ± 0.001 г.

Толщина водного слоя, забираемого сеткой и фильтрами в оз. Байкал, составила 362–420 и 50–55 мкм соответственно. Учитывая площадь сетки и фильтра (0.0551 и 0.0017 м² соответственно), расчет объема интегральной пробы показал, что сеткой собирали гораздо больший объем поверхностной воды, чем фильтрами, и единовременный забор составил 20–23 и 0.86–0.90 мл соответственно. Таким образом, фильтрами отбирали более тонкий поверхностный микрослой, что очень важно для количественных микробиологических исследований, но при этом затруднительно получение достаточного объема интегральной пробы воды для комплексных исследований.

Согласно сведениям, приводимым в мировой литературе, толщина водного поверхностного микрослоя, отбираемого сеткой, варьирует в пределах 150 – 400 мкм (Carlson, 1982; Cunliffe et al., 2009б). Результаты наших наблюдений попадают в вышеуказанный диапазон. Толщина поверхностного микрослоя при отборе гидрофильными поликарбонатными фильтрами составила 35 – 42 и 100 – 212 мкм по оценке Франклин, Канлифф (Franklin et al., 2005; Cunliffe et al., 2009б) и Агоги (Agogue et al., 2004), соответственно. Результаты наших наблюдений ближе к оценке Франклин и Канлифф и, также как и в случае металлической сетки, согласуются с данными литературы.

3.1.2. Количественная характеристика бактериальных сообществ поверхностного микрослоя воды озера Байкал при отборе проб сеткой и фильтрами

Для сравнения методов был также проведен учет численности культивируемых гетеротрофных бактерий (ЧКГБ). На одних станциях большую численность регистрировали при отборе проб ПМС сеткой, на других – мембранными фильтрами. При отборе металлической сеткой на всех станциях были получены сопоставимые значения ЧКГБ (средние значения приведены в таблице 2). В случае применения мембранных фильтров обнаружена значимая отрицательная корреляционная связь между ЧКГБ и силой ветра (коэффициент корреляции Пирсона (ККП) составил -0.81 для гетеротрофных, -0.83 для психрофильных и -0.79 для олиготрофных бактерий, $p < 0.05$). Максимальные значения численности регистрировали в штилевую погоду, при нарастании силы ветра численность культивируемых бактерий снижалась (табл. 2, рис. 6). Вероятно, такая закономерность связана с тем, что ветровое перемешивание приводит к разбавлению поверхностного микрослоя подповерхностной водой, поэтому фильтрами отбирается перемешанный слой воды толщиной ~ 50 мкм.

Таблица 2.

Средняя численность культивируемых гетеротрофных (ЧКГБ), психрофильных (ЧКПБ) и олиготрофных (ЧКОБ) бактерий (КОЕ/мл) в ПМС оз. Байкал при разной скорости ветра (весна 2013 г.)

Сила ветра, м/с	ЧКГБ		ЧКПБ		ЧКОБ	
	с	ф	с	ф	с	ф
0	38 ± 15	419 ± 34	66 ± 32	313 ± 25	66 ± 31	505 ± 67
1.3 – 4.9	46 ± 17	20 ± 7	71 ± 32	14 ± 6	63 ± 31	12 ± 5

Примечание. Данные получены при отборе металлической сеткой (с) и фильтрами (ф). После знака « \pm » приводится величина стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

При отборе проб металлической сеткой не было обнаружено достоверной связи между численностью культивируемых бактерий и силой ветра (ККП, $p > 0.05$), что, вероятно, объясняется значительно – в 7-8 раз – большей толщиной отбираемого слоя воды.

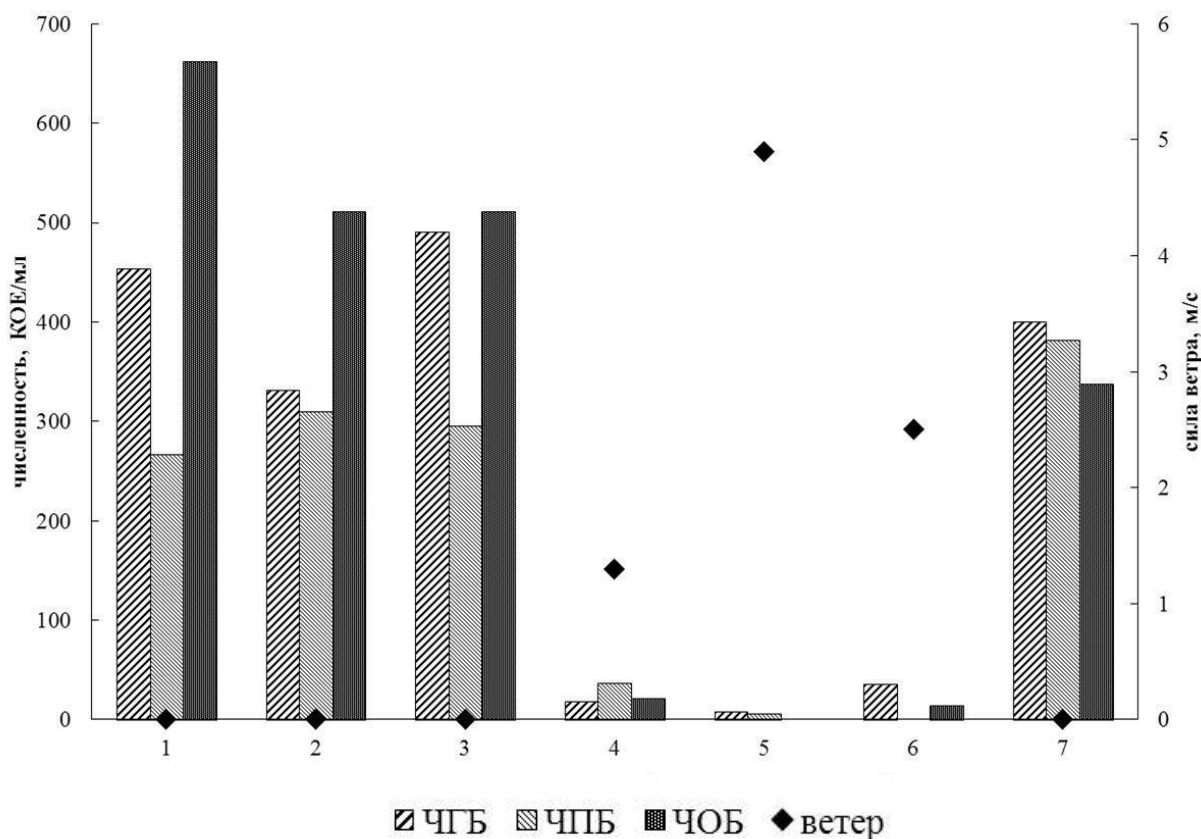


Рис. 6. Численность различных групп культивируемых гетеротрофных бактерий в условиях отбора проб ПМС поликарбонатными мембранными фильтрами при разной силе ветра (весенний сезон 2013 г.)

1 – 12 км от п. Култук; 2 – ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан; 3 – 3 км от п. Маритуй; 4 – 3 км от м. Тонкий; 5 – пр. Малое Море; 6 – ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой; 7 – ц. ст. р. Тья–м. Немнянка

Разбавлением ПМС подповерхностной водой при отборе проб сеткой можно также объяснить более низкую численность культивируемых бактерий по

сравнению с методом мембранных фильтров в условиях штиля (табл. 2). (тест Манна-Уитни-Вилкоксона (ТМУВ), $p < 0.05$).

Таким образом, в условиях оз. Байкал для комплексной характеристики бактериальных сообществ нейстона предпочтителен метод отбора проб металлической сеткой. Металлическую сетку можно применять при наличии слабого ветра, в то время как метод мембранных фильтров требует штилевой погоды. Кроме того, сетка позволяет отбирать больший объем воды, что необходимо для проведения не только микробиологических исследований, таких как изучение разнообразия и определение численности культивируемых бактерий, но и молекулярно-генетических, позволяющих изучить сообщество *insitu*, а также химических исследований.

3.2. Распределение общей численности бактерий и численности культивируемых гетеротрофных бактерий в поверхностном микрослое и подповерхностном слое воды озера Байкал

Общую численность бактерий (ОЧБ) в ПМС и ПСВ определяли весной и летом 2013 г., весной 2014 г., а также весной и летом 2015 г. (табл. 3, приложение 5).

Таблица 3.

Средние значения ОЧБ (10^6 кл/мл) в ПМС и ПСВ оз. Байкал в весенние и летние сезоны 2013 – 2015 гг.

Сезон	Слой воды	2013 г.	2014 г.	2015 г.
Весна	ПМС	1.49 ± 0.47	1.03 ± 0.21	0.93 ± 0.38
	ПС	0.79 ± 0.25	0.89 ± 0.13	0.83 ± 0.24
Лето	ПМС	2.24 ± 0.48	нд	1.73 ± 0.34
	ПС	1.4 ± 0.21	нд	1.15 ± 0.22

Примечание. После знака « \pm » приводится величина стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

ОЧБ в ПМС оз. Байкал согласно данным В. М. Никитина (1983) колебалась в пределах $570 - 2238 \times 10^6$ кл/мл, что на 3 порядка превышает показатели, полученные нами. По данным литературы столь высокие значения ОЧБ не фиксировали в поверхностном микрослое ни пресных, ни морских водоемов. В. М. Никитин для подсчета ОЧБ использовал метод Разумова (Романенко, Кузнецов, 1974). В. В. Максимов и Е. В. Щетинина (2009), занимавшиеся исследованием бактериопланктонных сообществ оз. Байкал, показали, что метод Разумова сопоставим с методом окраски пробы ДАФИ при оценке ОЧБ, поэтому различия в полученных значениях не могут быть объяснены ошибкой метода. В то же время В. М. Никитин (1983) несколько модифицировал классическую методику, используя вместо мембранного фильтра полиэтиленовую пленку. Возможно, вследствие этого был произведен ошибочный расчет ОЧБ. В подповерхностном слое воды (0-2 см) ОЧБ колебалась в пределах $0.7 - 2.8 \times 10^6$ кл/мл (Никитин, 1983), что сопоставимо с нашими результатами. По данным за последние годы ОЧБ в поверхностном слое (0-50 м) озера Байкал составляет $0.2 - 2.2 \times 10^6$ кл/мл (Парфенова и др., 2000; Шимараев и др., 2000; Михайлов и др., 2015), что также согласуется с нашими данными.

Полученные нами значения соответствуют приведенным и для других пресных водоемов. Так, по данным Аугуэт и Казамайор, изучавших высокогорные озера в центральных Пиренеях, ОЧБ в нейстоне варьировала в пределах $0.2 - 12.2 \times 10^6$ кл/мл, Сарменто с соавторами, также исследовавших высокогорные озера в центральных Пиренеях – $0.3 - 2.0 \times 10^6$ кл/мл, Хортнагл с соавторами, проводивших отбор проб в высокогорных озерах Альп – $0.2 - 3.2 \times 10^6$ кл/мл (Auguet, Casamayor, 2008; Hörtnagl et al., 2010a, 2010b; Sarmento et al., 2015). В подповерхностном слое воды эти же авторы указывают интервалы $0.1 - 1.1 \times 10^6$ кл/мл, $0.3 - 1.8 \times 10^6$ кл/мл, $0.2 - 0.7 \times 10^6$ кл/мл, соответственно.

Средние значения ЧКГБ в ПМС и в подповерхностном слое воды в различных котловинах оз. Байкал представлены в таблице 4. Озеро Байкал

представляет собой пресный, олиготрофный и холодноводный водоем и для характеристики его бактериальных сообществ важно учитывать такие физиологические группы, как психрофилы и олиготрофы. Статистически методом МУВ не было найдено достоверных различий между численностью гетеротрофных, психрофильных и олиготрофных бактерий в ПМС, а также в ПСВ как в весенний, так и в летний периоды ($p > 0.05$). Несомненно, бактерии, обитающие в ПМС и ПСВ оз Байкал, хорошо приспособлены к жизни в таких условиях, однако скорее всего не являются облигатными олиготрофами, поэтому хорошо растут на средах с разным содержанием питательных веществ. Что касается психрофилов, их численность не отличалась от других групп бактерий, однако им требовалось больше времени на рост. Так, ЧГБ и ЧОБ учитывали на 5-7 сутки культивирования при комнатной температуре, а ЧПБ – на 12 – 14 сутки культивирования при 4°C. В связи с отсутствием достоверных различий между ЧГБ, ЧПБ и ЧОБ в таблице 4 приведены средние значения, справедливые для всех групп бактерий.

В. М. Никитиным, проводившим учет культивируемых гетеротрофных бактерий в ПМС оз. Байкал, получены значения в пределах 14200 – 286000 КОЕ/мл, что сопоставимо с полученными нами результатами для летнего периода. К сожалению, не удалось найти данные о численности культивируемых бактерий в других пресных водоемах. В морских экосистемах численность культивируемых бактерий в ПМС превышает таковую в оз. Байкал. Так, по данным Диетц с соавторами, исследовавших Тихий океан в районе острова Ванкувер, численность культивируемых бактерий в ПМС колебалась в пределах $2.1 \times 10^3 - 2.3 \times 10^6$ КОЕ/мл (Dietz et al., 1976). Фехон, Оливер приводят цифры $2.0 - 5.6 \times 10^6$ КОЕ/мл в ПМС для эстуария в Северной Каролине (Fehon, Oliver, 1979). Жукс с соавторами в Средиземном море установили, что численность культивируемых бактерий в ПМС варьирует в пределах $3.3 - 611 \times 10^3$ КОЕ/мл (Joux et al., 2006).

Различия в численности как культивируемых гетеротрофных бактерий, так и в ОЧБ между пелагиальными и литоральными станциями, а также между различными котловинами оз. Байкал (приложение 5) были незначимы как в ПМС, так и в подповерхностном слое воды (ТМУВ, $p > 0.05$).

Таблица 4.

Средняя ЧКГБ (КОЕ/мл) в ПМС и ПСВ в Южной (ЮК), Средней (СрК) и Северной (СК) котловинах оз. Байкал в весенние и летние сезоны 2013 – 2016 гг.

Сезон	Слой воды	Котловина	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.
Весна	ПМС	ЮК	65 ± 22	445 ± 231	378 ± 22*	59 ± 41
		СрК	48 ± 10	610 ± 374	2121 ± 1142	4726 ± 717
		СК	512 ± 308**	252 ± 160	25 ± 13**	3630 ± 923
	ПС	ЮК	9 ± 2	109 ± 48	52 ± 9*	1 ± 0.7
		СрК	60 ± 38	158 ± 69	56 ± 27	40 ± 26
		СК	13 ± 4**	114 ± 24	295 ± 279**	188 ± 99
Лето	ПМС	ЮК	7082 ± 3642	нд	11017 ± 2122	99226 ± 9562*
		СрК	7456 ± 1484	нд	2394 ± 358	22719 ± 15973
		СК	нд	нд	5887 ± 2606	15813 ± 3231
	ПС	ЮК	730 ± 211	нд	1620 ± 580	1856 ± 133*
		СрК	1138 ± 188	нд	654*	161 ± 57
		СК	нд	нд	839 ± 572	302 ± 167

Примечание. После знака «±» приводится величина стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05; * – отбор проб проводили только в одной точке; ** – отбор проб проводили только в двух точках; нд – нет данных.

Различия в ЧКГБ между ПМС и ПСВ были значительными во все сезоны за исключением весны 2014 г. (ТМУВ, $p < 0.05$). Достоверные различия в ОЧБ между поверхностным микрослоем и подповерхностным слоем воды выявлены только в летние сезоны (ТМУВ, $p < 0.05$); в весенние сезоны значимых отличий обнаружено не было (ТМУВ, $p > 0.05$).

Поскольку в межгодовой динамике не было обнаружено значимых различий в ОЧБ и ЧКГБ как в весенние, так и в летние сезоны (ТМУВ, $p > 0.05$) в ПМС и

ПС, провели вычисление средних значений ОЧБ и ЧКГБ для всех весенних и летних сезонов. Данные представлены в таблице 5.

Таблица 5.

Средние значения ОЧБ (10^6 кл/мл) и ЧКГБ (КОЕ/мл) в ПМС и ПС озера Байкал в весенние и летние периоды

Сезон	Слой воды	ОЧБ, 10^6 кл/мл	ЧКГБ, КОЕ/мл
весна	ПМС	1.17 ± 0.2	715 ± 206
	ПС	0.85 ± 0.11	100 ± 26
	ПМС/ПС	1.4	7.15
лето	ПМС	2 ± 0.31	13390 ± 3970
	ПС	1.28 ± 0.16	905 ± 147
	ПМС/ПС	1.55	14.8
лето/весна	ПМС	1.7	18.7
	ПС	1.5	9.05

Примечание. После знака « \pm » приводится величина стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

Из полученных данных следует, что различия в численности бактерий между ПМС и ПСВ больше заметны при учете культивируемых форм, отличия в ОЧБ между ПМС и ПСВ не всегда удается детектировать. Агога с соавторами, проводившие исследования в Средиземном море, также показали, что отношение численности культивируемых бактерий в нейстоне и планктоне намного превосходит отношение общей численности бактерий в указанных слоях воды. Так, для культивируемых форм данное отношение составило 11.07, в то время как для ОЧБ оно составило 1.09 (Agogue et al., 2004). Действительно, другие авторы, использовавшие метод культивирования, также получали очень высокие показатели численности в ПМС, на порядок или на несколько порядков превосходившие показатели численности в подповерхностном слое воды (Никитин, 1983; Tsyban, 1971; Dietz et al., 1976; Fehon, Oliver, 1979; Jones et al., 1991; Joux et al., 2006). В то же время при подсчете общей численности столь впечатляющих различий в ОЧБ между поверхностным микрослоем и

подповерхностным слоем воды не обнаруживали (Jones et al., 1991; Kuznetsova et al., 2004; Aller et al., 2005; Obernosterer et al., 2005, 2008; Joux et al., 2006; Auguet, Casamayor, 2008; Reinthaler et al., 2008; Cunliffe et al., 2009a, 2009b; Santos et al., 2009, 2011b, 2014; Stolle et al., 2009; Hörtnagl et al., 2010a, 2010b; Lindroos et al., 2011; Vila-Costa et al., 2013; Sarmiento et al., 2015), хотя многие из них отмечали более высокую ОЧБ в ПМС. Вероятно, применяемые среды для культивирования больше подходят по составу для бактерий поверхностного микрослоя, адаптированных к жизни в условиях избытка питательных веществ. Известно, что ПМС отличается от водной толщи более высокими концентрациями биогенных элементов и органических веществ (Михайлов, 1994; Лапшин, 2004; Zhang et al., 1998, 2003; Kuznetsova et al., 2004; Hörtnagl et al., 2010a, 2010b). В нашем исследовании также удалось показать повышенное содержание минерального фосфора в ПМС. Возможно, для столь же успешного культивирования бактерий водной толщи требуется более тщательный подбор питательных сред.

В летние сезоны 2013, 2015 и 2016 гг. наблюдали достоверную прямую сильную корреляционную связь между ЧКГБ в ПМС и ПСВ (ККП составил 0.77 в 2013 г., 0.89 в 2015 г. и 0.97 в 2016 г., $p < 0.05$). В весенние сезоны такой зависимости не наблюдали (ККП, $p > 0.05$). Корреляционная связь в ОЧБ между поверхностным микрослоем и подповерхностным слоем воды была достоверной во все сезоны, за исключением весны 2015г; ККП составил 0.74 весной 2013 г., 0.67 летом 2013 г., 0.87 весной 2014 г. и 0.9 летом 2015 г. ($p < 0.05$).

Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, которые также наблюдали наличие прямой зависимости между численностью бактерий в поверхностном микрослое и в подповерхностном слое воды (Bell, Albright, 1982; Joux et al., 2006; Santos et al., 2011b). Наличие такой зависимости служит одним из доказательств теории происхождения бактериоценозов из бактериальных сообществ водной толщи. Бактерии попадают в

ПМС путем пассивного транспорта либо вместе с частицами, обладающими положительной плавучестью, либо с пузырьками газов (Aller et al., 2005; Joux et al., 2006). Отсутствие достоверной корреляционной связи между ЧКГБ в ПМС и ПСВ весной, также как и отсутствие различий в ОЧБ между ПМС и ПСВ, можно объяснить интенсивным перемешиванием поверхностных вод в период перехода от обратной температурной стратификации к прямой (Шимараев, Гранин, 1991).

Таким образом, показаны достоверные различия и прямая зависимость между ОЧБ в ПМС и ПСВ, а также между ЧКГБ в указанных слоях воды в летний период. Установлено, что в ПМС выше доля культивируемых гетеротрофных бактерий, чем в подповерхностном слое воды.

3.3. Влияние физических факторов на численность бактерий в поверхностном микрослое и подповерхностном слое воды озера Байкал

Среди различных физических факторов, воздействующих на ПМС, можно особо выделить ветер, поскольку он вызывает перемешивание поверхностного микрослоя с нижележащими слоями воды, приводящее к разбавлению ПМС.

При отборе проб металлической сеткой в условиях штиля и при наличии ветра силой до 4.9 м/с (в среднем 1.43 ± 0.65 м/с) не наблюдали статистически значимой корреляционной связи между ЧКГБ в поверхностном микрослое и силой ветра как в весенний, так и в летний периоды (ККП, $p > 0.05$). Не было выявлено достоверной связи также между ОЧБ в поверхностном микрослое и силой ветра (ККП, $p > 0.05$).

Действительно, многие работы свидетельствуют о стабильности поверхностного микрослоя при силе ветра до 6-10 м/с (Михайлов, 1994; Carlson, 1983; Kuznetsova et al., 2004; Reinthaler et al., 2008; Wurl et al., 2011б). При отборе проб ПМС авторы использовали стеклянную тарелку (Carlson, 1983; Reinthaler et al., 2008; Wurl et al., 2011б) или сетчатый экран (Carlson, 1983; Михайлов, 1994; Kuznetsova et al., 2004), захватывающие слой воды толщиной около 100 и около

300 мкм, соответственно, что превышает истинную толщину ПМС. Тем не менее, в одном из исследований при отборе проб стеклянной тарелкой авторами была найдена зависимость между численностью бактерий в ПМС и силой ветра (Santos et al., 2011б). Авторы проводили отбор проб при скорости ветра 1.0 – 40.3 м/с (средняя скорость ветра составила 13.1 ± 12.44 м/с). Вероятно, в нашем случае зависимости не обнаружено из-за малой силы ветра на всех станциях отбора проб.

Другим важным климатическим фактором является температура окружающей среды, поскольку данный фактор носит выраженный сезонный характер и, соответственно, резко меняет условия жизни для обитателей, в том числе и для бактерий. Средние значения температуры поверхностной воды по станциям отбора проб в весенние и летние сезоны 2013 – 2016 гг. приведены в таблице 6.

Таблица 6.

Средние значения температуры поверхностной воды (°С) по станциям отбора проб в весенние и летние сезоны 2013 – 2016 гг.

Сезон	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.
май-июнь	2.41 ± 0.15	2.92 ± 0.13	3.06 ± 0.18	2.88 ± 0.26
июль-август	15 ± 0.7	15.2 ± 0.9	15.5 ± 1.01	15.7 ± 2.15

Примечание. После знака «±» приводится величина стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

Температура поверхностной воды весной 2013 г. была значимо ниже, чем весной 2014, 2015 и 2016 гг. (ТМУВ, $p < 0.05$), что вызвано поздним таянием льда в 2013 г.: за 20 дней до начала рейса практически вся акватория оз. Байкал была покрыта льдом (<http://www.geol.irk.ru/dzz/bpt/ice/130508/130508.jpg>), в то время как в другие года за 20 дней до начала экспедиции на Байкале наблюдались лишь отдельные фрагменты ледового покрова. Температура воды в летние сезоны 2013, 2015 и 2016 гг. различалась незначительно (ТМУВ, $p > 0.05$) и в среднем

составила $15.35 \pm 0.17^{\circ}\text{C}$. Температура поверхностной воды как весной, так и летом значимо не различалась в Южной, Северной и Средней котловинах озера Байкал, а также на пелагиальных и литоральных станциях (ТМУВ, $p > 0.05$). Выявлена значимая прямая корреляционная связь между температурой поверхностной воды и ЧКГБ в поверхностном микрослое (ККП 0.57, $p < 0.05$) (рис.7). Действительно, различия в численности весной и летом были значительными как в ПМС, так и в ПСВ (ТМУВ, $p < 0.05$). Также были обнаружены достоверные отличия в ОЧБ между весенним сезоном 2014 г. и летним сезоном 2013 г. в ПМС и ПСВ, между весенним и летним сезоном 2013 г. в ПСВ, между весенним сезоном 2014 г. и летним сезоном 2015 г. в ПМС, а также между весенним сезоном 2015 г. и летним сезоном 2013 г. в ПМС (ТМУВ, $p < 0.05$). Поскольку между летними сезонами, равно как и между весенними, не было выявлено значимых различий в ОЧБ, было проведено сравнение ОЧБ между всеми весенними и летними периодами и в итоге получены достоверные отличия как для ПМС, так и для ПСВ (ТМУВ, $p < 0.05$). Была также получена достоверная прямая корреляционная связь между ОЧБ в ПМС и температурой поверхностной воды, однако более слабая, чем в случае ЧКГБ (ККП 0.5, $p < 0.05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что для бактерий поверхностного микрослоя оз. Байкал более подходящими для роста являются температуры, характерные для летнего периода, чем для весеннего. В литературе также подтверждается факт корреляции биологических параметров (бактериальной численности) в ПМС прежде всего с температурой поверхностной воды (Hörtnagl et al., 2010б; Sarmiento et al., 2015).

Таким образом, на численность бактерий в ПМС при отборе проб сетчатым экраном не влияет слабый ветер (до 5 м/с). В то же время на ОЧБ и особенно на ЧКГБ в ПМС и ПСВ значимо влияет температура воды, определяемая временем года.

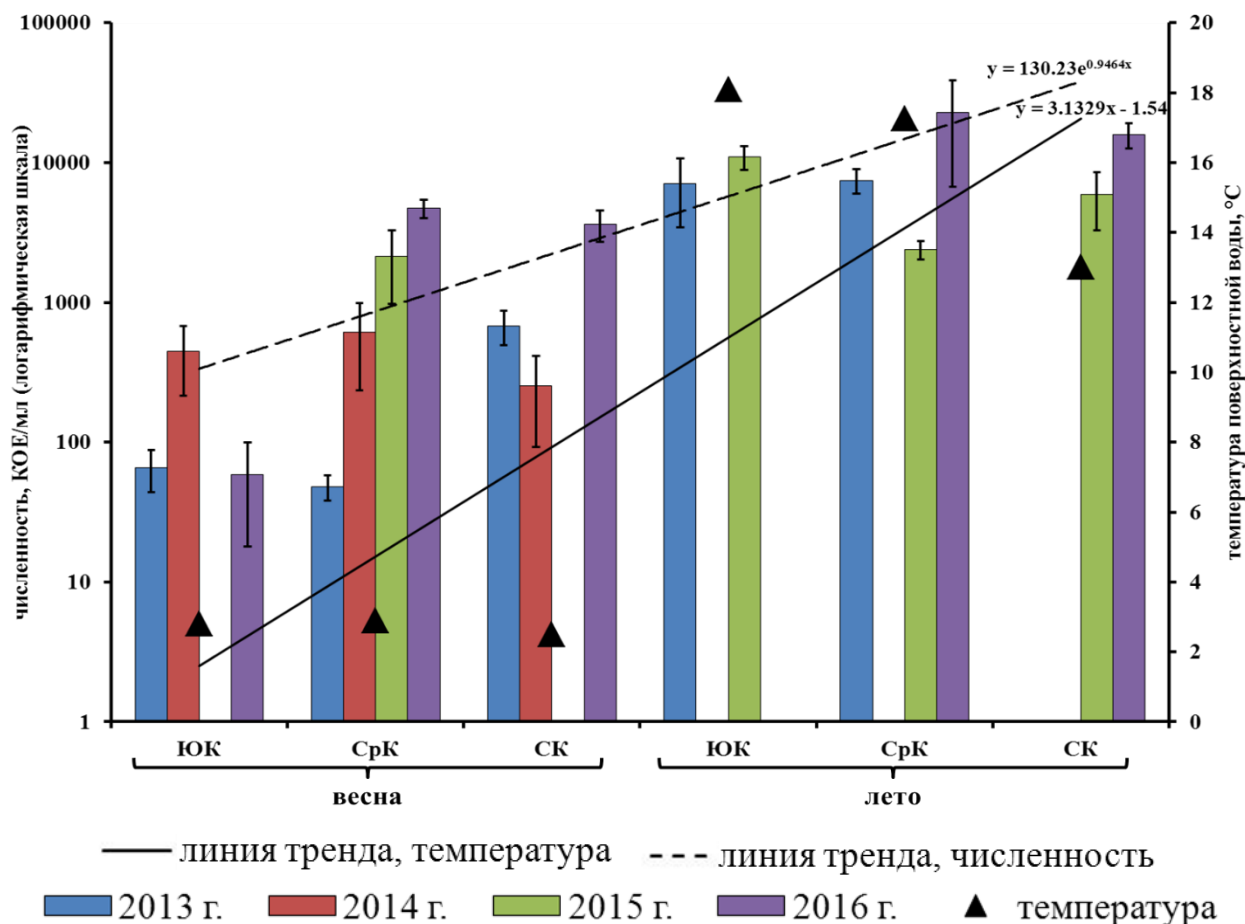


Рис. 7. Средняя численность культивируемых гетеротрофных бактерий в ПМС в Южной (ЮК), Средней (СрК) и Северной (СК) котловинах оз. Байкал при разной температуре поверхностной воды в весенние и летние периоды 2013 – 2016 гг. Примечание. В качестве доверительного интервала приведены значения стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

3.4. Физико-химические особенности поверхностного микрослоя воды озера Байкал

Известно, что водный поверхностный микрослой отличается по химическому составу от водной толщи (Zhang et al., 1998, 2003). Однако в оз. Байкал в связи с низкой минерализацией воды такие различия могут быть не столь выраженными, тем более в условиях отбора разбавленного подповерхностной водой микрослоя.

Летом 2013 г., весной и летом 2015 г. и весной 2016 г. был проведен химический анализ поверхностного микрослоя и подлежащего слоя воды на глубине 15 – 20 см (приложение 6, 7, 8).

В августе 2013 г. были выявлены значимые отличия между поверхностным микрослоем и подповерхностным слоем воды в мутности и содержании фосфатов (PO_4^{3-}), а также NO_2^- (ТМУВ, $p < 0.05$). Показатели в поверхностном микрослое в 2 – 3.75 раз превышали концентрации химических веществ в подповерхностном слое воды на глубине 15 – 20 см (табл. 7). Достоверных различий в содержании суммарного минерального азота, а также в рН и электропроводности между поверхностным микрослоем и подповерхностным слоем воды не было обнаружено (ТМУВ, $p > 0.05$).

Таблица 7.

Мутность и химический состав ПМС и ПСВ оз. Байкал, август 2013 г.

Слой воды	Мутность (по каолину) мг/л	PO_4^{3-} мг/л	NO_2^- мг/л
ПМС	13.5 ± 4.5	0.026 ± 0.006	0.01 ± 0.003
ПС	3.6 ± 1.5	0.012 ± 0.006	0.005 ± 0.001

Примечание. В качестве доверительного интервала приведены значения стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

Весной 2015 г. были выявлены значимые отличия между поверхностным микрослоем и подповерхностным слоем воды в содержании фосфатов (PO_4^{3-}) (ТМУВ, $p < 0.05$). Показатели в поверхностном микрослое в 2 раза превышали показатели в подповерхностном слое воды (табл. 8). Достоверных различий в содержании суммарного минерального азота и органического фосфора не обнаружено. Также не выявлены достоверные отличия показателей перманганатной (ПО) и бихроматной (ХПК) окисляемости органического вещества для ПМС и ПСВ (ТМУВ, $p > 0.05$).

Летом 2015 г. были выявлены значимые отличия между ПМС и ПСВ в содержании органических веществ – органический фосфор (Р орг), ПО, ХПК

(ТМУВ, $p < 0.05$). Значимых различий в содержании минерального фосфора не обнаружено. Показатели в ПМС в 2 – 3 раза превышали показатели в ПСВ (табл. 9). Не выявлено значимых различий в содержании биогенных веществ – минеральных азота, фосфатов между поверхностным микрослоем и подповерхностным слоем воды (ТМУВ, $p > 0.05$).

Таблица 8.

Химический состав ПМС и ПСВ оз. Байкал, май-июнь 2015 г.

Слой воды	PO_4^{3-} мг/л
ПМС	0.024 ± 0.004
ПС	0.01 ± 0.002

Примечание. В качестве доверительного интервала приведены значения стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

Таблица 9.

Химический состав ПМС и ПСВ оз. Байкал, август 2015 г.

Слой воды	Р орг мг/л	ПО мг О/л	ХПК мг О/л
ПМС	0.017 ± 0.004	9.3 ± 5.8	1.97 ± 0.8
ПС	0.005 ± 0.003	3.6 ± 0.8	0.96 ± 0.27

Примечание. В качестве доверительного интервала приведены значения стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

Весной 2016 г. не было выявлено значимых различий в концентрации биогенных веществ – Si, PO_4^{3-} , NO_3^- , а также pH между ПМС и ПСВ (ТМУВ, $p > 0.05$).

При проведении корреляционного анализа выявлена достоверная прямая заметная связь между численностью как культивируемых гетеротрофных бактерий, так и ОЧБ в поверхностном микрослое и мутностью воды (ККП составил 0.69 для культивируемых бактерий и 0.87 для ОЧБ, $p < 0.05$). Для подповерхностного слоя воды такая связь не была показана.

Мутность воды — показатель, характеризующий уменьшение прозрачности воды в связи с наличием неорганических и органических тонкодисперсных взвесей, т.е. частиц, а также развитием планктонных организмов. Многими исследователями показано, что в поверхностном микрослое доля бактерий, прикрепленных к частицам, в 3 – 10 раз выше, чем в подповерхностном слое воды (Aller et al., 2005; Obernosterer et al., 2005; Santos et al., 2011б). Поскольку прикрепленные к частицам бактерии составляют значительную часть всех микроорганизмов, находящихся в ПМС (23 ± 1 % по данным Aller et al., 2005; 41.8-28.98% по данным Santos et al., 2011б), то наличие корреляции между мутностью и численностью бактерий в ПМС представляется закономерным. Интересно отметить, что по данным некоторых исследователей сообщества бактерий, прикрепленных к частицам, в ПМС и в подповерхностном слое воды имеют больше различий, чем сообщества свободно живущих бактерий (Stolle et al., 2009, 2011). Это не удивительно, поскольку частицы играют важную роль в поверхностном микрослое, выступая в роли субстрата для прикрепленных форм бактерий.

Летом 2015 г была выявлена зависимость между ЧКГБ и концентрацией органических веществ (показатели ПО, ХПК) ($p=0.02$ и 0.03 соответственно; ККП составил в обоих случаях 0.7).

Таким образом, удастся детектировать различия в химическом составе между ПМС и ПСВ оз. Байкал как в летний, так и в весенний периоды. В поверхностном микрослое наблюдаются повышенные концентрации минерального фосфора, органического вещества, а также повышена мутность по сравнению с нижележащими слоями воды. Концентрирование других веществ не удалось выявить, вероятно, в связи с отбором разбавленного ПМС, что обусловлено недостатком метода сетчатого экрана. Была выявлена прямая зависимость между мутностью воды и численностью бактерий в поверхностном микрослое.

ГЛАВА 4. ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОВЕРХНОСТНОГО МИКРОСЛОЯ ВОДЫ ОЗЕРА БАЙКАЛ ПО ДАННЫМ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ

4.1. Состав бактериальных сообществ поверхностного микрослоя воды озера Байкал в весенний и летний периоды

Наиболее полные данные о разнообразии и структуре микробных сообществ дает метагеномный анализ различных переменных участков гена 16S рРНК. Пробы поверхностного микрослоя для изучения бактериального состава были отобраны в мае-июне и в августе 2013 г. в различных точках озера Байкал. В первом случае была проведена амплификация фрагмента гена 16S рРНК, содержащего переменные районы V1–V3; метагеномное секвенирование ампликонов было выполнено на пиросеквенаторе 454 Genome Sequencer FLX Titanium (Roche) компанией ChunLab Inc. (Корея). Во втором случае амплифицировали фрагмент гена 16S рРНК, содержащий переменные участки V4–V6; метагеномное секвенирование ампликонов было проведено в Лимнологическом институте СО РАН (пиросеквенатор 454 Genome Sequencer FLX Titanium (Roche)).

В результате пиросеквенирования и первичного анализа данных в мае-июне было получено 17807 последовательностей со средней длиной 179 нуклеотидов. Количество чтений в пробах варьировало от 4067 до 7388 (табл. 10). Всего было выделено 530 флотипов при кластерном расстоянии 0.03, при этом число ОТЕ в каждой пробе воды изменялось от 191 до 316. Наибольшее биоразнообразие согласно индексам Шеннона, ACE и CHAO показано для бактериальной сообщество мелководной станции 3 км от протоки Харауз (р. Селенга) (табл. 10), что также демонстрируют кривые накопления видов (рис. 8). Согласно обратному индексу Симпсона видовое богатство наиболее выражено в микробиоме поверхностного микрослоя на центральной станции разреза п. Листвянка–п. Танхой (табл. 10).

Таблица 10.

Биоразнообразие микробных сообществ поверхностного микрослоя, водной толщи и формирующихся на границе раздела фаз вода – биотический / абиотический субстрат в озере Байкал (кластерное расстояние 0.03), май-июнь 2013 г.

Название образцов	Станция отбора пробы	Общее число последовательностей	Число ОТЕ	Индексы разнообразия			
				ACE	СНАО	Шеннона	Обратный индекс Симпсона
Поверхностный микрослой оз. Байкал*	12 км от п. Култук	4067	191	554	362	3.0	8.8
	3 км от прот. Харауз (р. Селенга)	6352	316	1123	760	3.4	11.4
	Ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой	7388	264	574	449	3.2	13.3
Планктон прибрежной зоны оз. Байкал (глубина 5 м) **		5031	752	2380	1474	4.67	нд
Водная толща оз. Байкал (глубина 0 м) ****		4866	445	576	528	4.32	18.94
Граница раздела фаз вода – абиотический субстрат (стальная пластина) **		5074	461	1211	840	4.19	нд
Граница раздела фаз вода – биотический субстрат (губка)***	<i>Lubomirskia baicalensis</i>	6873	426	1660	948	3.45	нд
	<i>Baikalospongia</i> sp.	6817	428	2005	1111	3.14	нд

Примечание. * – наши данные; ** – по: Парфенова и др., 2013; *** – по: Гладких и др., 2014; **** – по: Курилкина и др., 2016; нд – нет данных

При сравнении бактериальных сообществ между собой было выявлено, что 88 ОТЕ, включающих 92% от всех последовательностей, являются общими для мелководной и глубоководных станций. Несмотря на большое количество уникальных ОТЕ, доля последовательностей, относящихся к ним, очень низкая. Максимальное количество уникальных флотипов выделено на станции 3 км от протоки Харауз (р. Селенга) – 162 ОТЕ, минимальное – на станции 12 км от п. Култук (73 ОТЕ), а на центральной станции разреза п. Листвянка–п. Танхой –

120 ОТЕ, что составило 1.9, 1.3 и 1.2 % от общего числа последовательностей, соответственно. Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) показал, что значимые различия по составу и представленности флотипов существуют между микробиомом поверхностного микрослоя мелководной станции и двумя глубоководными ($p < 0.01$). Значимых различий между бактериенейстонными сообществами открытого Байкала не выявлено ($p = 0.111$). В микробном сообществе поверхностного микрослоя на мелководной станции больше представлены флотипы бактерий с фотогетеротрофным типом метаболизма (ОТЕ 3, 5, 9, 11, 20), чем в бактериенейстонных сообществах открытого Байкала (приложение 9).

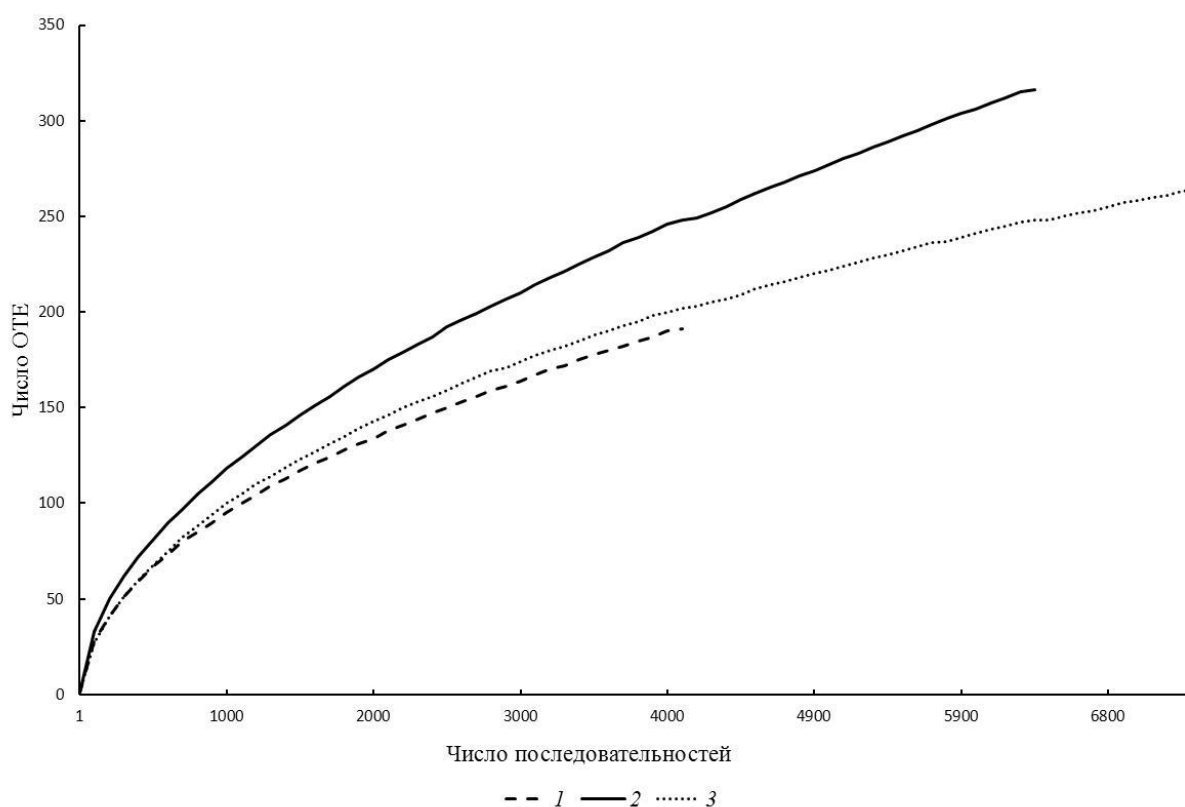


Рис. 8. Оценка α -разнообразия бактериенейстонных сообществ озера Байкал при помощи кривых накопления видов (кластерное расстояние 0.03), май-июнь 2013 г. ОТЕ – операционная таксономическая единица. 1 – 12 км п. Култук; 2 – 3 км от прот. Харауз; 3 – ц. ст. разреза п. Листвянка–п. Танхой.

В результате пиросеквенирования и первичного анализа данных в летних пробах нейстона было суммарно определено 23639 последовательностей со средней длиной 249 нуклеотидов. Всего было выделено 511 флотипов (ОТЕ) с кластерным расстоянием 0.03, при этом число ОТЕ в каждой пробе варьировало от 112 до 177 (табл. 11). Наибольшее биоразнообразие согласно индексам АСЕ и СНАО отмечено на центральной станции разреза п. Листвянка–п. Танхой. Согласно индексу Шеннона и обратному индексу Симпсона видовое богатство наиболее выражено в бактерионейстонном сообществе б. Базарная (пр. Малое Море) (табл. 11), что также демонстрируют кривые накопления (рис. 9).

Таблица 11.

Биоразнообразие микробных сообществ поверхностного микрослоя озера Байкал (кластерное расстояние 0.03), август 2013 г.

Название станции	Число посл-тей	Число ОТЕ	Индексы разнообразия			
			СНАО1	АСЕ	Шеннона	Обратный индекс Симпсона
ц. ст. п. Листвянка – п. Танхой	5723	177	315.00	375.30	3.56	18.8
ц. ст. пр. Малое Море	3110	112	149.71	151.37	3.47	20.8
12 км от п. Култук	4213	113	211.27	231.88	3.13	14.5
ц. ст. п. Маритуй – п. Солзан	3041	136	211.30	287.77	3.19	11.6
ц. ст. р. Анга – р. Сухая	3016	152	246.54	331.38	3.46	18.1
бухта Базарная (пр. Малое Море)	2383	175	281.50	374.59	3.92	28.4
3 км от прот. Харауз	2153	112	158.86	189.84	3.39	15.5

Кластерный анализ сообществ показал, что микробиом на центральной станции пролива Малое Море отличается по составу ОТЕ от остальных бактерионейстонных сообществ. Здесь больше представлены ОТЕ 17 (фотогетеротрофы), 19, 25, 30, относящиеся к филе *Bacteroidetes*, и меньше – ОТЕ 1, 12, 13, 29 (фотогетеротрофы), идентифицированные как представители филы *Actinobacteria* (приложение 10). В бактерионейстонных сообществах, отобранных в других районах озера, выявлено относительное сходство как по

представленности филотипов, так и по структуре сообществ. Доля последовательностей, принадлежащих уникальным ОТЕ, варьирует в диапазоне 1–10.2% от общего числа последовательностей в каждой пробе. Доля последовательностей, входящих в общие для бактериальных сообществ нескольких станций ОТЕ, составляет 87.6–89%, что сопоставимо с данными, полученными для весеннего периода.

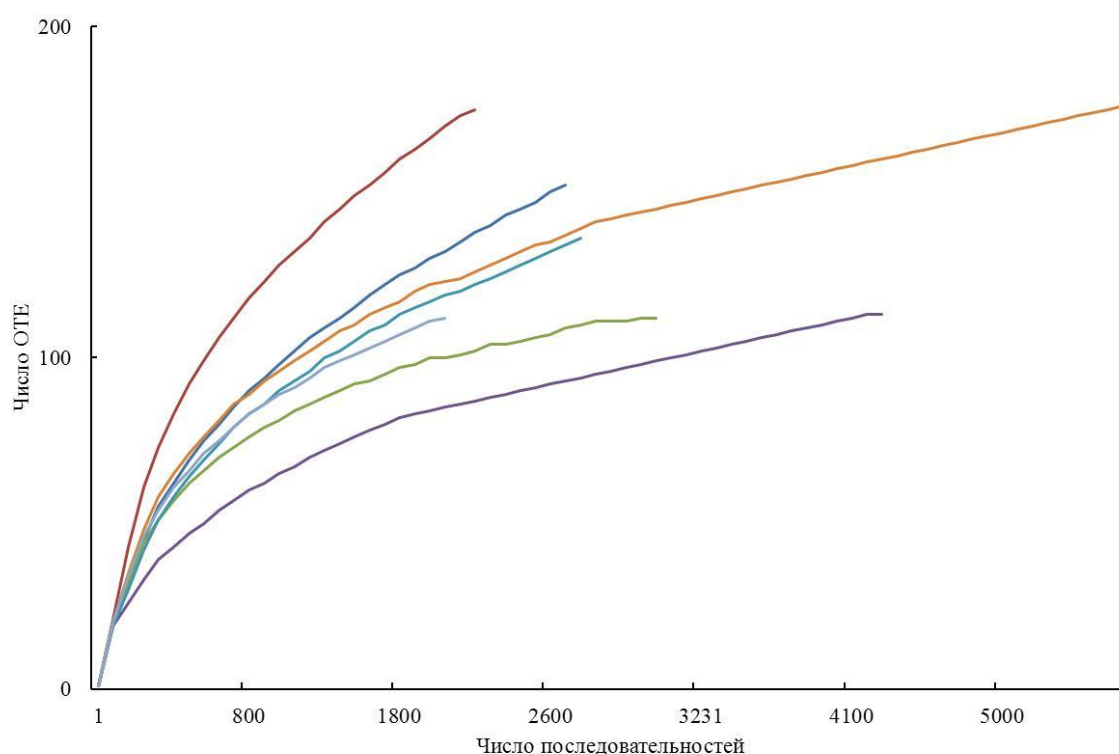


Рис. 9. Оценка α -разнообразия бактерионейстонных сообществ озера Байкал при помощи кривых накопления видов (кластерное расстояние 0.03), август 2013 г. ОТЕ – операционная таксономическая единица.

- б. Базарная ● ц. ст. р. Анга–р. Сухая ● ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой
- ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан ● 3 км от прот. Харауз ● ц. ст. пр. Малое Море
- 12 км от п. Култук

В бактерионейстонных сообществах всех станций как весной, так и летом по количеству последовательностей и филотипов преобладали пять фил: *Bacteroidetes* (27.1–55.1% весной и 17.4–38.3% летом), *Actinobacteria* (20.3–42.4%

весной и 16.5–42.4% летом), *Proteobacteria* (15.6–22.8% весной и 13.7–31.5% летом), *Verrucomicrobia* (3.4–9.9% весной и 8.3–15.9% летом) и *Planctomycetes* (0.2–3.8% весной и 0.03–2.7% летом) (табл. 12, 13). Вклад доминирующих фил весной составил 94.8–98.7%, летом – 98–99.7%.

Весной доминирующим филоотипом на мелководной станции и центральной станции разреза п. Листвянка–п. Танхой определена ОТЕ 1, идентифицированная только на уровне класса *Actinobacteria* (KM169274), на станции 12 км от п. Култук доминирует ОТЕ 2 (*Flavobacterium limicola*, KP762220) (приложение 11).

Таблица 12.

Состав бактерионейстонных сообществ озера Байкал, май-июнь 2013 г.

Название таксона		Доля последовательностей (%) в бактерионейстонном сообществе		
		12 км от п. Култук	3 км прот. Харауз (р. Селенга)	Ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой
Доминирующие филы				
<i>Actinobacteria</i>		20.3	42.4	28.3
<i>Bacteroidetes</i>		55.1	27.1	37.5
<i>Proteobacteria</i>		15.6	21.3	22.8
Из них	<i>Alphaproteobacteria</i>	10.1	14.4	12.9
	<i>Betaproteobacteria</i>	5.2	4.9	9.1
	<i>Gamma</i> proteobacteria	0.2	1.9	0.6
	Другие	0.1	0.1	0.2
<i>Verrucomicrobia</i>		3.4	3.5	9.9
<i>Planctomycetes</i>		0.4	3.8	0.2
Минорные филы				
<i>Acidobacteria</i>		0.05	0.19	0.01
<i>Armatimonadetes</i>		0.02	0.06	0
<i>Firmicutes</i>		0.02	0.03	0
<i>Gemmatimonadetes</i>		0.02	0.02	0.05
<i>Nitrospirae</i>		0.05	0.06	0.01
<i>Chlorobi</i>		0.02	0.03	0.08
<i>Chloroflexi</i>		0	0.25	0.04
Candidatus <i>Saccharibacteria</i>		0	0.06	0.03
Не идентифицированные на уровне филы		5.02	1.2	1.08

Таблица 13.

Состав бактерионейстонных сообществ озера Байкал, август 2013 г.

Название таксона		Доля последовательностей (%) в бактерионейстонном сообществе						
		1	2	3	4	5	6	7
Доминирующие филы								
<i>Actinobacteria</i>		42.4	39.2	29.9	38.6	27.5	27	16.5
<i>Bacteroidetes</i>		27.1	20.8	32.5	17.4	32.8	30.3	38.3
<i>Proteobacteria</i>		13.7	29.1	23	31.5	29.5	26.4	28.3
Из них	<i>Alphaproteobacteria</i>	4.6	9	7	8.6	10	6.6	4.1
	<i>Betaproteobacteria</i>	8.5	18.7	14.6	21.2	16.8	12.7	15.7
	<i>Gammaproteobacteria</i>	0.1	0.5	0.18	0.6	0.41	6.1	6.8
	<i>Deltaproteobacteria</i>	0.34	0.43	1	0.8	2.2	0.5	1.6
	не идентифицированные на уровне класса	0.16	0.5	0.15	0.26	0.14	0.47	0
<i>Verrucomicrobia</i>		15.9	8.9	10.8	10.6	8.3	13.7	16.3
<i>Planctomycetes</i>		0.03	1.4	2.7	0.9	0.89	0.64	0.31
Минорные филы								
<i>Parcubacteria</i>		0.16	0.05	0.36	0.23	0.03	0.04	0.04
<i>Armatimonadetes</i>		0	0.05	0.18	0.1	0.07	0.16	0.04
<i>Chloroflexi</i>		0.08	0.19	0.16	0.13	0.38	0.2	0.04
<i>Gemmatimonadetes</i>		0.03	0.09	0.07	0	0	0.04	0
<i>Chlorobi</i>		0	0	0.05	0.13	0	0.04	0
<i>Firmicutes</i>		0	0	0.04	0	0	0.47	0
<i>Fusobacteria</i>		0	0	0	0.03	0	0.04	0
OD1		0	0	0	0.03	0	0	0
<i>Synergistetes</i>		0	0	0	0.03	0	0	0
не идентифицированные на уровне филы		0.6	0.22	0.24	0.32	0.53	0.97	0.17

Примечание. 1 – 12 км от п. Култук, 2 – 3 км от прот. Харауз (р. Селенга), 3 – ц. ст. разреза п. Листвянка–п. Танхой, 4 – ц. ст. разреза п. Маритуй – п. Солзан, 5 – ц. ст. разреза р. Анга–р. Сухая, 6 – б. Базарная (пр. Малое Море), 7 – ц. ст. пр. Малое Море.

Летом на пяти станциях из семи доминировала ОТЕ 1, идентифицированная только на уровне порядка *Actinomycetales* (HQ663503). На центральной станции разреза р. Анга – р. Сухая и ц. ст. пролива Малое Море доминировала ОТЕ 2 (*Limnohabitans* sp. HQ663417, класс *Betaproteobacteria*). Третьей по

представленности была ОТЕ 3, идентифицированная на уровне порядка *Actinomycetales* (HQ663639). Близкородственные гомологи ОТЕ 1 и ОТЕ 3 отнесены к фотогетеротрофным бактериям (приложение 12).

Фила *Bacteroidetes* представлена во всех бактерионейстонных сообществах классами *Flavobacteriia*, *Sphingobacteriia* и *Cytophagia*. Наибольшим количеством последовательностей и ОТЕ как весной, так и летом представлен род *Flavobacterium* (16.5–44.4 и 7.6–24.7% от общего числа последовательностей в пробе, соответственно). Многие ОТЕ с высокой степенью гомологии включают культивируемые бактерии: *Flavobacterium limicola* (KP762220), *Flavobacterium dankookense* (NR_108738), *Flavobacterium* sp. (HM135523), *Flavobacterium columnare* (LN835423), *Flavobacterium* sp. (KF499996), *Flavobacterium* sp. (KF499997), *Flavobacterium* sp. (FR772225).

В эпилимнионе озер представители фило *Bacteroidetes* составляют значительную часть бактериального сообщества (Newton et al., 2011). Данные бактерии могут прикрепляться к частицам, играют заметную роль в деградации сложных биополимеров. В отличие от некоторых других распространенных пресноводных таксонов бактерий, для *Bacteroidetes* не отмечены выраженные колебания численности в зависимости от сезона или типа водоема. Их рост зависит прежде всего от поступления органических веществ в водоем и цветения фитопланктона, что случается спорадически. *Flavobacteriia* – один из самых распространенных классов фило в пресных водоемах, ведут «копиотрофный» образ жизни. Главной движущей силой роста популяции является доступность органических веществ. Вероятно, значительно большее количество представителей фило *Bacteroidetes* в мае-июне по сравнению с августом связано с активным поступлением весной в озеро органических веществ с речным стоком и талыми водами во время весеннего половодья, что создает предпосылки для увеличения их численности.

Фила *Actinobacteria* представлена в поверхностном микрослое большим количеством флотипов, при этом в весенних пробах не было обнаружено культивируемых близкородственных штаммов в базах данных с валидированной таксономией бактерий. Летом на всех станциях, кроме ц. ст. пр. Малое Море, выявлены единичные последовательности (ОТЕ 85), высоко гомологичные культивируемому штамму *Rhodococcus erythropolis* RE-1 (KR906527). Наибольшее число последовательностей принадлежало ОТЕ 1 с репрезентативной последовательностью KM169274 (класс *Actinobacteria*) весной и HQ663503 (класс *Actinobacteria*) летом (приложение 11, 12).

Actinobacteria распространены повсеместно и зачастую доминируют в эпилимнионе пресных водоемов (Newton et al., 2011). На глубине при снижении концентрации кислорода их численность снижается. По типу питания являются хемоорганогетеротрофами. Актинобактерии – свободноживущие мелкие бактерии, обладают пигментом родопсином, что позволяет им дополнительно генерировать АТФ за счет энергии солнца; хорошо защищены от хищников благодаря своим размерам и особому строению клеточной стенки. Такие механизмы адаптации создают предпосылки для доминирования данной группы бактерий в водоемах.

Весной фила *Proteobacteria* во всех микробных сообществах поверхностного микрослоя была представлена большим количеством флотипов, принадлежащих классам *Alpha-*, *Beta* и *Gamma**proteobacteria*. Представители класса *Deltaproteobacteria* выявлены на всех станциях за исключением центральной станции разреза п. Листвянка–п. Танхой. При этом только ОТЕ 3 (репрезентативная последовательность HQ663615, класс *Alphaproteobacteria*) и ОТЕ 7 (класс *Betaproteobacteria*) имели близкородственных культивируемых представителей в базах данных с валидированной таксономией бактерий. Данные флотипы доминировали среди классов *Alphaproteobacteria* и *Betaproteobacteria*, соответственно. Их доля в бактерионейстонных сообществах

была значительной и составила 8.0–12.9 и 2.6–5.8%, соответственно (приложение 11).

Летом фила *Proteobacteria* во всех микробных сообществах поверхностного микрослоя была представлена флотипами, принадлежащими классам *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-* и *Deltaproteobacteria*. Среди флотипов, относящихся к классу *Alphaproteobacteria*, ОТЕ 99, 140, 162, 146, 86, 324 имели близкородственных культивируемых представителей родов *Phyllobacterium* (KJ004494), *Sandarokinorhabdus* (JF297619), *Caulobacter* (JQ675299), *Phenylobacterium* (AB607297), *Sphingomonas* (KT720407), *Brevundimonas* (KT991091), соответственно. Среди *Alphaproteobacteria* доминировали, как и весной, представители порядка *Pelagibacterales* (ОТЕ 9, репрезентативная последовательность HQ663615,) – фотогетеротрофы. Среди флотипов, относящихся к классу *Betaproteobacteria*, ОТЕ 38, 133, 59, 79, 145 имели близкородственных культивируемых представителей (гомология составила 100%) родов *Aquabacterium* (KJ950444), *Polynucleobacter* (LC132814), *Ralstonia* (LN885524), *Vogesella* (KF911331), *Massilia* spp. NC39, NC8, NC52 (KY454496, KY454491, KY454486), соответственно. При этом указанные бактерии рода *Massilia* были выделены нами в чистую культуру из поверхностного микрослоя оз. Байкал. Среди *Betaproteobacteria* доминировали, как и весной, представители ОТЕ 2 – род *Limnohabitans* (HQ663417). Среди флотипов, относящихся к классу *Gammaproteobacteria*, ОТЕ 33, 39, 46, 48, 416 имели близкородственных культивируемых представителей (гомология составила 100%) родов *Perlucidibaca* (KU233257), *Acinetobacter* sp. NC95 (LN831994), *Pseudomonas* (KT991053), *Acinetobacter* sp. NC41 (KY454509), *Acinetobacter* sp. NC104 (KY454513). При этом указанные штаммы рода *Acinetobacter* были выделены нами в чистую культуру из поверхностного микрослоя оз. Байкал. Среди *Gammaproteobacteria* доминировали представители ОТЕ 33 – род *Perlucidibaca*

(KU233257). Среди *Deltaproteobacteria* культивируемых представителей обнаружено не было.

Proteobacteria является наиболее изученной филой бактерий. Представители данной филы распространены повсеместно, однако в пресных водоемах доминирует, как правило, класс *Betaproteobacteria* (Newton et al., 2011). Бактерии этого класса являются копитрофами, быстро растут в условиях избытка органики и биогенных веществ. По типу питания относятся к хемоорганогетеротрофам.

Весной и летом фила *Verrucomicrobia* была представлена в нейстоне филотипами, которые не имели близкородственных культивируемых представителей в базах данных с валидированной таксономией бактерий. Как весной, так и летом среди *Verrucomicrobia* доминировали филотипы (ОТЕ 6 и ОТЕ 5, соответственно) с репрезентативной последовательностью, имеющей гомологию 100% с представителем класса *Opitutae* (HE857449).

Verrucomicrobia также относится к филам, встречающимся во всех пресных озерах, как на поверхности, так и в гипolimнионе, однако их численность относительно невысока. Среди них встречаются простекобактерии – К-стратеги, адаптированные к низкой концентрации субстрата (Wagner, Horn, 2006). Линдстрем с соавторами была показана положительная зависимость между численностью этих бактерий и температурой окружающей среды (Lindstrom et al., 2005). Возможно, именно с этим была связана большая представленность *Verrucomicrobia* в августе по сравнению с весенним периодом.

Доля представителей филы *Planctomycetes* составила 0.4–3.8 и 0.03–2.7% от общего числа последовательностей в каждой пробе весной и летом, соответственно. Фила представлена ОТЕ, которые не имели близкородственных культивируемых гомологов в базах данных с валидированной таксономией бактерий.

Planctomycetes также является широко распространенным в пресных водоемах таксоном. Численность этих бактерий может быть недооценена, поскольку ген 16S рРНК *Planctomycetes* на определенных участках отличается по структуре от некоторых широко используемых ПЦР-праймеров (Wagner, Horn, 2006). Для представителей фило *Planctomycetes* характерен медленный рост, среди них встречаются облигатные олиготрофы (Fuerst, 1995). Основным источником углерода для этих бактерий являются углеводы, синтезированные фитопланктоном. Некоторые представители способны деградировать хитин (Fuerst, 1995), в анаэробных условиях окисляют аммоний (Newton et al., 2011).

Всего на долю минорных фил весной в каждом микробном сообществе приходится 0.18–0.70% последовательностей, летом – 0.12–0.99% последовательностей (табл. 12, 13). К ним относятся: *Acidobacteria*, *Nitrospirae*, *Gemmatimonadetes*, *Armatimonadetes*, *Firmicutes*, *Chlorobi*, *Chloroflexi* и *Candidatus Saccharibacteria* (весна), *Gemmatimonadetes*, *Armatimonadetes*, *Firmicutes*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Parcubacteria*, *Fusobacteria*, *OD1*, *Synergistetes* (лето).

Видовое богатство микробных сообществ поверхностного микрослоя сравнивали с изученным ранее в водной толще озера и в биопленочных ассоциациях, развивающихся на границе раздела фаз вода–твердый субстрат биотического (губки) или абиотического (стальная пластина) происхождения, при помощи индексов разнообразия (Парфенова и др., 2013; Гладких и др., 2014). Анализ показал, что наиболее высокое микробное разнообразие отмечено в водной толще, индексы ACE, СНАО, Шеннона здесь были максимальными – 2380, 1474, 4.67, соответственно. В микробных сообществах, формирующихся на границах раздела фаз, индексы разнообразия были ниже: ACE – 554–2005, СНАО – 362–1111, Шеннона – 3.0–4.19, при этом максимальные значения отмечены для губок (табл. 10). Очевидно, что в губках, являющихся фильтрующими организмами, помимо различных представителей ассоциированного микробного

сообщества детектируются микроорганизмы, проходящие с током воды из окружающей среды и вносящие вклад в общее разнообразие. Наибольшее разнообразие среди микробных сообществ поверхностного микрослоя, охарактеризованное на мелководной станции (табл. 10), может быть связано с влиянием вод реки Селенга, поскольку в зоне Селенгинского мелководья происходит смешение речных и озерных микробных сообществ (Максименко и др., 2008; Sorokovikova et al., 2012). Полученные данные позволяют предположить, что в биопленочных ассоциациях, развивающихся в условиях ограниченного обмена водной массы на границе раздела фаз как вода–воздух, так и вода–твердый субстрат абиотического происхождения, формируется микробное сообщество, характеризующееся невысоким разнообразием.

Сравнение бактерионейстонных сообществ в мае-июне и в августе показало, что весной сообщества отличаются большим видовым богатством (индексы разнообразия ACE, CHAO, количество ОТЕ), что можно объяснить интенсивным обменом водных масс во время весенней гомотермии. В то же время индексы Шеннона и обратный Симпсона, дающие понятие о равнопредставленности флотипов, были выше летом (табл. 10, 11), что свидетельствует о формировании в этот период более устойчивого бактериального сообщества. Методом главных компонент и NMDS показано, что весенние бактерионейстонные сообщества кластеризуются отдельно от летних (рис. 10, 11). В бактериальных сообществах ПМС, отобранных летом, обнаружено больше представителей порядков *Acidimicrobiales*, *Actinomycetales* (фила *Actinobacteria*), *Bdellovibrionales*, *Burkholderiales*, *Pseudomonadales*, *Sphingomonadales* (фила *Proteobacteria*), а также не идентифицированных на уровне порядка представителей классов *Spartobacteria*, *Opitutae* (фила *Verrucomicrobia*), *Phycisphaerae* (фила *Planctomycetes*) и *Betaproteobacteria* (фила *Proteobacteria*). Весной выявлено больше бактерий порядка *Pelagibacterales* (фила

Proteobacteria) и не идентифицированных на уровне порядка представителей фил *Actinobacteria* и *Bacteroidetes* (рис. 12).

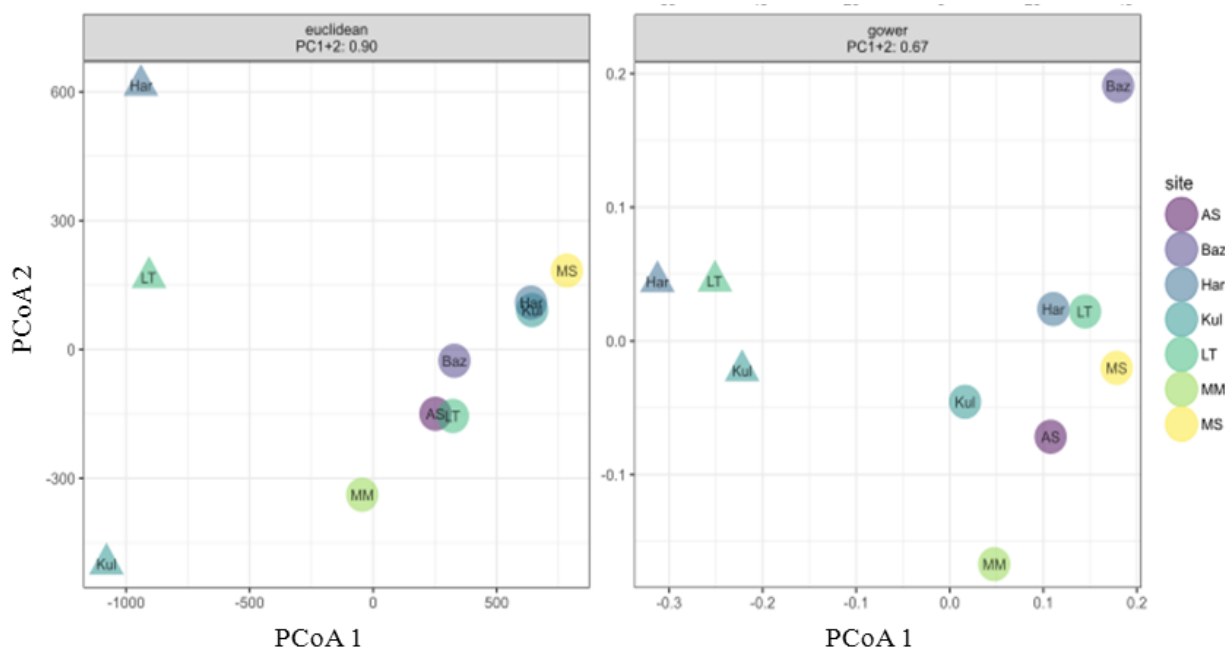


Рис. 10. Сравнительный анализ бактерионейстонных сообществ озера Байкал методом PCoA (индекс euclidean, 90% дисперсии объясняется ординацией; индекс gower, 67% дисперсии объясняется ординацией), май–июнь и август 2013 г.

Примечание. ▲ пробоотбор в мае; ● пробоотбор в августе; AS – ц. ст. р. Анга-р. Сухая; Baz – б. Базарная (пр. Малое Море); Har – 3 км прот. Харауз (р. Селенга); KU – 12 км п. Култук; LT – ц. ст. п. Листвянка-п. Танхой; MM – ц. ст. пр. Малое Море; MS – ц. ст. п. Маритуй-п. Солзан.

Учитывая возможность обмена водной массы, сравнительный анализ состава и структуры микробных сообществ поверхностного микрослоя и водной толщи представляет наибольший интерес. Общими для бактерионейстонных и бактериопланктонных сообществ прибрежной зоны озера Байкал были мажорные филы *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Planctomycetes*. Дополнительно в планктоне прибрежной зоны в отличие от

поверхностного микрослоя метагеномным анализом в значительном количестве были отмечены представители фила *Cyanobacteria*, которые составили 2.7% от общего количества последовательностей (Парфенова и др., 2013; Kurilkina et al., 2016). Отличительной особенностью бактериоценозных сообществ также стало существенно меньшее разнообразие и другой состав на уровне родов. Так, в нейстоне не детектированы представители *Albidiferax ferrireducens* (класс *Betaproteobacteria*) и *Candidatus Planktophila* (фила *Actinobacteria*), широко распространенные в планктоне прибрежной зоны озера, а также *Sediminibacterium* (фила *Bacteroidetes*) и *Reyranelia massiliensis* (класс *Alphaproteobacteria*) (Парфенова и др., 2013).

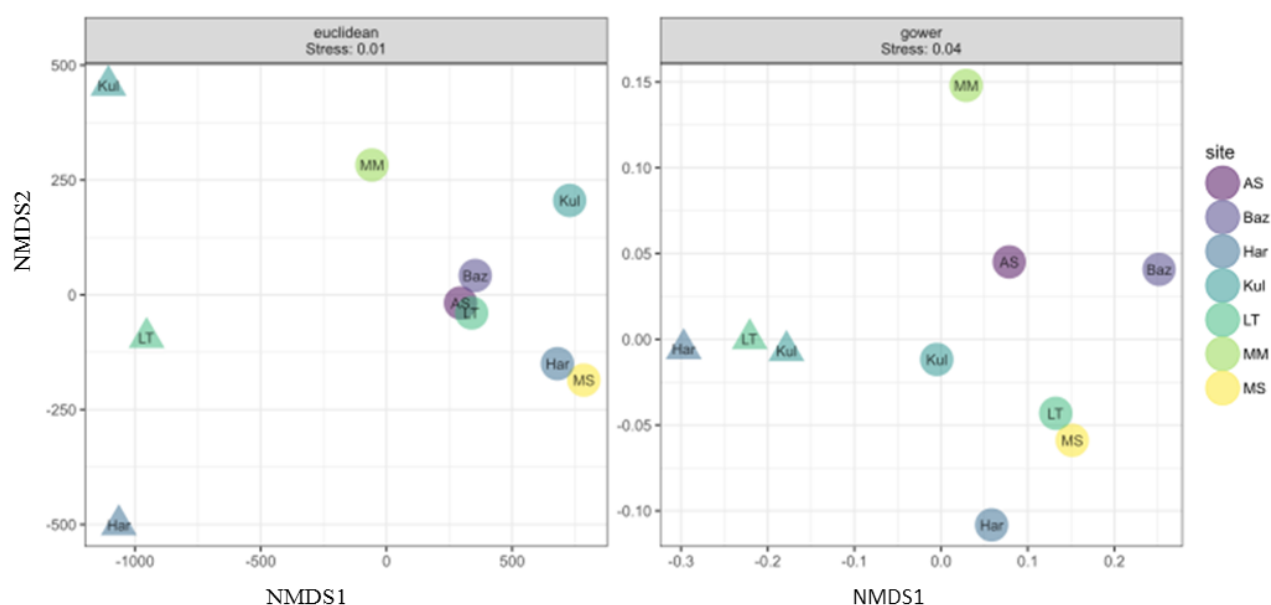


Рис. 11. Сравнительный анализ бактериоценозных сообществ озера Байкал методом NMDS (индекс euclidean, стресс-значение 0,01; индекс gower, стресс-значение 0,04), май–июнь и август 2013 г.

Примечание. ▲ пробоотбор в мае; ● пробоотбор в августе; AS – ц. ст. р. Анга-р. Сухая; Baz – б. Базарная (пр. Малое Море); Har – 3 км прот. Харауз (р. Селенга); KU – 12 км п. Култук; LT – ц. ст. п. Листвянка-п. Танхой; MM – ц. ст. пр. Малое Море; MS – ц. ст. п. Маритуй-п. Солзан.

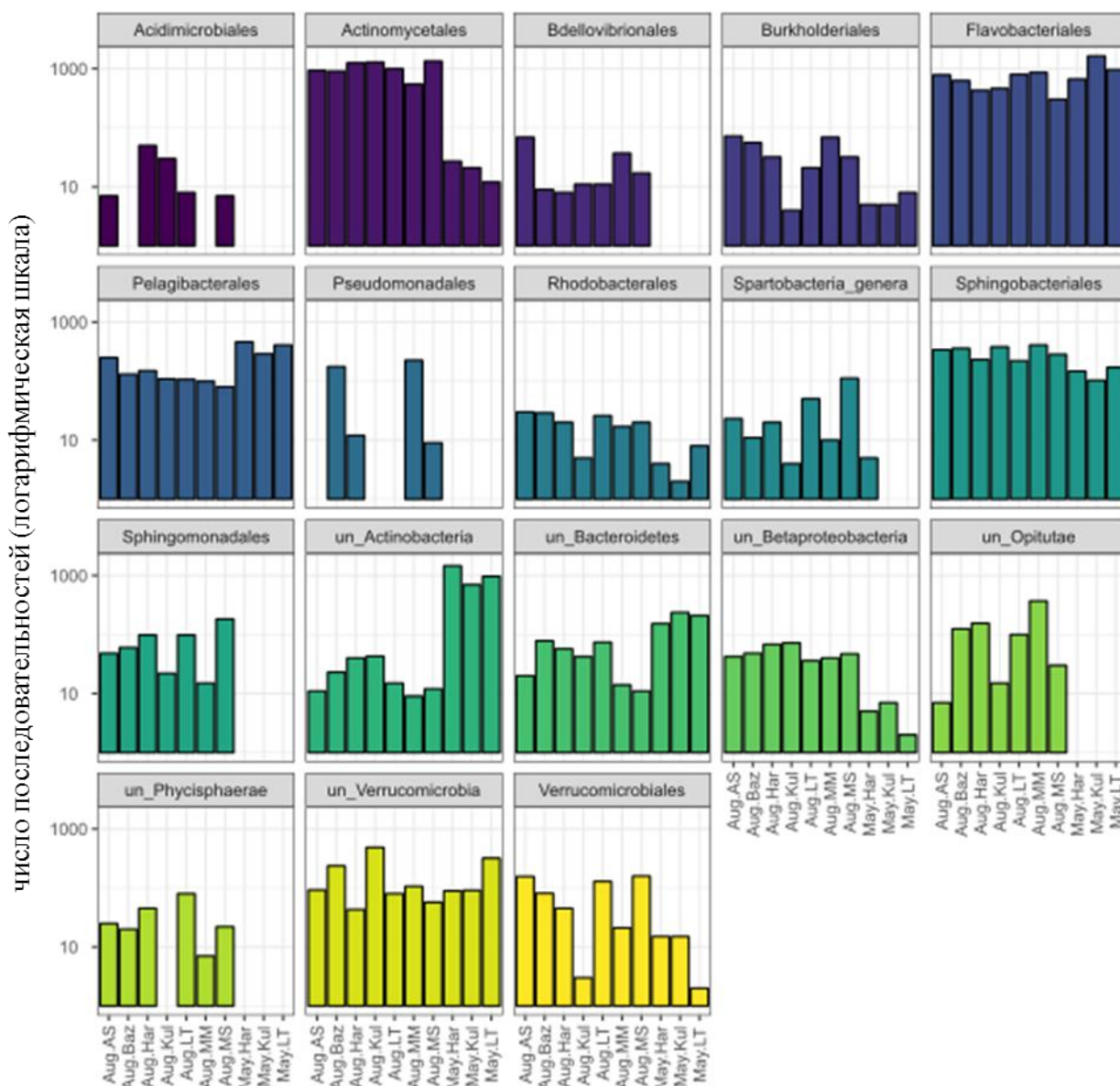


Рис. 12. Представленность таксонов на уровне порядка в бактерионейстонных сообществах, отобранных в мае–июне и августе 2013 г.

Примечание. May – пробоотбор в мае–июне; Aug – пробоотбор в августе; AS – ц. ст. р. Анга-р. Сухая; Baz – б. Базарная (пр. Малое Море); Har – 3 км прот. Харауз (р. Селенга); KU – 12 км п. Култук; LT – ц. ст. п. Листвянка-п. Танхой; MM – ц. ст. пр. Малое Море; MS – ц. ст. п. Маритуй-п. Солзан; un – не идентифицированные на уровне порядка представители. Значения встречаемости выравнены относительно медианы глубины прочтения каждой пробы. Отфильтрованы таксоны с количеством последовательностей < 100.

Proteobacteria в поверхностном микрослое на всех станциях представлены качественно другим составом, доминируют особые представители классов *Alphaproteobacteria* и *Betaproteobacteria*: флотипы, охарактеризованные на уровне порядка *Pelagibacterales* (ОТЕ 3) (Grote et al., 2012) (ранее син. SAR11 cluster) и рода *Limnohabitans* (ОТЕ 7) соответственно, которые в планктонном сообществе прибрежной зоны и в поверхностном слое воды на центральной станции разреза м. Ухан–м. Тонкий не встречались. Представители порядка *Pelagibacterales* широко распространены в морских и пресных водоемах, бедных питательными веществами, являются одними из наиболее многочисленных микроорганизмов на Земле, преимущественно распространены в незагрязненных экосистемах, что подтверждает их олиготрофные свойства (Morris et al., 2002; Smith et al., 2015). Во всех изученных микробных сообществах поверхностного микрослоя озера Байкал данный таксон был самым многочисленным в классе *Alphaproteobacteria*, на его долю приходилось от 8.0 до 12.9% от общего числа последовательностей в каждой пробе весной и от 2.3 до 7.2% летом. Еще одним доминирующим флотипом в бактерионейстонном сообществе был представитель класса *Betaproteobacteria* – род *Limnohabitans*. На его долю приходилось 2.6–5.8% от общего числа последовательностей весной и 6.1–18.3% летом. Род *Limnohabitans* был впервые описан в 2010 г. (Hahn et al., 2010), отнесен к трудно культивируемым бактериям. Представители этого рода широко распространены в пресноводных экосистемах, известны относительно быстрой воспроизводимостью популяции и способностью оперативно реагировать на изменения окружающей среды (Newton et al., 2011). Эти бактерии в основном детектировали в незакисленных озерах, питательным субстратом для них в основном служили синтезируемые водорослями органические вещества (Simek et al., 2010; Kasalicky et al., 2013).

Сравнительный анализ бактерионейстонных сообществ озера Байкал и других пресных водоемов показал, что они сходны по составу некоторых

крупных таксонов. Так, в бактерионейстонных сообществах различных пресноводных озер (оз. Онтарио, оз. Колдспринг, горные озера Центральных Альп, Центральных Пиреней), как и в оз. Байкал, молекулярными методами выявлено доминирование *Betaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* (Hervas, Casamayor, 2009; Hörtnagl et al., 2010a; Vila-Costa et al., 2013; Drudge, Warren, 2014). Отличительной чертой бактерионейстонных сообществ озера Байкал стало присутствие в них представителей филы *Verrucomicrobia*, не выявленных в поверхностном микрослое других озер. Вероятно, последнее наблюдение не является закономерным, поскольку представители данной филы распространены повсеместно, составляя и менее одного, и около 6%, и даже до 20% последовательностей в микробиомах пресноводных экосистем (Newton et al., 2011). Как и в бактерионейстоне оз. Байкал, в озерах Онтарио и Колдспринг среди минорных таксонов определены *Deltaproteobacteria*, в оз. Онтарио – *Planctomycetes*, в оз. Колдспринг и в озерах Центральных Пиреней – *Firmicutes*, в оз. Онтарио, Колдспринг и в озерах Центральных Пиреней – *Gammaproteobacteria*.

Наибольший интерес вызывает отсутствие в составе бактерионейстонных сообществ представителей филы *Cyanobacteria* при изучении молекулярными методами и их детекция эпифлюоресцентной микроскопией в поверхностном микрослое некоторых высокогорных озер, например, в Центральных Пиренеях (Sarmiento et al., 2015). Проточной цитометрией установлено существенное различие в численности цианобактерий и гетеротрофных бактерий: 2.4×10^3 и 1.0×10^6 кл/мл соответственно, составляющее три порядка величин (Sarmiento et al., 2015). Оценивая долю цианобактерий в общей структуре бактерионейстонного сообщества в среднем 0.24%, можно предположить, что они не детектируются молекулярными методами в связи с их низкой представленностью. Единственным водоемом, в поверхностном микрослое которого молекулярными методами детектировали *Cyanobacteria*, было оз.

Онтарио, где выявлены нитчатые бактерии *Phormidium autumnale*, известные способностью формировать микроколонии и микробные маты (Drudge, Warren, 2014).

В эуфотическом слое морских и пресных водоемов наравне с цианобактериями и водорослями, осуществляющими первичную продукцию органического вещества и энергии за счет фотосинтеза, широко распространены фотогетеротрофные бактерии. Такие микроорганизмы могут использовать солнечную энергию для генерации АТФ как дополнительный способ восполнения своих энергетических запасов, при этом однако не фиксируя неорганический углерод (Zubkov, 2009). К ним относятся бактерии, имеющие родопсин (Beja et al., 2002) или бактериохлорофилл *a* (аэробные аноксигенные фототрофы) (Caliz, Casamayor, 2014). Фотогетеротрофы составляют 15–70% в морских и 10–23% в пресных водоемах, при этом значительную или даже большую часть составляют родопсин-содержащие бактерии (Martinez-Garcia et al., 2012; Kirchman, Hanson, 2013). Самые распространенные фотогетеротрофные бактерии пресноводных экосистем отнесены к филе *Actinobacteria* (Martinez-Garcia et al., 2012), а морских экосистем – к порядку *Pelagibacterales* (*Alphaproteobacteria*, SAR11) (Kirchman, Hanson, 2013). Однако содержание бактерий с фотогетеротрофным типом метаболизма в поверхностном микрослое не изучено.

Высокая освещенность поверхностного микрослоя предполагает наличие бактерий, использующих энергию солнца для своей жизнедеятельности. Сравнение полученных последовательностей с известными в базе данных позволило выявить наличие близкородственных бактерий, относящихся к фотогетеротрофам, которые были классифицированы в три филы: *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria* (приложение 9, 10). В бактерионейстоне озера Байкал содержание фотогетеротрофных бактерий превышало их содержание в водной толще, оцененное Мартинез-Гарсиа с соавторами как 10–23% (Martinez-

Garcia et al., 2012), и составляло на разных станциях от 17.6 до 29.7% весной и 27.4–47.5% летом. При этом максимальная доля приходилась на станцию 3 км от прот. Харауз весной и на станцию 12 км от п. Култук летом (приложение 9, 10). В общей структуре фотогетеротрофных сообществ весной доминировали представители филы *Actinobacteria* – 41–43% и класса *Alphaproteobacteria* (пор. *Pelagibacterales* (SAR11), ОТЕ 3) – 42–45%. Летом подавляющее количество фотогетеротрофов приходилось на филу *Actinobacteria* (51.9–73.4% от общего количества фотогетеротрофных бактерий), представители класса *Alphaproteobacteria* составляли 8.4–21.2%, класса *Betaproteobacteria* – 3.9–6%, филы *Bacteroidetes* – 4.6–30.2%. Интересно отметить, что весной в бактерионейстонных сообществах оз. Байкал были одинаково представлены таксоны фотогетеротрофных бактерий, характерных как для пресноводных, так и для морских экосистем.

Большее количество фотогетеротрофов в поверхностном микрослое по сравнению с водной толщей других озер можно объяснить большей освещенностью поверхности воды, поскольку из-за отражения и поглощения взвешенными частицами вглубь проникает лишь часть света. Кроме того, на оз. Байкал довольно велика продолжительность солнечного сияния – 1900–2200 ч/год, приход солнечной радиации составляет 60 ккал/см² в год, в том числе летом до 9.9 ккал/см² в месяц (Атлас., 1993), что также способствует развитию бактерий с фототрофным метаболизмом. Значительно меньшее количество фотогетеротрофов весной по сравнению с летним сезоном объясняется, скорее всего, активным перемешиванием поверхностных вод весной во время перехода от обратной температурной стратификации к прямой.

Таким образом, методом метагеномного анализа ампликонов 16S рДНК изучены особенности состава бактериальных сообществ поверхностного микрослоя озера Байкал в весенний и летний периоды. Показано, что в микробных сообществах поверхностной пленки в различных районах озера

Байкал доминируют четыре бактериальных филы: *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*, что характерно в целом для пресных водоемов (Hörtnagl et al., 2010б; Vila-Costa et al., 2013; Drudge, Warren, 2014). Полученные результаты свидетельствуют о том, что в нейстоне подавляющее большинство составляют некультивируемые формы бактерий. Показано невысокое видовое разнообразие по сравнению с водной толщей прибрежной зоны озера, но сопоставимое с другими биопленочными ассоциациями. Установлено, что микробные сообщества поверхностного микрослоя озера Байкал сходны по составу доминирующих фил с водной толщей, однако существенно отличаются на уровне родов. Бактерионейстон озера Байкал сопоставим с микробными сообществами поверхностного микрослоя других пресных водоемов по составу и представленности крупных таксонов. В поверхностном микрослое озера Байкал фотогетеротрофы выявлены в более высоком соотношении, чем в водной толще других пресных водоемов. Полученные данные демонстрируют, что поверхностный микрослой озера Байкал является экотопом с относительно обособленным микробным сообществом, характеризующимся низким видовым разнообразием, а также относительно высоким количеством микроорганизмов с фотогетеротрофным типом метаболизма.

Сравнение нейстонных микробиомов в мае-июне и в августе показало, что бактериальные сообщества ПМС в августе отличаются большей устойчивостью. Весной в бактериальных сообществах ПМС выше доля последовательностей, относящихся к филе *Bacteroidetes* и в то же время меньшим количеством последовательностей представлена фила *Verrucomicrobia*. Доли представителей фил *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Planctomycetes* сопоставимы в бактерионейстонных сообществах весной и летом. Интересно отметить, что среди *Alphaproteobacteria* и *Betaproteobacteria* доминируют бактерии порядка *Pelagibacterales* (SAR11) и рода *Limnohabitans*, соответственно, как весной, так и летом. Нейстонные сообщества летом отличаются от весенних значительно

большим количеством фотогетеротрофных бактерий, а также большим количеством культивируемых форм. Последнее, вероятно, объясняется созданием в августе условий, в первую очередь температурных, способствующих активному росту бактерий.

4.2. Эукариоты поверхностного микрослоя воды озера Байкал, детектированные по последовательностям гена 16S рДНК хлоропластов

В пробах поверхностного микрослоя, отобранных в мае-июне 2013 г., было обнаружено 6737 последовательностей гена 16S рДНК хлоропластов эукариот, что составило 27.4% от общего количества последовательностей гена 16S малой рибосомной субъединицы про- и эукариотических организмов. В нейстонных сообществах, исследованных в августе 2013 г., выявлена 1172 последовательность гена 16S рДНК, принадлежащая эукариотам, что составило 4,9% от общего числа последовательностей. Выделено 111 и 21 ОТЕ с кластерным расстоянием 0,03, соответственно. Полученные последовательности идентифицированы в базах данных с валидированной таксономией. В мае-июне в ПМС определено 10 фил, в августе – 5 фил эукариот (табл. 14, 15). При этом подавляющее большинство последовательностей – 6266 (93%) – отнесено к водорослям, среди них представители родов *Aulacoseira*, *Stephanodiscus*, *Thalassiosira*, *Gyrosigma*, *Synedra* (диатомовые водоросли), *Chlorella* (зеленые водоросли), *Chroomonas* (криптофитовые водоросли), *Dinophysis* (динофитовые водоросли), *Pavlova* (гаптофитовые водоросли) и другие. 271 последовательность гена 16S рДНК (4%) принадлежала хлоропластам наземных растений (представители филы *Streptophyta*), среди них листостебельные и древовидные мхи, папоротник, хвощ, кедр, клещевина, тополь и другие. Четыре последовательности идентифицированы как инфузории (фила *Ciliophora*). 192 последовательности (3%) не удалось классифицировать на уровне филы.

Таблица 14.

Состав эукариот поверхностного микрослоя воды озера Байкал, детектированных по последовательностям гена 16S рДНК хлоропластов (май–июнь 2013 г.)

	Фила	Число последовательностей			
		3 км от прот. Харауз (р. Селенга)	12 км от п. Култук	ц. ст. разреза п. Листвянка–п. Танхой	всего
1	<i>Bacillariophyta</i>	664	180	2070	2910
2	<i>Chlorophyta</i>	246	263	256	765
3	<i>Cryptophyta</i>	64	976	50	1090
4	<i>Eustigmatophyceae</i>	18	13	26	57
5	<i>Haptophyceae</i>	54	193	23	270
6	<i>Phaeophyceae</i>	87	293	79	459
7	<i>Oomycetes</i>	0	1	1	2
8	<i>Streptophyta</i>	50	83	138	271
9	<i>Dinophyceae</i>	371	172	170	713
10	<i>Ciliophora</i>	1	3	0	4
11	<i>unclassified Eucarya</i>	42	127	23	192

Таблица 15.

Состав эукариот поверхностного микрослоя воды озера Байкал, детектированных по последовательностям гена 16S рДНК хлоропластов (август 2013 г.)

	Фила	Число последовательностей							всего
		1	2	3	4	5	6	7	
1	<i>Chlorophyta</i>	99	0	2	2	0	0	0	103
2	<i>Cryptophyta</i>	116	0	2	0	1	3	0	122
3	<i>Haptophyta</i>	262	21	80	15	47	38	171	634
4	<i>Ochrophyta</i>	69	28	98	15	42	15	42	309
5	<i>Streptophyta</i>	0	0	3	1	0	0	0	4

Примечание. 1 – 12 км от п. Култук, 2 – 3 км от прот. Харауз (р. Селенга), 3 – ц. ст. разреза п. Листвянка–п. Танхой, 4 – ц. ст. разреза п. Маритуй – п. Солзан, 5 – ц. ст. разреза р. Анга–р. Сухая, 6 – б. Базарная (пр. Малое Море), 7 – ц. ст. пр. Малое Море.

В сообществах, исследованных летом, все обнаруженные эукариоты определены как водоросли, среди них доминировали представители рода *Chrysochromulina* (634 последовательности, 54,1%) и *Ochromonas* (286 последовательностей, 24,4%). Также были обнаружены представители родов *Bolidomonas*, *Florenciella*, *Koliella*, *Nannochloropsis*, *Synedra*, *Teleaulax* и *Tetraselmis*.

Водоросли, присутствующие в значительном количестве в водном поверхностном микрослое, являются источником растворенного органического вещества для обитающих там гетеротрофных бактерий, а после отмирания превращаются в детрит. Присутствие в ПМС ДНК наземных растений свидетельствует о попадании, скорее всего, пыльцы на поверхность воды, что еще раз указывает на тесную связь ПМС не только с водной, но и наземной средой обитания. Влияние атмосферных переносов на химический состав воды озера Байкал отмечено в работе Т. В. Ходжер (2005), где указано, что значительная часть биогенных элементов (25–37% минерального азота и 14–27% минерального фосфора от общего поступления данных элементов в озеро) попадает в Байкал с атмосферными осадками (Ходжер, 2005). Также с атмосферными осадками в Байкал поступает до 10% органических веществ (Сороковикова и др., 2001). Большое количество водорослей в весенних пробах ПМС связано с массовым развитием фитопланктона в этот период, а также с активным перемешиванием водных слоев во время весенней гомотермии, поскольку этот процесс способствует попаданию водорослей на поверхность.

ГЛАВА 5. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ ПОВЕРХНОСТНОГО МИКРОСЛОЯ ВОДЫ ОЗЕРА БАЙКАЛ

5.1. Разнообразие и физиолого-биохимические свойства гетеротрофных бактерий, выделенных из поверхностного микрослоя воды озера Байкал

Из поверхностного микрослоя путем культивирования на различных питательных средах была получена коллекция гетеротрофных бактерий – 87 штаммов. С каждой питательной среды доминирующие морфотипы были выделены в чистую культуру.

Штаммы были идентифицированы на основании анализа фрагмента гена 16S рРНК до рода. Гомология с наиболее близкородственными последовательностями составила не менее 98%, что позволило установить сходство на уровне вида (Stackebrandt, Ebers, 2006). Близкородственные гомологи 45 из 87 изолированных штаммов бактерий (52%) были выделены из наземных сред обитания (табл. 16). Это является доказательством аэрозольного пути попадания бактерий в поверхностный микрослой с сохранением их жизнеспособности. Высокий процент таких бактерий в полученном сообществе связан, вероятно, с приспособленностью почвенных бактерий к жизни в условиях избытка органического субстрата, создающихся при культивировании на выбранных питательных средах. Также бактерии с высоким процентом сходства были выделены из воды, льда, биопленок, донных осадков, растений и цианобактериальных матов (табл. 16). Близкородственные гомологи 36 штаммов (41%) были изолированы из холодных мест обитания – из арктических, антарктических, альпийских почв и водоемов, ледников, высокогорных озер (приложение 13), что свидетельствует об адаптации к жизни условиях низких температур, характерных для озера Байкал.

Подавляющее большинство выделенных бактерий принадлежало филе *Proteobacteria* – 59 из 87 штаммов (67.8%). Из них 25 штаммов оказались представителями класса *Alphaproteobacteria*, 19 штаммов – класса

Betaproteobacteria, 15 штаммов – класса *Gammaproteobacteria*. 15 из 87 штаммов (17.2%) были отнесены к филе *Bacteroidetes*, 7 штаммов (8%) – к филе *Actinobacteria*, 4 штамма (5.1%) – к филе *Firmicutes* и 2 штамма (2.3%) – к филе *Deinococcus-Thermus*. Всего было определено 25 различных родов бактерий (приложение 14).

Таблица 16.

Происхождение близкородственных гомологов бактерий, изолированных из поверхностного микрослоя оз. Байкал

	источник выделения	Количество гомологов	Доля, %
«водные» гомологи	Вода	17	20
	Донные осадки	8	9
	ПМС оз. Байкал	4	5
	Цианобактериальные маты	4	5
	Биопленки камней оз. Байкал	2	2
	Водоочистные станции	2	2
	Морской лед	1	1
Всего		38	44
«наземные» гомологи	Почва	26	30
	Ледники	6	7
	Ризосфера растений	6	7
	Воздух	3	3
	Растения	2	2
	Бытовая пыль	1	1
	Навоз	1	1
Всего		45	51
	нд	4	5

Примечание. нд – нет данных об источнике выделения бактерии.

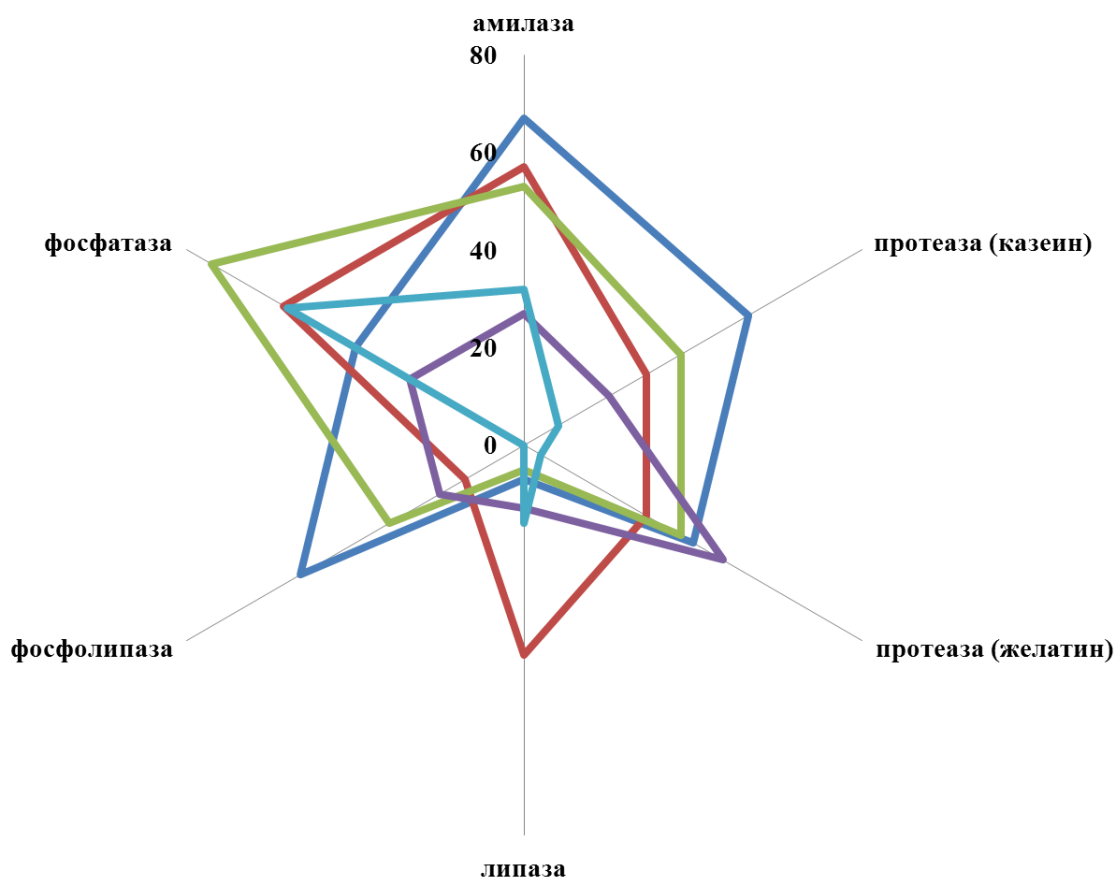
Большинство штаммов – 57 из 87 (66%) оказались неспособными утилизировать моно- и димерные субстраты (сахара, спирты и аминокислоты) (приложение 15, 16). 22 штамма (25%) могли утилизировать не более двух сахаров, спиртов и аминокислот, и лишь 8 штаммов (9%) утилизировали 3 и более мономерных субстрата. Из них половина (4 штамма) принадлежали филе *Bacteroidetes*.

Гораздо большее количество выделенных бактерий проявили активность в отношении сложных субстратов. 62 штамма (71%) проявили активность по крайней мере в отношении одного сложного субстрата (приложение 17).

При этом 41 из 87 (47%) выделенных штаммов проявили амилолитическую активность, 34 (39%) – протеолитическую активность по отношению к казеину или желатину, 11 (13%) – липолитическую активность на трибутириновом агаре, 24 (28%) – фосфолипазную активность на желточном агаре. На рисунке 13 показана доля (%) представителей различных крупных таксонов бактерий, обладающих тем или иным внеклеточным ферментом. Среди представителей филы *Bacteroidetes* и класса *Betaproteobacteria* выявлено наибольшее количество амило-, протео- и липолитиков. Доля представителей филы *Bacteroidetes* составила 24 (10 штаммов), 23.5 (8 штаммов) и 24% (8 штаммов) в данных группах гидролитиков, соответственно; класса *Betaproteobacteria* – 24 (10 штаммов), 26 (9 штаммов) и 18% (6 штаммов), соответственно. 23 штамма из 87 (26%) проявили множественную активность в отношении 3-4 полимерных субстратов. Среди них наибольшее количество принадлежало филе *Bacteroidetes* (7 штаммов) и классу *Betaproteobacteria* (6 штаммов).

Наличие щелочной фосфатазы обнаружено у 45 из 87 штаммов (52%). Одной из функций фосфатазы является отщепление фосфатов от органических молекул, что облегчает транспорт последних через плазматическую мембрану. Очевидно, данный фермент особенно востребован у бактерий в условиях высоких концентраций органических веществ в окружающей среде.

Все штаммы обладали внеклеточным ферментом каталазой, которая способствует разложению образующегося в процессе биологического окисления органических субстратов токсичного пероксида водорода на воду и молекулярный кислород. Наличие этого фермента указывает на аэробный тип дыхания изолированных бактерий.



Примечание.

— *Bacteroidetes* — *Actinobacteria* — *Betaproteobacteria* — *Gammaproteobacteria* — *Alphaproteobacteria*

Рис. 13. Доля (%) представителей различных крупных таксонов бактерий, изолированных из поверхностного микрослоя оз. Байкал, обладающих тем или иным внеклеточным ферментом

Известно, что в коллекциях живых культур организмов преобладают копиотрофы – колонизаторы, живущие в избытке питательных веществ (Заварзин, 2003). Это во многом определяет таксономический состав полученного нами культивируемого бактериального сообщества поверхностного микрослоя. Более половины выделенных бактерий (49 штаммов, 56%) отнесены к филе *Bacteroidetes* и классам *Beta*- и *Gammaproteobacteria*. Представители этих таксонов способны к быстрому росту в условиях высоких концентраций органического субстрата. Предпочтительным источником питания для изолированных бактерий филы *Bacteroidetes* и классов *Beta*- и

Gammaproteobacteria являются сложные субстраты – их деградировали 87, 75 и 73% штаммов, соответственно. Утилизировать низкомолекулярные соединения оказались способны 53, 20 и 40% штаммов, соответственно (табл. 17). Таким образом, в трофической структуре сообщества выделенные бактерии можно характеризовать преимущественно как гидролитиков.

Таблица 17.

Доля представителей различных таксонов бактерий, изолированных из поверхностного микрослоя оз. Байкал, с активностью в отношении низкомолекулярных соединений и полимерных субстратов

Таксон	Число представителей	Доля активных штаммов, %	
		Сахара, спирты, аминокислоты	Сложные субстраты
<i>Bacteroidetes</i>	15	53	87
<i>Betaproteobacteria</i>	19	20	75
<i>Gammaproteobacteria</i>	15	40	73
<i>Alphaproteobacteria</i>	25	24	48
<i>Actinobacteria</i>	7	29	86
<i>Firmicutes</i>	4	50	100
<i>Deinococcus-Thermus</i>	2	50	100

Alphaproteobacteria известны, с одной стороны, своей способностью выживать в условиях низкой доступности органических субстратов и питательных веществ, а с другой – способностью к деградации сложных биополимеров (Newton et al., 2011). В полученной коллекции доля представителей класса *Alphaproteobacteria* составила 29%. Несмотря на хороший рост на средах выделения – ПДС, РПА/10 и R2A, бактерии данного класса менее активно, чем другие *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* разлагали сложные субстраты крахмал, фосфолипиды, трибутирин, казеин и желатину – только 12 из 25 штаммов оказались способны к гидролизу по крайней мере одного из этих соединений. Моноисточники углерода могли утилизировать лишь 6 из 25 штаммов (табл. 17). Среди представителей класса *Alphaproteobacteria* наибольшую долю составили бактерии рода *Sphingomonas* (17 из 25 штаммов).

Вероятно, для них максимально подходили условия культивирования. Также удалось изолировать в чистую культуру представителей родов *Caulobacter* и *Brevundimonas*. Данные бактерии характеризуются наличием простек – специальных клеточных выростов, содержащих цитоплазму и окруженных клеточной оболочкой, и считаются типичными олиготрофами (Лаптева, 1987; Poindexter, 2006). На оз. Байкал изучением бактерий рода *Caulobacter* занималась А. С. Ковадло (Ковадло, 2006), также есть данные Н. А. Лаптевой с соавторами (Лаптева и др., 2007). Простеки сильно увеличивают периплазматическое пространство клетки, в котором расположены системы транспорта, обеспечивающие рост при низкой концентрации субстрата (Заварзин, 2003). Простекобактерии способны метаболизировать органические соединения, содержащиеся в крайне низких концентрациях, а также проводить гидролиз труднорастворимых веществ, таких как целлюлоза, ароматические углеводороды и др. (Poindexter, 2006).

Несмотря на широкую распространенность *Actinobacteria* в пресных водоемах, как следует из результатов молекулярных исследований (Newton et al., 2011), доля представителей данной филы в полученной коллекции была невысокой (8%), очевидно, вследствие того, что они являются медленно растущими бактериями. Шесть из семи изолированных штаммов были способны деградировать по крайней мере один сложный субстрат, а низкомолекулярные соединения утилизировали только два штамма (табл. 17). *Actinobacteria* – свободно живущие бактерии, способны генерировать АТФ за счет энергии солнца, имеют различные механизмы защиты от хищников, такие как синтез вторичных метаболитов, особое строение клеточной стенки, малые размеры клетки (Newton et al., 2011). В трофической структуре сообщества изолированные нами штаммы относятся, по-видимому, к гидролитикам.

Из поверхностного микрослоя оз. Байкал также выделили четыре представителя филы *Firmicutes* (класс *Bacilli*), и два представителя филы

Deinococcus-Thermus. Все штаммы активно деградировали полимерные субстраты, обладали множественной экзоферментативной активностью. Три штамма утилизировали широкий спектр низкомолекулярных соединений (табл. 17). По-видимому, «копиотрофный образ жизни», т.е. способность к активному росту в условиях избытка субстрата (Newton et al., 2011) стала причиной их успешного культивирования, несмотря на малую представленность данных таксонов в водных экосистемах.

Разнообразие культивируемых гетеротрофов, выделенных из биопленки поверхностного микрослоя, сравнивали с изученным ранее в водной толще озера (Белькова и др., 2003; Парфенова и др., 2006; Лаптева и др., 2007; Белых и др., 2013; Zakharova et al., 2013) и в биопленочных ассоциациях, развивающихся на границе раздела фаз вода–твердый субстрат биотического (Парфенова и др., 2008в) или абиотического происхождения (Парфенова и др., 2008б). Анализ разных биопленочных ассоциаций и водной толщи озера Байкал позволил отметить, что таксономическое разнообразие культивируемых гетеротрофов выше в водной толще (табл. 18). Из микробных сообществ всех трех экологических ниш выделены бактерии таких широко распространенных родов как *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* и *Pseudomonas* (табл. 18). Кроме того, как в поверхностном микрослое, так и в водной толще описаны *Brevundimonas*, *Caulobacter*, *Sphingomonas*, *Massilia*, *Bacillus* и *Deinococcus*, хотя последний и не является часто культивируемым представителем. Дополнительно к выше перечисленным из водной толщи озера разными авторами описаны представители 21 рода микроорганизмов, в то время как из поверхностного микрослоя – 14, а из биопленок на твердых субстратах – восемь (табл. 18). Полученные данные позволяют предположить, что в биопленочных ассоциациях, развивающихся на границе раздела фаз, формируется микробное сообщество, характеризующееся относительно невысоким разнообразием.

Таблица 18.

Встречаемость бактерий различных родов в поверхностном микрослое, в водной толще и на границах раздела фаз вода – биотический / абиотический субстрат в озере Байкал

	Поверхностный микрослой*	Водная толща **	Граница раздела фаз вода – биотический / абиотический субстрат ***
<i>Deinococcus-Thermus</i>	<i>Deinococcus</i>		
<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter</i>		
	<i>Rhodococcus</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Aureobacterium</i>
	<i>Micrococcus</i>		
	<i>Curtobacterium</i>	<i>Micromonospora</i>	
	<i>Microbacterium</i>	<i>Mycobacterium</i>	
		<i>Nocardia</i>	
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Streptomyces</i>		
	<i>Flavobacterium</i>		
	<i>Chryseobacterium</i>		
	<i>Pedobacter</i>		
<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Dyadobacter</i>		
	<i>Sphingobium</i>	<i>Methylobacterium</i>	
	<i>Brevundimonas</i>		
	<i>Caulobacter</i>		
	<i>Sphingomonas</i>		
		<i>Paracoccus</i>	
<i>Betaproteobacteria</i>		<i>Agrobacterium</i>	
	<i>Massilia</i>		
	<i>Ralstonia</i>	<i>Alcaligenes</i>	
	<i>Janthinobacterium</i>	<i>Chromobacterium</i>	
	<i>Variovorax</i>	<i>Gulbenkiania</i>	
	<i>Achromobacter</i>	<i>Zoogloea</i>	
<i>Gammaaproteobacteria</i>		<i>Aeromonas</i>	
	<i>Acinetobacter</i>		
	<i>Pseudomonas</i>		
	<i>Shewanella</i>	<i>Enhydrobacter</i>	
	<i>Psychrobacter</i>	<i>Erwinia</i>	
		<i>Escherichia</i>	
		<i>Klebsiella</i>	
		<i>Vibrio</i>	
	<i>Xanthomonas</i>		
<i>Firmicutes</i>	<i>Exiguobacterium</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Sarcina</i>
		<i>Planococcus</i>	
	<i>Bacillus</i>		

Примечание. * – наши данные; ** – по: Белькова и др., 2003; Парфенова и др., 2006; Лаптева и др., 2007; Белых и др., 2013; Zakharova et al., 2013; *** – по: Парфенова и др., 2008б, 2008в.

Изучение поверхностного микрослоя в других пресных водоемах в настоящее время проводится преимущественно молекулярными методами. Культивируемые гетеротрофы из поверхностного микрослоя описаны в пресном озере Мичиган, при этом разнообразие микроорганизмов в нем более сопоставимо с водной толщей, чем с поверхностным микрослоем озера Байкал. Из поверхностного микрослоя озера Мичиган культивировали бактерии, принадлежащие родам: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Chromobacterium*, *Acinetobacter* (Jones et al., 1991). Более подробно изучен поверхностный микрослой морских экосистем, где разнообразие культивируемых гетеротрофов богаче, чем в поверхностном микрослое и в водной толще озера Байкал, но все же более сопоставимо с микроорганизмами водной толщи. Выявлены культивируемые представители в основном следующих родов: *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Paracoccus*, *Erythrobacter*, *Sphingomonas*, *Algibacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Planococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* (Agogue et al., 2005б; Santos et al., 2012б).

На озере Байкал ферментативную активность гетеротрофных бактерий, выделенных из поверхностного микрослоя, изучал В. М. Никитин в июне 1979 г. Им было проанализировано 27 штаммов гетеротрофных бактерий, изучена их протеолитическая, амилолитическая, каталазная, дегидрогеназная, липазная активность, а также способность к образованию аминокислот. Протеолитическую активность проявили 22 (81.5%) штамма, амилолитическую, каталазную – 27 (100%) штаммов, дегидрогеназную – 15 (51.8%) штаммов, липазную – 25 (92.6%) штаммов. Способность к образованию аминокислот обнаружена у всех штаммов. Для сравнения В. М. Никитин исследовал ферментативную активность штаммов, выделенных из подповерхностного слоя воды. Представители планктона проявили более низкую способность утилизировать полимерные субстраты, чем представители нейстона. Доля

штаммов, проявивших протеолитическую, амилолитическую, каталазную, дегидрогеназную или липазную активность, составила 59.2, 74, 74, 40.7, 59.2, 59.2% соответственно.

Сравнительный анализ ферментативной активности гетеротрофных бактерий из водной толщи, а также из биопленочных ассоциаций, формирующихся на границах раздела фаз вода–воздух, вода–абиотический или биотический субстрат, показал, что в биопленочных ассоциациях сопоставимое количество микроорганизмов обладает казеиназной, фосфатазной, липолитической (трибутирин, фосфолипиды) и амилолитической активностью (табл. 19). В водной толще большая доля микроорганизмов обладает фосфатазной и липолитической (трибутирин) активностью и меньшая – казеиназной и фосфолипазной активностью по сравнению с микроорганизмами других сообществ. Наибольшая доля бактерий с протеолитической (желатин) активностью обнаружена среди выделенных из губки.

Исследователи, изучавшие другие водоемы, констатировали высокую активность бактериоценозных сообществ в отношении сложных субстратов (Tsyban, 1971; Mudryk, Skorczewski, 2000; Kuznetsova, Lee, 2001; Santos et al., 2009, 2014; Coelho et al., 2011) и в то же время низкий уровень инкорпорации низкомолекулярных соединений, таких как глюкоза, ацетат, лейцин (Dietz et al., 1976; Obernosterer et al., 2005; Joux et al., 2006; Santos et al., 2009, 2014; Sarmiento et al., 2015). Высказано предположение, что внеклеточную ферментативную активность стимулируют высокие концентрации органических полимерных веществ (Santos et al., 2009), а мономерные субстраты содержатся в ПМС в очень низких концентрациях (Reinthal et al., 2008).

Таким образом, получена коллекция бактерий, населяющих водный поверхностный микрослой оз. Байкал, из 87 штаммов. Все выделенные бактерии – строгие аэробы с хемоорганогетеротрофным типом метаболизма, в трофической структуре сообщества относящиеся к гидролитикам. Состав

культивируемого бактериального сообщества нейстона более сходен с биопленками на границе раздела вода – биотический / абиотический субстрат, чем с водной толщей озера, характеризуясь невысоким разнообразием. Сравнительный анализ показал, что сопоставимое количество микроорганизмов в нейстоне и других биопленочных ассоциациях обладает экзоферментативной активностью в отношении протестированных субстратов.

Таблица 19.

Ферментативная активность бактерий, выделенных из водной толщи и из микробных сообществ на границах раздела фаз вода – воздух и вода – твердый субстрат озера Байкал.

Субстрат/фермент	Доля активных штаммов, %			
	в ПМС*	в водной толще**	на границе раздела фаз вода–биотический субстрат (губка)**	на границе раздела фаз вода–абиотический субстрат (камни)***
Желатин/протеаза	31	20–45	50–95	30–45
Казеин/протеаза	31	10–30	50–95	25–45
<i>n</i> -нитрофенилфосфат/фосфатаза	52	80–85	40–45	10–30
Трибутирин/липаза	13	50–85	10–50	25
Фосфолипиды/фосфолипаза	28	10–20	25–75	20–50
Крахмал/амилаза	47	нд	нд	35–55

Примечание. * – наши данные; ** – по Парфенова и др., 2008в; *** – по Парфенова и др., 2008б; нд – нет данных.

5.2. Ферментативная активность бактериальных сообществ поверхностного микрослоя озера Байкал

Для изучения ферментативной активности бактериальных сообществ нейстона и подповерхностного слоя воды в весенние и летние сезоны 2015–2016 гг. был проведен глубинный посев проб воды на молочный (МА), крахмальный (КА) и желточный (ЖА) агар. Это позволило оценить способность бактериальных сообществ разлагать белки, сложные углеводы и жиры, соответственно.

Весной в бактерионейстонных сообществах доля активных колоний была сопоставима на всех протестированных сложных субстратах, значимых отличий найдено не было (ТМУВ, $p > 0.05$). Бактериальные сообщества ПСВ не разлагали крахмал, но активность в отношении казеина и фосфолипидов была сопоставимой (ТМУВ, $p > 0.05$). Летом как в ПМС, так и в ПСВ доля активных в отношении казеина, желатина и крахмала колоний была сопоставима (ТМУВ, $p > 0.05$).

Показано, что достоверные различия в активности бактериальных сообществ ПМС и ПСВ имелись только в летний период (ТМУВ, $p < 0.05$), при этом в ПМС доля активных колоний была минимум в 2 раза выше, чем в ПСВ (табл.20). В весенний период таких различий не было обнаружено (ТМУВ, $p > 0.05$). Методом МУВ выявлено, что различия как между весенними, так и между летними сезонами являются незначительными и в ПМС, и в ПСВ ($p > 0.05$). Поэтому в таблице 20 представлены средние значения за 2015–2016 гг.

Другим интересным наблюдением стало отсутствие значимых отличий в активности бактерионейстонных сообществ между весенними и летними периодами (ТМУВ, $p > 0.05$). При достоверных различиях в численности весной и летом доля активных бактерий оставалась неизменной.

Большая активность бактерионейстонных сообществ в отношении сложных субстратов по сравнению с планктонными связана, вероятно, с более высоким содержанием органических веществ в ПМС и, соответственно, большей приспособленностью бактерий к их разложению. Отсутствие значимых различий между ПМС и ПСВ весной можно объяснить интенсивным перемешиванием поверхностных вод в этот период.

Показатели ферментативной активности, полученные для изолированных чистых культур и для нативных микробных сообществ поверхностного микрослоя оз. Байкал, оказались сопоставимы. Так, 31% штаммов чистых культур и 22 – 34% КОЕ, выросших на молочном агаре, были способны

разлагать казеин. 28% изолятов и 20 – 30% КОЕ, выросших на желточном агаре, проводили гидролиз фосфолипидов. 47% изолированных чистых культур и 39 – 42% КОЕ, выросших на крахмальном агаре, разлагали крахмал.

Таблица 20.

Доля активных колоний (%) на молочном (МА), крахмальном (КА) и желточном (ЖА) агаре в ПМС и ПСВ в весенний и летний сезоны 2015–2016 гг.

сезон	Слой воды	Доля активных колоний, %		
		МА	КА	ЖА
весна	ПМС	34.3 ± 15	39 ± 1.8	20 ± 1.9
	ПС	27.6 ± 7.6	0	47.2 ± 11
лето	ПМС	22 ± 8.8	42 ± 1	30.2 ± 7.5
	ПС	11 ± 3.3	0.1 ± 0.06	10.6 ± 3.6

Примечание. После знака «±» приводится величина стандартной ошибки среднего при уровне значимости 0.05.

Таким образом, было показано, что достоверные различия в активности бактериальных сообществ нейстона и ПСВ имелись только в летний период. В весенний период таких различий не было обнаружено. В весенние и летние сезоны доля активных бактерий в ПМС оставалась неизменной, несмотря на наличие достоверных различий в численности. Экзоферментативная активность микробных сообществ нейстона, выросших на молочном, желточном и крахмальном агаре, оказалась сопоставимой с активностью изолированных штаммов бактерий в отношении указанных субстратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Водный поверхностный микрослой играет важную роль в обмене веществ между атмосферой и гидросферой. Бактерии, населяющие поверхностный микрослой, поддерживают его физико-химические свойства, активно участвуют в глобальном цикле углерода, в газообмене, поэтому одной из актуальных задач современной микробиологии является изучение состава и функционирования бактериальных сообществ нейстона.

Особый интерес представляет изучение нейстона озера Байкал, имеющего гигантскую поверхность, поскольку данных о бактериальных сообществах поверхностного микрослоя пресных водоемов немного, в основном было проведено исследование морских экосистем. Бактерионейстонные сообщества озера Байкал ранее не изучали молекулярно-генетическими методами.

Методами классической и молекулярной биологии, эпифлюоресцентной микроскопии было проведено исследование пространственного распределения, таксономического разнообразия, получена коллекция и охарактеризованы отдельные штаммы бактерий, населяющих поверхностный микрослой озера Байкал.

Общая численность бактерий в поверхностном микрослое озера Байкал по данным эпифлюоресцентной микроскопии весной составила в среднем $1.17 \pm 0.2 \times 10^6$ кл/мл, в подповерхностном слое воды – $0.85 \pm 0.11 \times 10^6$ кл/мл в исследуемый период. Летом общая численность бактерий в указанных слоях составила в среднем 2 ± 0.31 и $1.28 \pm 0.16 \times 10^6$ кл/мл, соответственно. Численность культивируемых гетеротрофных бактерий весной в ПМС составила в среднем 715 ± 206 КОЕ/мл, в подповерхностном слое воды – 100 ± 26 КОЕ/мл. Летом численность культивируемых гетеротрофных бактерий в указанных слоях воды составила 13390 ± 3970 и 905 ± 147 КОЕ/мл, соответственно. Бактериальные сообщества нейстона отличаются от планктонных большей долей культивируемых гетеротрофных бактерий.

Найдена значимая корреляционная связь между общей численностью бактерий и мутностью воды в ПМС, который отличается от подповерхностного слоя воды повышенным содержанием взвешенных частиц, а также между численностью культивируемых гетеротрофных бактерий и мутностью воды в ПМС. Общая численность бактерий и численность культивируемых гетеротрофных бактерий как в ПМС, так и в подповерхностном слое воды зависят от температуры воды, определяемой временем года, а также от концентрации органических веществ.

В составе бактериальных сообществ поверхностного микрослоя озера Байкал согласно данным метагеномного анализа ампликонов выявлено 18 фил. Доминирующими были *Bacteroidetes* (17–55%), *Actinobacteria* (17–42%), *Proteobacteria* (14–32%), *Verrucomicrobia* (3–16%) и *Planctomycetes*(0.03–3.8%). Среди минорных фил, составлявших не более 1% последовательностей в каждом бактериальном сообществе, обнаружены *Acidobacteria*, *Nitrospirae*, *Gemmatimonadetes*, *Armatimonadetes*, *Firmicutes*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Candidatus Saccharibacteria*, *Parcubacteria*, *Fusobacteria*, *OD1* и *Synergistetes*.

Нейстон характеризуется как биоценоз с высокой представленностью бактерий с фотогетеротрофным типом метаболизма, а также более низким по сравнению с планктоном видовым разнообразием. Наибольшее количество фотогетеротрофов обнаружено в бактерионейстонных сообществах летом, также как и флотипов, имеющих близкородственных культивируемых представителей, в том числе изолированных из поверхностного микрослоя озера Байкал.

Получена коллекция чистых культур бактерий из ПМС оз. Байкал. 68% штаммов принадлежало филе *Proteobacteria*, 17% – *Bacteroidetes*, 8% – *Actinobacteria*, 5% – *Firmicutes* и 2% – *Deinococcus-Thermus*. Всего было определено 25 различных родов бактерий путем секвенирования фрагмента гена

16S рРНК чистых культур. Ближайшие гомологи 51% штаммов имели наземное происхождение.

Все выделенные бактерии – строгие аэробы с хемоорганогетеротрофным типом метаболизма. Большинство (71%) относится к гидролитикам. Активность бактерионейстонных сообществ *in vivo* (при глубинном посеве проб воды на различные полимерные субстраты) была выше планктонных в летний период, весной таких различий не наблюдали. При этом доля активных бактерий в ПМС была одинакова летом и весной.

Таким образом, бактерионейстон озера Байкал характеризуется высокой численностью, сезонной изменчивостью, равномерно распределен по акватории озера; численность бактерий в поверхностном микрослое находится в прямой зависимости от температуры, мутности воды, а также от концентрации органических веществ. Бактериальное сообщество поверхностного микрослоя озера Байкал отличается высокой гидролитической активностью, большой долей представителей фило *Actinobacteria*, семейства *Pelagibacterales*, родов *Flavobacterium* и *Limnohabitans*, а также значительным количеством бактерий с фотогетеротрофным типом метаболизма. На состав, структуру и функционирование бактерионейстонного сообщества значительное влияние оказывает атмосфера и нижележащие слои воды.

ВЫВОДЫ

1. Нейстон озера Байкал характеризуется как уникальный биоценоз с высоким представительством бактерий с фотогетеротрофным типом метаболизма, а также более низким по сравнению с планктоном видовым разнообразием. Наибольшее количество фотогетеротрофов обнаружено в бактерионейстонных сообществах летом, также как и флотипов, имеющих близкородственных культивируемых представителей, в том числе изолированных из поверхностного микрослоя озера Байкал.
2. В составе бактериальных сообществ поверхностного микрослоя озера Байкал согласно данным метагеномного анализа ампликонов выявлено 17 фил. Доминирующими были *Bacteroidetes* (17–55%), *Actinobacteria* (17–42%), *Proteobacteria* (14–32%), *Verrucomicrobia* (3–16%) и *Planctomycetes* (0.03–3.8%). Минорные филы составляли не более 1% последовательностей в каждом бактериальном сообществе.
3. Получена коллекция чистых культур бактерий из поверхностного микрослоя озера Байкал. 68% штаммов принадлежало филе *Proteobacteria*, 17% – *Bacteroidetes*, 8% – *Actinobacteria*, 5% – *Firmicutes* и 2% – *Deinococcus-Thermus*. Всего было определено 25 различных родов бактерий путем секвенирования фрагмента гена 16S рРНК чистых культур. Ближайшие гомологи 51% штаммов, чье сходство составило не менее 98%, имели наземное происхождение, что свидетельствует об аэрозольном попадании бактерий в поверхностный микрослой с сохранением их жизнеспособности.
4. Все выделенные бактерии – строгие аэробы с хемоорганогетеротрофным типом метаболизма. Большинство (71%) относится к гидролитикам. 47% проявили амилолитическую, 39% – протеолитическую, 13% – липолитическую, 28% – фосфолипазную активность. Все штаммы обладали каталазой, 52% выделяли щелочную фосфатазу. Самыми

активными были представители фило *Bacteroidetes* и класса *Betaproteobacteria*. Активность бактерионейстонных сообществ была выше планктонных в летний период, весной таких различий не наблюдали, при этом доля активных нейстонных бактерий была одинакова летом и весной.

5. Общая численность бактерий в поверхностном микрослое озера Байкал весной составила в среднем $1.17 \pm 0.2 \times 10^6$ кл/мл, в подповерхностном слое воды – $0.85 \pm 0.11 \times 10^6$ кл/мл в исследуемый период. Летом общая численность бактерий в указанных слоях составила в среднем 2 ± 0.31 и $1.28 \pm 0.16 \times 10^6$ кл/мл, соответственно. Численность культивируемых гетеротрофных бактерий весной в поверхностном микрослое составила в среднем 715 ± 206 КОЕ/мл, в подповерхностном слое воды – 100 ± 26 КОЕ/мл. Летом численность культивируемых гетеротрофных бактерий в указанных слоях воды составила 13390 ± 3970 и 905 ± 147 КОЕ/мл, соответственно. Бактериальное сообщество нейстона отличается от планктонного большей долей культивируемых гетеротрофных бактерий.
6. Численность культивируемых гетеротрофных бактерий и общая численность бактерий как в поверхностном микрослое, так и в подповерхностном слое воды зависят от температуры воды, определяемой временем года, а также от концентрации органических веществ. Найдена значимая корреляционная связь между общей численностью бактерий и мутностью воды в поверхностном микрослое, который отличается от подповерхностного слоя воды повышенным содержанием взвешенных частиц, а также между численностью культивируемых гетеротрофных бактерий и мутностью воды в поверхностном микрослое.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атлас Байкала; под ред. Г. И. Галазия. – Омск: Роскартография, 1993. – 160 с.
2. Белых М. П. Особенности культивируемых гетеротрофных микроорганизмов литоральной зоны озера Байкал / М. П. Белых, Е. В. Суханова, Н. Л. Белькова // Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология». – 2013. – Т. 6, № 3. – С. 20–26.
3. Белькова Н. Л. Характеристика биоразнообразия микробного сообщества водной толщи озера Байкал / Н. Л. Белькова, В. В. Парфенова, Т. Я. Косторнова, Л. Я. Денисова, Е. Ф. Зайчиков // Микробиология. – 2003. – Т. 72, №2. – С. 239–249.
4. Верховина В. А. Микробиальные процессы круговорота азота в озере Байкал: биол. исслед.: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Алма-Ата, 1983. – 16 с.
5. Виноградова Т. П. Микробиологические исследования XX века. Ч. I: Итоги изучения Байкало-Ангара-Енисейской экосистемы / Т. П. Виноградова, Е. В. Кербер, В. В. Дрюккер и др. – Иркутск: Изд-во Ин-та географии СО РАН, 2004. – 93 с.
6. Гаранкина В. П. Деструкция органического вещества в прибрежной зоне залива Посольский Сор оз. Байкал / В. П. Гаранкина, О. П. Дагурова // Известия иркутского государственного университета. Серия: науки о Земле. – 2009. – № 2. – С. 65–71.
7. Гладких А. С. Анализ бактериального сообщества двух эндемичных видов губок из озера Байкал / А. С. Гладких, Ок. В. Калюжная, О. И. Белых, Т. С. Ан, В. В. Парфенова // Микробиология. – 2014. – Т. 83, № 6. – С. 682–693.
8. Гладышев М. И. Биофизика поверхностной пленки водных экосистем: биол. исслед.: автореф. дис. ... доктора биол. наук: 03.00.02. – Красноярск, 1993. – 37 с.

9. Дрюккер В. В. Особенности распространения бактерий рода *Pseudomonas* в озере Байкал / В. В. Дрюккер, О. Н. Павлова // Сиб. экол. журн. – 2000. – № 3. – С. 267–272.
10. Дрюккер В. В. К вопросу о биоразнообразии актиномицетов в озере Байкал / В. В. Дрюккер, И. А. Теркина // Микробиология. – 2002. – Т. 71, № 3. – С. 404–408.
11. Дрюккер В. В. Природные условия обитания бактерий рода *Caulobacter* в экосистеме озера Байкал / В. В. Дрюккер, А. С. Коваadlo // География и природ. ресурсы. – 2006. – № 2. – С. 69–72.
12. Заварзин Г. А. Бактериальное население поверхностной пленки воды в естественных водоемах дельты Волги / Г. А. Заварзин // Тр. Ин-та микробиологии АН СССР. – 1955. – № 4. С. 196–201.
13. Заварзин Г. А. Лекции по природоведческой микробиологии / Г. А. Заварзин; под ред. Н. Н. Колотиловой. – М.: Наука, 2003. – 347 с.
14. Зайцев Ю. П. Морская нейстонология / Ю. П. Зайцев. – Киев: Наук. Думка, 1970. – 264 с.
15. Карлин Л. Н. О влиянии температуры поверхности океана на обмен углекислым газом с атмосферой / Л. Н. Карлин, В. Н. Малинин, С. М. Гордеева // Океанология. – 2015. – Т. 55, № 1. – С. 16–25.
16. Коваadlo А. С. Особенности распределения и молекулярная детекция бактерий рода *Caulobacter* озера Байкал: биол. исслед.: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.16. – Иркутск, 2006. – 17 с.
17. Кожова О. М. О сезонных изменениях бактериопланктона в водах оз. Байкал / О. М. Кожова, Э. А. Казанцева // Микробиология. – 1961. – Т. 30, № 1. – С. 113–117.
18. Кузнецов С. И. Сравнительная характеристика биомассы бактерий и фитопланктона в поверхностном слое воды Среднего Байкала / С. И. Кузнецов // Тр. Байкал. лимнол. ст. АН СССР. – 1951. – Т. 13. – С. 217–224.

19. Кузнецов С. И. Микробиологическая характеристика вод и грунтов Байкала / С. И. Кузнецов // Тр. Байкал. лимнол. ст. АН СССР. – 1957. – Т. 15. – С. 388–396.
20. Лаптева Н. А. Экологические особенности распределения бактерий рода *Caulobacter* в пресных водоемах / Н. А. Лаптева // Микробиология. – 1987. – Т. 56, № 4. – С. 677–683.
21. Лаптева Н. А. Пространственное распределение и видовой состав простекобактерий в озере Байкал / Н. А. Лаптева, Н. Л. Белькова, В. В. Парфенова // Микробиология. – 2007. – Т. 76, № 4. – С. 545–551.
22. Лапшин В. Б. Поверхностный микрослой океана: Физические свойства и процессы // Дисс. ... доктора физ.-мат. наук. – Москва, 2004. – 396 с.
23. Максименко С. Ю. Микробное сообщество водной толщи на биогеохимическом барьере «река Селенга – озеро Байкал» / С. Ю. Максименко, Т. И. Земская, О. Н. Павлова, В. Г. Иванов, С. П. Бурюхаев // Микробиология. – 2008. – Т. 77, № 5. – С. 660–667.
24. Максимов В. В. Микробиологическая характеристика открытых вод Байкала по данным общей численности микроорганизмов / В. В. Максимов, Е. В. Щетинина // Журнал сибирского федерального университета. Серия биология. – 2009. – Т. 2, № 3. – С. 263–270.
25. Максимова Э. А. Микробиология вод Байкала / Э. А. Максимова, В. Н. Максимов. – Иркутск: Изд-во Иркут. Гос. ун-та, 1989. – 168 с.
26. Мессинева М. А. Биохимические исследования глубоководных осадков Байкала / М. А. Мессинева // Тр. Байкал. лимнол. ст. АН СССР. – 1957. – Т. 15. – С. 119.
27. Михайлов В. И. Поверхностный микрослой мирового океана (гидрохимические и физические особенности): геогрф. исслед.: автореф. дисс. ... доктора геогр. наук: 11.00.08. – Севастополь, 1994. – 46 с.

28. Михайлов И. С. Об однородности таксономического состава бактериальных сообществ фотического слоя трех котловин озера Байкал, различающихся по составу и обилию весеннего фитопланктона / И. С. Михайлов, Ю. Р. Захарова, Ю. П. Галачьянц, М. В. Усольцева, Д. П. Петрова, М. В. Сакирко, Е. В. Лихошвай, М. А. Грачев // ДАН. – 2015. – Т. 465, № 5. – С. 620–626.
29. Младова Т. А. О качественном составе бактериопланктона / Т. А. Младова // Тр. Лимнол. ин-та СО АН СССР. – 1971. – Т. 12 (32). – С. 196–201.
30. Намсараев Б. Б. Геохимическая деятельность сульфатредуцирующих бактерий в донных осадках озера Байкал / Б. Б. Намсараев, Л. Е. Дулов, Т. И. Земская, Е. Б. Карабанов // Микробиология. – 1995. – Т. 64, № 2. – С. 405–410.
31. Намсараев Б. Б. Микробиологические процессы круговорота углерода в донных осадках озера Байкал / Б. Б. Намсараев Намсараев, Т. И. Земская. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, фил. «Гео», 2000. – 160 с.
32. Никитин В. М. Закономерности количественного распределения бактерионейстона и бактериопланктона Байкала / В. М. Никитин // Микроорганизмы в экосистемах озер и водохранилищ. – Новосибирск: Наука, 1976. – С. 23–33.
33. Никитин В. М. Гетеротрофные микроорганизмы нейстона оз. Байкал / В. М. Никитин // Тезисы докл. к республиканск. совещанию, посвящ. проблемам экологии прибайкалья [Иркутск, 10-13 сентября 1979 г.]; под ред. О. М. Кожовой. – Иркутск: изд-во «Вост. Сиб. правда», 1979. – С. 31–32.
34. Никитин В. М. Бактерионейстон / В. М. Никитин // Экология Южного Байкала. – Иркутск: Изд-во Сиб. отд. АН СССР, 1983. – С. 68–77.
35. Павлова О. Н. Особенности распространения бактерий рода *Pseudomonas* в озере Байкал / О. Н. Павлова, В. В. Дрюккер, Т. Я. Косторнова, И. Г. Никулина // Сиб. экол. журн. – 2003. – № 3. – С. 267–272.

36. Парфенова В. В. О вертикальном распределении микроорганизмов в озере Байкал в период весеннего обновления глубинных вод / В. В. Парфенова, М. Н. Шимараев, Т. Я. Косторнова, В. М. Домышева, Л. А. Левин, В. В. Дрюккер, А. А. Жданов, Р. Ю. Гнатовский, В. В. Цехановский, Н. Ф. Логачева // Микробиология. – 2000. – Т. 69, № 3. – С. 433–440.
37. Парфенова В. В. Микробное сообщество окисленного слоя донных осадков оз. Байкал в устье Селенги / В. В. Парфенова, О. Н. Павлова, И. А. Теркина, М. Ю. Сулова, Т. Я. Косторнова, И. Г. Никулина, В. Н. Синюкович, Л. М. Сороковинова // Вод. Ресурсы. – 2005. – Т. 32, № 2. – С. 227–231.
38. Парфенова В. В. Изучение видового состава культивируемых гетеротрофных микроорганизмов / В. В. Парфенова, Н. Л. Белькова, Л. Я. Денисова, Е. Ф. Зайчиков, С. Ю. Максименко, Ю. Р. Захарова, Н. Ю. Поддубняк, О. А. Моложавая, И. Г. Никулина // Биология внутренних вод. – 2006. – № 1. – С. 8–15.
39. Парфенова В. В. Распределение и антибиотикорезистентность бактерий рода *Enterococcus*, изолированных из воды озера Байкал / В. В. Парфенова, О. С. Кравченко, О. Н. Павлова // Сибирский медицинский журнал. – 2008а. – Т. 78, № 3. – С. 78–81.
40. Парфенова В. В. Сообщества гидробионтов, развивающиеся на поверхности раздела фаз вода – горные породы оз. Байкал / В. В. Парфенова, В. В. Мальник, С. М. Бойко, Н. Г. Шевелева, Н. Ф. Логачева, Т. Д. Евстигнеева, А. Н. Сутурин, О. А. Тимошкин // Экология. – 2008б. – № 3. – С. 211–216.
41. Парфенова В. В. Микробное сообщество пресноводных губок озера Байкал / В. В. Парфенова, И. Л. Теркина, Т. Я. Косторнова, И. Г. Никулина, В. И. Черных, Э. Л. Максимова // Изв. РАН. Сер. биол. – 2008в. – Т. 35, № 4. – С. 435–445.

42. Парфенова В. В. Сравнительный анализ биоразнообразия бактериальных сообществ планктона и биопленки в озере Байкал / В. В. Парфенова, А. С. Гладких, О. И. Белых // Микробиология. – 2013. – Т. 82, № 1. – С. 94–105.
43. Практикум по микробиологии / Под ред. Н. С. Егорова. – М.: Изд-во МГУ, 1976. – 307 с.
44. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. вузов / Под ред. А. И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
45. Романенко В. И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. Лабораторное руководство / В. И. Романенко, С. И. Кузнецов. – Ленинград: изд-во “Наука”, 1974. – 194 с.
46. Сороковикова Л. М. Поступление биогенных элементов и органических веществ в оз. Байкал с речными водами и атмосферными осадками / Л. М. Сороковикова, В. Н. Синюкович, Т. В. Ходжер, Л. П. Голобокова, Н. В. Башенхаева, О. Г. Нецветаева // Метеорология и гидрология. – 2001. – № 4. – С. 78–86.
47. Теркина И. А. К вопросу о биоразнообразии актиномицетов в озере Байкал / И. А. Теркина, В. В. Дрюккер, В. В. Парфенова, Т. Я. Косторнова // Микробиология. – 2002. – Т. 71, № 3. – С. 404–408.
48. Ходжер Т. В. Исследование состава атмосферных выпадений и их воздействия на экосистемы байкальской природной территории: географ. исслед.: автореф. дисс. ... доктора геогр. наук: 25.00.30. – Москва, 2005. – 44 с.
49. Шимараев М. Н. К вопросу о стратификации и механизме конвекции на Байкале / М. Н. Шимараев, Н. Г. Гранин // Докл. АН СССР. – 1991. – Т. 321, № 2. – С. 381–385.
50. Шимараев М. Н. Международный гидрофизический эксперимент на Байкале: процессы обновления глубинных вод в весенний период / М. Н.

- Шимараев, М. А. Грачев, Д. М. Имбоден, С. Окуда, Н. Г. Гранин, Р. Кипфер, Л. А. Левин, С. Эндо // ДАН. – 1995. – Т. 343, № 6. – С. 824–827.
51. Шимараев М. Н. Процессы обмена и распределение микроорганизмов в глубинной зоне озера Байкал / М. Н. Шимараев, В. В. Парфенова, Т. Я. Косторнова, В. М. Домышева, Р. Ю. Гнатовский, А. А. Жданов, В. В. Цехановский, Н. Ф. Логачева, Л. А. Левин // ДАН. – 2000. – Т. 372, № 1. – С. 138–141.
52. Яснитский В. Н. Отчет о работах Байкальской биологической станции при Иркутском биолого-географическом институте за 1926-1927 гг. / В. Н. Яснитский, Б. Бланков, В. Гортиков. – Иркутск, 1927. – Т. 3, вып. 23. – С. 30.
53. Adamson A. W. Physical chemistry of surfaces / A. W. Adamson. – New York: Wiley & Sons Inc., 1990. – P. 75–86.
54. Agogue H. Comparison of samplers for the biological characterization of the sea surface microlayer / H. Agogue, E. O. Casamayor, F. Joux, I. Obernosterer, C. Dupuy, F. Lantoiné, P. Catala, M. G. Weinbauer, T. Reinthaler, G. J. Herndl, P. Lebaron // *Limnol. Oceanogr. Methods*. – 2004. – № 2. – P. 213–225.
55. Agogue H. A survey on bacteria inhabiting the sea surface microlayer of coastal ecosystems / H. Agogue, E. O. Casamayor, M. Bourrain, I. Obernosterer, F. Joux, G. J. Herndl, P. Lebaron // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2005a. – V.54, № 2. – P. 269–280.
56. Agogue H. Resistance of Marine Bacterioneuston to Solar Radiation / H. Agogue, F. Joux, I. Obernosterer, P. Lebaron // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005b. – V. 71, № 9. – P. 5282–5289.
57. Alldredge A. L. The abundance and significance of a class of large, transparent organic particles in the ocean / A. L. Alldredge, U. Passow, B. E. Logan // *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* – 1993. – V. 40, № 6. – P. 1131–1140.

58. Aller J. Y. The sea surface microlayer as a source of viral and bacterial enrichment in marine aerosols / J. Y. Aller, M. R. Kuznetsova, C. J. Jahns, P. F. Kemp // *J AerosolSci.* – 2005. – V. 36, № 5–6. – P. 801–812.
59. Alonso-Saez L. Effect of natural sunlight on bacterial activity and differential sensitivity of natural bacterioplankton groups in Northwestern Mediterranean coastal waters / L. Alonso-Saez, J. M. Gasol, T. Lefort, J. Hofer, R. Sommaruga // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – V. 72, № 9. – P. 5806–5813.
60. Auguet J.-C. A hotspot for cold crenarchaeota in the neuston of high mountain lakes / J.-C. Auguet, E. O. Casamayor // *Environ. Microbiol.* – 2008. – V. 10, № 4. – P. 1080–1086.
61. Azevedo J. S. N. Spatial and temporal analysis of estuarine bacterioneuston and bacterioplankton using culture-dependent and culture-independent methodologies / J. S. N. Azevedo, I. Ramos, S. Araujo, C. S. Oliveira, A. Correia, I. S. Henriques // *Antonie van Leeuwenhoek.* – 2012. – V. 101, № 4. – P. 819–835.
62. Barberan A. Structure, inter-annual recurrence, and global-scale connectivity of airborne microbial communities / A. Barberan, J. Henley, N. Fierer, E. O. Casamayor // *Sci. Total Environ.* – 2014. – V. 487. – P. 187–195.
63. Baxter R. M. Evidence for photochemical generation of superoxide ion in humic waters / R. M. Baxter, J. H. Carey // *Nature.* – 1983. – V. 306, № 5943. – P. 575–576.
64. Beja O. Unsuspected diversity among marine aerobic anoxygenic phototrophs / O. Beja, M. T. Suzuki, J. F. Heidelberg, W. C. Nelson, C. M. Preston, T. Hamada, J. A. Eisen, C. M. Fraser, E. F. DeLong // *Nature.* – 2002. – V. 415, № 6872. – P. 630–633.
65. Bell C. R. Bacteriological investigation of the neuston and plankton in the Fraser River estuary, British Columbia / C. R. Bell, L. J. Albright // *Estuar. Coast. Shelf Sci.* – 1982. – V. 15, № 4. – P. 385–394.

66. Bertilsson S. Photochemically produced carboxylic acids as substrates for freshwater bacterioplankton / S. Bertilsson, L. J. Tranvik // *Limnol. Oceanogr.* – 1998. – V. 43, № 5. – P. 885–895.
67. Botte V. Numerical modelling of the Marangoni effects induced by plankton-generated surfactants / V. Botte, D. Mansutti // *J. Mar. Syst.*– 2005. – V. 57, № 1–2. – P. 55–69.
68. Brockmann U. H. Artificial surface films in the sea area near Sylt / U. H. Brockmann, H. Hühnerfuss, G. Kattner, H.-C. Broecker, G. Hentzschel // *Limnol. Oceanogr.* – 1982. – V. 27, № 6. – P. 1050–1058.
69. Broecker W. S. Gas exchange rates between air and sea / W. S. Broecker, T. H. Peng // *Tellus.* – 1974. – V. 26, № 1–2. – P. 21–35.
70. Brooks I. M. Physical exchanges at the air–sea interface: UK-SOLAS field measurements / I. M. Brooks, M. J. Yelland, R. C. Upstill-Goddard, P. D. Nightingale, S. Archer, E. d’Asaro, R. Beale, C. Beattie, B. Blomquist, A. A. Bloom, B. J. Brooks, J. Cluderay, D. Coles, J. Dacey, M. DeGrandpre, J. Dixon, W. M. Drennan, J. Gabriele, L. Goldsen, N. Hardman-Mountford, M. K. Hill, M. Horn, P.-C. Hsueh, B. Huebert, G. de Leeuw, T. G. Leighton, M. Liddicot, J. J. N. Lingard, C. McNeil, J. B. McQuaid, B. I. Moat, G. Moore, C. Neill, S. J. Norris, S. O’Doherty, R. W. Pascal, J. Prytherch, M. Rebozo, E. Sahlee, M. Salter, U. Schuster, I. Skjelvan, H. Slagter, M. H. Smith, P. D. Smith, M. Srokosz, J. A. Stephens, P. K. Taylor, M. Telszewski, R. Walsh, B. Ward, D. K. Woolf, D. Young, H. Zemmelen // *Bull. Am. Meteorol. Soc.* – 2009. – V. 90, № 5. – P. 629–644.
71. Brosius J. Gene organization and primary structure of a ribosomal RNA operon from *Escherichia coli* / J. Brosius, T. J. Dull, D. D. Sleeter, H. F. Noller // *J. Mol. Biol.* – 1981. – V. 148, № 2. – P. 107–127.
72. Bushaw K. L. Photochemical release of biologically available nitrogen from aquatic dissolved organic matter / K. L. Bushaw, R. G. Zepp, M. A. Tarr, D.

- Schulz-Jander, R. A. Bourbonniere, R. E. Hodson, W. L. Miller, D. A. Bronk, M. A. Moran // *Nature*. – 1996. – V. 381, № 6581. – P. 404–407.
73. Cadet J. Ultraviolet radiation mediated damage to cellular DNA / J. Cadet, E. Sage, T. Douki // *Mutat. Res.* – 2005. – V. 571, № 1–2. – P. 3–17.
74. Caliz J. Environmental controls and composition of anoxygenic photoheterotrophs in ultraoligotrophic high-altitude lakes (Central Pyrenees) / J. Caliz, E. O. Casamayor // *Environ. Microbiol. Rep.* – 2014. – V. 6, № 2. – P. 145–151.
75. Calleja M. L. Control of air–sea CO₂ disequilibria in the subtropical NE Atlantic by planktonic metabolism under the ocean skin / M. L. Calleja, C. M. Duarte, N. Navarro, S. Agustí // *Geophys. Res. Lett.* – 2005. – V. 32, № 8. – P. 1–4.
76. Carlson D. J. A field evaluation of plate and screen microlayer sampling techniques / D. J. Carlson // *Mar. Chem.* – 1982. – V. 11, № 3. – P. 189–208.
77. Carlson D. J. Dissolved organic materials in surface microlayers: temporal and spatial variability and relation to sea state / D. J. Carlson // *Limnol. Oceanogr.* – 1983. – V. 28, № 3. – P. 415–431.
78. Carlson D. J. Description of and results from a new surface microlayer sampling device / D. J. Carlson, J. L. Cantey, J. J. Cullen // *DeepSeaRes. A.* – 1988. – V. 35, № 7. – P. 1205–1213.
79. Chun J. The analysis of oral microbial communities of wild-type and toll-like receptor 2-deficient mice using a 454 GS FLX Titanium pyrosequencer / J. Chun, K. Y. Kim, J.-H. Lee, Y. Choi // *BMC Microbiol.* – 2010. – V. 10, Article 101.
80. Cini R. Remote sensing of marine slicks utilizing their influence on wave spectra / R. Cini, P. P. Lombardini, H. Huhnerfuss // *Int. J. Remote. Sens.* – 1983. – V. 4, № 1. – P. 101–110.
81. Coelho F. J. R. C. Exploring hydrocarbonoclastic bacterial communities in the estuarine surface microlayer / F. J. R. C. Coelho, S. Sousa, L. Santos, A. L.

- Santos, A. Almeida, N. C. M. Gomes, A. Cunha // *Aquat. Microb. Ecol.* – 2011. – V. 64, № 2. – P. 185–195.
82. Cole J.R. The Ribosomal Database Project: improved alignments and new tools for rRNA analysis / J. R. Cole, Q. Wang, E. Cardenas, J. Fish, B. Chai, R. J. Farris, A. S. Kulam-Syed-Mohideen, D. M. McGarrell, T. Marsh, G. M. Garrity, J. M. Tiedje // *Nucleic Acids Res.* – 2009. – V. 37, № 1. – P. 141–145.
83. Conrad R. Influence of the surface microlayer on the flux of nonconservative trace gases (CO, H₂, CH₄, N₂O) across the ocean-atmosphere interface / R. Conrad, W. Seiler // *J. Atmos. Chem.* – 1988. – V. 6, № 1. – P. 83–94.
84. Crow S. A. Densities of bacteria and fungi in coastal surface films as determined by a membrane-adsorption procedure / S. A. Crow, D. G. Ahearn, W. L. Cook, A. W. Bourquin // *Limnol. Oceanogr.* – 1975. – V. 20, № 4. – P. 644–646.
85. Cunliffe M. Phylogenetic and functional gene analysis of the bacterial and archaeal communities associated with the surface microlayer of an estuary / M. Cunliffe, H. Schäfer, E. Harrison, S. Cleave, R. Upstill-Goddard, J. C. Murrell // *ISMEJ.* – 2008. – V. 2, № 7. – P. 776–789.
86. Cunliffe M. The sea-surface microlayer is a gelatinous biofilm / M. Cunliffe, J. C. Murrell // *ISMEJ.* – 2009. – V. 3, № 9. – P. 1001–1003.
87. Cunliffe M. Comparison of bacterioneuston and bacterioplankton dynamics during a phytoplankton bloom in a fjord mesocosm / M. Cunliffe, A. S. Whiteley, L. Newbold, A. Oliver, H. Schäfer, J. C. Murrell // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2009a. – V. 75, № 22. – P. 7173–7181.
88. Cunliffe M. Comparison and validation of sampling strategies for the molecular microbial analysis of surface microlayers / M. Cunliffe, E. Harrison, M. Salter, H. Schäfer, R. C. Upstill-Goddard, J. C. Murrell // *Aquat. Microb. Ecol.* – 2009b. – V. 57, № 1. – P. 69–77.
89. Cunliffe M. Dissolved organic carbon and bacterial populations in the gelatinous surface microlayer of a Norwegian fjord mesocosm / M. Cunliffe, M. Salter, P. J.

- Mann, A. S. Whiteley, R. C. Upstill-Goddard, J. C. Murrell // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2009B. – V. 299, № 2. – P. 248–254.
90. Cunliffe M. Microbiology of aquatic surface microlayers / M. Cunliffe, R. Upstill-Goddard, C. Murrell // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2011. – V. 35, № 2. – P. 233–246.
91. De Souza Limaa Y. Measurements of biomass and activity of neustonic microorganisms / Y. De Souza Limaa, M. J. Chretiennot-Dinet // *Estuar. Coast. Shelf. Sci.* – 1984. – V. 19, № 2. – P. 167–180.
92. Dietz A. S. Heterotrophic activities of bacterioneuston and bacterioplankton / A. S. Dietz, L. J. Albright, T. Tuominen // *Can. J. Microbiol.* – 1976. – V. 22, № 12. – P. 1699–1709.
93. Donderski W. Neustonic Bacteria Number, Biomass and Taxonomy / W. Donderski, M. Walczak, Z. Mudryk, M. Kobylński // *Polish Journal of Environmental Studies.* – 1999. – V. 8, № 3. – P. 137–141.
94. Drudge C. N. Diurnal floc generation from neuston biofilms in two contrasting freshwater lakes / C. N. Drudge, L. A. Warren // *Environ. Sci. Technol.* – 2014. – V. 48, № 17. – P. 10107–10115.
95. Edgar R. C. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection / R. C. Edgar, B. J. Haas, J. C. Clemente, C. Quince, R. Knight // *Bioinformatics.* – 2011. – V. 27, № 16. – P. 2194–2200.
96. Fehon W. C. Taxonomy and distribution of surface microlayer bacteria from two estuarine sites / W. C. Fehon, J. D. Oliver // *Estuaries.* – 1979. – V. 2, № 3. – P. 194–197.
97. Filkins L. M. Prevalence of Streptococci and increased polymicrobial diversity associated with cystic fibrosis patient stability / L. M. Filkins, T. H. Hampton, A. H. Gifford, M. J. Gross, D. A. Hogan, M. L. Sogin, H. G. Morrison, B. J. Paster, G. A. O'Toole // *J. Bacteriol.* – 2012. – V. 194, № 17. – P. 4709 – 4717.

98. Franklin M. P. Bacterial diversity in the bacterioneuston (sea surface microlayer): The bacterioneuston through the looking glass / M. P. Franklin, I. R. McDonald, D. G. Bourne, N. J. P. Owens, R. C. Upstill-Goddard, J. C. Murrell // *Environ. Microbiol.* – 2005. – V. 7, № 5. – P. 723–736.
99. Frew N. M. Scaling of marine microlayer film surface pressure–area isotherms using chemical attributes / N. M. Frew, R. K. Nelson // *J. Geophys. Res. Oceans.* – 1992. – V. 97, № 4. – P. 5291–5300.
100. Frew N. M. The role of organic films in air–sea gas exchange / N. M. Frew // *The Sea Surface and Global Change*; eds. P. S. Liss, R. A. Duce. – N.Y.: Cambridge University Press, 2005. – P. 121–172.
101. Frka S. Characterization and seasonal variations of surface active substances in the natural sea surface microlayers of the coastal middle Adriatic stations / S. Frka, Z. Kozarac, B. Čosović // *Estuar. Coast. Shelf. Sci.* – 2009. – V. 85, № 4. – P. 555–564.
102. Frost T. Environmental control of air–water gas exchange: diss. – Newcastle-upon-Tyne: University of Newcastle-upon-Tyne, 1999.
103. Fuerst J. A. The planctomycetes: emerging models for microbial ecology, evolution and cell biology / J. A. Fuerst // *Microbiology (Reading, Engl.)*. – 1995. – V. 141, № 7. – P. 1493–1506.
104. Gaines G. L. J. Insoluble monolayers at liquid–gas interfaces / G. L. J. Gaines. – New York: Interscience, 1966.
105. Garcia-Pichel F. A model for internal self-shading in planktonic organisms and its implications for the usefulness of ultraviolet sunscreens / F. Garcia-Pichel // *Limnol. Oceanogr.* – 1994. – V. 39, № 7. – P. 1704–1717.
106. Garrett W. D. Collection of slick-forming materials from the sea surface / W. D. Garrett // *Limnol. Oceanogr.* – 1965. – V. 10. – P. 602–605.
107. Gašparović B. Physico-chemical characterization of natural and ex-situ reconstructed sea-surface microlayers / B. Gašparović, Z. Kozarac, A. Saliot, B.

- Ćosović, D. Mobius // J. Colloid. Interface. Sci. – 1998. – V. 208, № 1. – P. 191–202.
108. Girotti A. W. Photosensitized oxidation of membrane lipids: reaction pathways, cytotoxic effects, and cytoprotective mechanisms / A. W. Girotti // J.Photochem.Photobiol. B, Biol.– 2001. – V. 63, № 1–3. – P. 103–113.
109. Grote J. Streamlining and core genome conservation among highly divergent members of the SAR11 clade / J. Grote, J. C. Thrash, M. J. Huggett, Z. C. Landry, P. Carini, S. J. Giovannoni, M. S. Rappe // MBio. – 2012. – V. 3, № 5. – P. e00252-12.
110. Hahn M. W. *Limnohabitans curvus* gen. nov., sp. nov., a planktonic bacterium isolated from a freshwater lake / M. W. Hahn, V. Kasalicky, J. Jezbera, U. Brandt, J. Jezberova, K. Simek // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2010. – V. 60, № 6. – P. 1358–1365.
111. Hardy J. T. The sea surface microlayer: biology, chemistry and anthropogenic enrichment / J. T. Hardy // Prog. Oceanogr. – 1982. – V. 11, № 4. – P. 307–328.
112. Hardy J. T. The sea-surface microlayer: phytoneuston productivity and effects of atmospheric particulate matter / J. T. Hardy, C. W. Apts // Mar. Biol. – 1984. – V. 82, № 3. – P. 293–300.
113. Hardy J. T. Photosynthetic carbon reduction: high rates in the sea surface microlayer / J. T. Hardy, C. W. Apts // Mar. Biol. – 1989. – V. 101, № 3. – P. 411–417.
114. Harvey G. W. Microlayer collection from the sea surface: a new method and initial results / G. W. Harvey // Limnol. Oceanogr. – 1966. – V. 11, № 4. – P. 608–613.
115. Harvey G. W. A simple microlayer method for small samples / G. W. Harvey, L. A. Burzell // Limnol. Oceanogr. – 1972. – V. 17, № 1. – P. 156–157.
116. Hatcher R. F. Laboratory comparisons of four surface microlayer samplers / R. F. Hatcher, B. C. Parker // Limnol. Oceanogr. – 1974. – V. 19, № 1. – P. 162–165.

117. Hervas A. High similarity between bacterioneuston and airborne bacterial community compositions in a highmountain lake area / A. Hervas, E. O. Casamayor // FEMS Microbiol. Ecol. – 2009. – V. 67, № 2. – P. 219–228.
118. Ho D. T. On mechanisms of rain-induced air–water gas exchange / D. T. Ho, W. E. Asher, L. F. Bliven, P. Schlosser, E. L. Gordan // J. Geophys. Res. Oceans. – 2000. – V. 105, № 10. – P. 24045–24057.
119. Hörtnagl P. Living at the border: a community and single-cell assessment of lake bacterioneuston activity / P. Hörtnagl, M. T. Pérez, R. Sommaruga // Limnol. Oceanogr. – 2010a. – V. 55, № 3. – P. 1134–1144.
120. Hörtnagl P. The bacterial community composition of the surface microlayer in a high mountain lake / P. Hörtnagl, M. T. Perez, M. Zeder, R. Sommaruga // FEMS Microbiol. Ecol. – 2010b. – V. 73, № 3. – P. 458–467.
121. Huhnerfuss H. Basic physiochemical principles of monomolecular sea slicks and crude oil spills / H. Huhnerfuss // Marine Surface Films; eds. M. Gade, H. Huhnerfuss, G. Korenowski. – Berlin: Springer, 2006. – P. 21–36.
122. Jones G. W. Heterotrophic bacteria of the freshwater neuston and their ability to act as plasmid recipients under nutrient deprived conditions / G. W. Jones, L. Baines, F. J. Genthner // Microb. Ecol. – 1991. – V. 22, № 1. – P. 15–25.
123. Joux F. Microbial community structure in the sea surface microlayer at two contrasting coastal sites in the northwestern Mediterranean Sea / F. Joux, H. Agogue, I. Obernosterer, C. Dupuy, T. Reinthaler, G. J. Herndl, P. Lebaron // Aquat. Microb. Ecol. – 2006. – V. 42, № 1. – P. 91–104.
124. Jung D. Application of a new cultivation technology, I-tip, for studying microbial diversity in freshwater sponges of lake Baikal, Russia / D. Jung, E.-Yo. Seo, S. S. Epstein, Yo. Joung, Ja. Han, V. V. Parvenova, O. I. Belykh, A. S. Gladkikh, T. S. Ahn // FEMS Microbiol. Ecol. – 2014. – V. 90, № 2. – P. 417–423.
125. Kasalicky V. The diversity of the *Limnohabitans* genus, an important group of freshwater bacterioplankton, by characterization of 35 isolated strains / V.

- Kasalicky, J. Jezbera, M. W. Hahn, K. Simek // PLoS One. – 2013. – V. 8, № 3. – P e58209.
126. Kirchman D. L. Bioenergetics of photoheterotrophic bacteria in the oceans / D. L. Kirchman, T. E. Hanson // Environ. Microbiol. Rep. – 2013. – V. 5, № 2. – P. 188–199.
127. Kjelleberg S. Comparative study of different hydrophobic devices for sampling lipid surface films and adherent microorganisms / S. Kjelleberg, T. A. Stenstrom, G. Odham // Mar. Biol. – 1979. – V. 53, № 1. – P. 21–25.
128. Kozarac Z. Interaction of polysaccharides with lipid monolayers / Z. Kozarac, B. Čosović, D. Möbius, M. Dobrić // J. Colloid Interface Sci.– 2000. – V. 226, № 2. – P. 210–217.
129. Kozarac Z. Complex methodological approach to the studies of natural microlayers at the air/water interface / Z. Kozarac, B. Čosović, S. Frka, D. Mobius, S. Hacke // ColloidsSurf. A Physicochem. Eng. Asp. – 2003. – V. 219, № 1–3. – P. 173–186.
130. Kozarac Z. Reflection of light from the air/ water interface covered with sea-surface microlayers / Z. Kozarac, D. Risović, S. Frka, D. Mobius // Mar. Chem. – 2005. – V. 96, № 1–2. – P. 99–113.
131. Kurilkina M. I. Bacterial community composition in the water column of the deepest freshwater Lake Baikal as determined by next-generation sequencing / M. I. Kurilkina, Yu. R. Zakharova, Yu. P. Galachyants, D. P. Petrova, Yu. S. Bukin, V. M. Domyshva, V. V. Blinov, Ye. V. Likhoshway // FEMS Microbiol. Ecol.– 2016. – V. 92, № 7. – P. fiw094.
132. Kuznetsova M. Enhanced extracellular enzymatic peptide hydrolysis in the sea-surface microlayer / M. Kuznetsova, C. Lee // Mar. Chem. – 2001. – V. 73, № 1–2. – P. 319–332.

133. Kuznetsova M. Enrichment of amino acids in the sea-surface microlayers at coastal and open ocean sites in the north Atlantic ocean / M. Kuznetsova, C. Lee, J. Aller, N. M. Frew // *Limnol. Oceanogr.* – 2004. – V. 49, № 5. – P. 1605–1619.
134. Lake Baikal: Evolution and Biodiversity; eds. O. M. Kozhova, L. R. Izmet'eva. – Leiden: Backhuys Publishers, 1998. – 447 p.
135. Larsson K. On lipid surface films on the sea. I. A simple method for sampling and studies of composition // K. Larsson, G. Odham, A. Sodergren // *Mar. Chem.* – 1974. – V. 2, № 1. – P. 49–57.
136. Lee R. F. Copepod “slick” in the northwest Pacific ocean / R. F. Lee, P. M. Williams // *Naturwissenschaften.* – 1974. – V. 61, № 11. – P. 505–506.
137. Lindroos A. Comparison of sea surface microlayer and subsurface water bacterial communities in the Baltic Sea / A. Lindroos, H. M. Szabo, M. Nikinmaa, P. Leskinen // *Aquat. Microb. Ecol.* – 2011. – V. 65, № 1. – P. 29–42.
138. Lindstrom E. S. Distribution of typical freshwater bacterial groups is associated with pH, temperature, and lake water retention time // E. S. Lindstrom, M. P. K.-V. Agterveld, G. Zwart// *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – V. 71, № 12. – P. 8201–8206.
139. Liss P. S. Gas transfer: experiments and geochemical implications / P. S. Liss // *Air–sea exchange of gases and particles*; eds. P. S. Liss, W. G. N. Slinn. – Dordrecht: D. Reidel Publishing Company, 1983. – P. 241–298.
140. Lyons M. M. DNA damage induced by ultraviolet radiation in coral-reef microbial communities / M. M. Lyons, P. Aas, J. D. Pakulski, L. Van Waasbergen, R. V. Miller, D. L. Mitchell, W. H. Jeffrey // *Mar. Biol.* – 1998. – V. 130, № 3. – P. 537–543.
141. Maki J. S. A membrane adsorption-SEM technique for observing neuston organisms / J. S. Maki, C. C. Remsen // *Microb. Ecol.* – 1983. – V. 9, № 2. – P. 177–183.

142. Maki J. S. Examination of a freshwater surface microlayer for diel changes in the bacterioneuston / J. S. Maki, C. C. Remsen // *Hydrobiologia*. – 1989. – V. 182, № 1. – P. 25–34.
143. Martinez-Garcia M. High-throughput single-cell sequencing identifies photoheterotrophs and chemoautotrophs in freshwater bacterioplankton / M. Martinez-Garcia, B. K. Swan, N. J. Poulton, M. Lluesma Gomez, D. Masland, M. E. Sieracki, R. Stepanauskas // *ISME J.* – 2012. – V. 6, № 1. – P. 113–123.
144. Mazurek Z. A. Evolution of natural sea surface film structure as a tool for organic matter dynamics tracing / Z. A. Mazurek, J. S. Pogorzelski, K. Boniewicz-Szmyt // *J. Mar. Syst.* – 2008. – V. 74. – P. 52–64.
145. McKenna S. P. The role of free-surface turbulence and surfactants in air-water gas transfer / S. P. McKenna, W. R. McGillis // *Int. J. Heat Mass Transf.* – 2004. – V. 47, № 3. – P. 539–553.
146. McKenna S. P. Physiochemical effects of the marine microlayer on air–sea gas transport / S. P. McKenna, E. J. Bock // *Marine Surface Films*; eds. M. Gade, H. Huhnerfuss, G. Korenowski. – Berlin: Springer, 2006. – P. 77–92.
147. McMurdie P. J. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data / P. J. McMurdie, S. Holmes // *PLoS ONE*. – 2013. – V. 8, № 4. – P. 1–11.
148. Mitchell D. L. The induction and repair of DNA photodamage in the environment / D. L. Mitchell, D. Karentz // *Environmental UV Photobiology*; eds. A. R. Young, L. O. Bjorn, J. Moan, W. Nultsch. – N.Y.: Plenum Press, 1993. – P. 345–377.
149. Montes-Hugo M. A. Differences in photosynthetic pigment signatures between phytoneuston and phytoplankton communities in a coastal lagoon of Baja California / M. A. Montes-Hugo, S. Alvarez-Borrego // *Mar. Biol.* – 2007. – V. 151, № 4. – P. 1225–1236.

150. Moran M. A. Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter / M. A. Moran, R. G. Zepp // *Limnol. Oceanogr.* – 1997. – V. 42, № 6. – P. 1307–1316.
151. Morris R. M. SAR11 clade dominates ocean surface bacterioplankton communities / R. M. Morris, M. S. Rappe, S. A. Connon, K. L. Vergin, W. A. Siebold, C. A. Carlson, S. J. Giovannoni // *Nature.* – 2002. – V. 420, №. 6917. – P. 806–810.
152. Mudryk Z. J. Occurrence and Activity of Lipolytic Bacterioneuston and Bacterioplankton in the Estuarine Lake Gardno / Z. J. Mudryk, P. Skorczewski // *Estuar. Coast. ShelfSci.* – 2000. – V. 51, № 6. – P. 763–772.
153. Munster U. Nutrient composition, microbial biomass and activity at the air–water interface of small boreal forest / U. Munster, E. Heikkinen, J. Knulst // *Hydrobiologia.* – 1998. – V. 363, № 1–3. – P. 261–270.
154. Naumann E. Beitrage zur kenntnis des teichnanoplanktons. II. Uber das neuston des suswasser / E. Naumann // *Biol. Zent. Bl.*– 1917. – V. 37. – P. 98–106.
155. Nausch M. Bacterial utilization of phosphorus pools after nitrogen and carbon amendment and its relation to alkaline phosphatase activity / M. Nausch, G. Nausch // *Aquat. Microb. Ecol.* – 2004. – V. 37, № 3. – P. 237–245.
156. Newton R. J. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria / R. J. Newton, S. E. Jones, A. Eiler, K. D. McMahon, S. Bertilsson // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2011. – V. 75, № 1. – P. 14–49.
157. Norkrans B. Surface microlayers in aquatic environments / B. Norkrans // *Advances in microbial ecology*; ed. M. Alexander. – N.Y.: Plenum Press, 1980. – P. 51–85.
158. Obernosterer I. Enhanced heterotrophic activity in the surface microlayer of the Mediterranean Sea / I. Obernosterer, P. Catala, T. Reinthaler, G. J. Herndl, P. Lebaron // *Aquat. Microb. Ecol.* – 2005. – V. 39, № 3. – P. 293–302.

159. Obernosterer I. Biochemical characteristics and bacterial community structure of the sea surface microlayer in the South Pacific Ocean / I. Obernosterer, P. Catala, R. Lami, J. Caparros, J. Ras, A. Bricaud, C. Dupuy, F. van Wambeke, P. Lebaron // *Biogeosciences*. – 2008. – V. 5, № 3. – P. 693–705.
160. Oksanen J. Package “vegan” / J. Oksanen, F. G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, D. McGlinn, P. R. Minchin, R. B. O'Hara, G. L. Simpson, P. Solymos, M. H. H. Stevens, E. Szoecs, H. Wagner // 2017. <ftp://cran.de.r-project.org/pub/R/web/packages/vegan/vegan.pdf>
161. Pakulski J. D. Influence of light on bacterioplankton production and respiration in a subtropical coral reef / J. D. Pakulski, P. Aas, W. Jeffrey, M. Lyons, L. G. van Waasbergen, D. Mitchell, R. Coffin // *Aquat. Microb. Ecol.* – 1998. – V. 14, № 2. – P. 137–148.
162. Pattison D. I. Actions of ultraviolet light on cellular structures / D. I. Pattison, M. J. Davies // *Cancer: Cell Structures, Carcinogens and Genomic Instability*; ed. L. P. Bignold. – Basel: Birkhäuser, 2006. – P. 131–157.
163. Penezić A. Distribution of marine lipid classes in salty Rogoznica lake (Croatia) / A. Penezić, B. Gašparović, Z. Burić, S. Frka // *Estuar. Coast. Shelf. Sci.* – 2010. – V. 86, № 4. – P. 625–636.
164. Ploug H. Cyanobacterial surface blooms formed by *Aphanizomenon* sp. and *Nodularia spumigena* in the Baltic sea: small-scale fluxes, pH, and oxygen microenvironments / H. Ploug // *Limnol. Oceanogr.* – 2008. – V. 53, № 3. – P. 914–921.
165. Poindexter J. S. Dimorphic Prosthecate Bacteria: The Genera *Caulobacter*, *Asticcacaulis*, *Hyphomicrobium*, *Pedomicrobium*, *Hyphomonas* and *Thiodendron* / J. S. Poindexter // *Prokaryotes*; eds. M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, E. Stackebrandt. – N.Y.: Springer, 2006. – V. 5. – P. 72–90.
166. Reinthaler T. Dissolved organic matter and bacterial production and respiration in the sea–surface microlayer of the open Atlantic and the western Mediterranean

- Sea / T. Reinthaler, E. Sintes, G. J. Herndl // *Limnol. Oceanogr.* – 2008. – V. 53, № 1. – P. 122–136.
167. Romano J. C. Sea-surface slick occurrence in the open sea (Mediterranean, Red sea, Indian ocean) in relation to wind speed / J. C. Romano // *DeepSeaRes.Part I Oceanogr. Res. Pap.*– 1996. – V. 43, № 4. – P. 411–423.
168. Sabine C. L. The oceanic sink for anthropogenic CO₂ / C. L. Sabine, R. A. Feely, N. Gruber, R. M. Key, K. Lee, J. L. Bullister, R. Wanninkhof, C. S. Wong, D. W. R. Wallace, B. Tilbrook, F. J. Millero, T.-H. Peng, A. Kozyr, T. Ono, A. F. Rios // *Science.* – 2004. – V. 305, № 5682. – P. 367–371.
169. Saliot A. Characterization of particulate organic matter in Mediterranean sea-surface films and underlying water by flash pyrolysis and gas chromatographic analyses / A. Saliot, J. C. Marty, P. Scribe, M. A. Sicre, T. C. Viets, J. W. de Leeuw, P. A. Schenck, J. J. Boon // *Org. Geochem.*– 1991. – V. 17, № 3. – P. 329–340.
170. Salter M. E. Impact of an artificial surfactant release on air–sea gas exchange during Deep Ocean Gas Exchange Experiment II / M. E. Salter, R. C. Upstill-Goddard, P. D. Nightingale, S. D. Archer, B. Blomquist, T. Ho, B. Huebert, P. Schlosser, M. Yang // *J. Geophys. Res. Oceans.*– 2011. – V. 116, № 11. – P. 1–9.
171. Santos A. L. Short-term variability of abundance, diversity and activity of estuarine bacterioneuston and bacterioplankton / A. L. Santos, C. Mendes, N. C. M. Gomes, I. Henriques, A. Correia, A. Almeida, A. Cunha // *J. Plankton Res.* – 2009. – V. 31, № 12. – P. 1545–1555.
172. Santos A. L. Diversity in UV sensitivity and recovery potential among bacterioneuston and bacterioplankton isolates / A. L. Santos, S. Lopes, I. Baptista, I. Henriques, N. C. M. Gomes, A. Almeida, A. Correia, A. Cunha // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2011a. – V. 52, № 4. – P. 360–366.
173. Santos L. Relation between bacterial activity in the surface microlayer and estuarine hydrodynamics / L. Santos, A. L. Santos, F. J. R. C. Coelho, N. C. M.

- Gomes, J. M. Dias, A. Cunha, A. Almeida // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2011b. – V. 77, № 3. – P. 636–646.
174. Santos A. L. Effects of UV-B Radiation on the Structural and Physiological Diversity of Bacterioneuston and Bacterioplankton / A. L. Santos, V. Oliveira, I. Baptista, I. Henriques, N. C. M. Gomes, A. Almeida, A. Correia, A. Cunha // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2012a. – V. 78, № 6. – P. 2066–2069.
175. Santos A. L. The UV responses of bacterioneuston and bacterioplankton isolates depend on the physiological condition and involve a metabolic shift / A. L. Santos, I. Baptista, S. Lopes, I. Henriques, N. C. M. Gomes, A. Almeida, A. Correia, A. Cunha // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2012b. – V. 80, № 3. – P. 646–658.
176. Santos A. L. Wavelength dependence of biological damage induced by UV radiation on bacteria / A. L. Santos, V. Oliveira, I. Baptista, I. Henriques, N. C. M. Gomes, A. Almeida, A. Correia, A. Cunha // *Arch. Microbiol.* – 2013. – V. 195, № 1. – P. 63–74.
177. Santos A. L. Contribution of chemical water properties to the differential responses of bacterioneuston and bacterioplankton to ultraviolet-B radiation / A. L. Santos, I. Baptista, N. C. M. Gomes, I. Henriques, A. Almeida, A. Correia, A. Cunha // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2014. – V. 87, № 2. – P. 517–535.
178. Sarmiento H. Microbial food web components, bulk metabolism, and single-cell physiology of piconeuston in surface microlayers of high-altitude lakes / H. Sarmiento, E. O. Casamayor, J.-C. Auguet, M. Vila-Costa, M. Felip, L. Camarero, J. M. Gasol // *Front. Microbiol.* – 2015. – V. 6, Article 361. – P. 1–12.
179. Schloss P. D. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities / P. D. Schloss, S. L. Westcott, T. Ryabin, J. R. Hall, M. Hartmann, E. B. Hollister, R. A. Lesniewski, B. B. Oakley, D. H. Parks, C. J. Robinson, J.

- W. Sahl, B. Stres, G. G. Thallinger, D. J. Van Horn, C. F. Weber // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2009. – V. 75, № 23. – P. 7537–7541.
180. Shimaraev M. N. Deep ventilation of Lake Baikal waters due to spring thermal bars / M. N. Shimaraev, N. G. Granin, A. A. Zhdanov // *Limnol. Oceanogr.* – 1993. – V. 38, № 5. – P. 1068–1072.
181. Shimaraev M. N. Physical limnology of Lake Baikal: a review / M. N. Shimaraev, V. I. Verbolov, N. G. Granin, P. P. Sherstyankin; eds. M. N. Shimaraev, S. Okuda. – Irkutsk-Okayama: Baikal Intl. Cent. Ecol. Res., 1994. – 81 p.
182. Sieburth J. M. Slicks associated with trichodesmium blooms in the Sargasso sea / J. M. Sieburth, J. T. Conover // *Nature.* – 1965. – V. 205, № 4973. – P. 830–831.
183. Sieburth J. M. Microbiological and organic-chemical processes in the surface and mixed layers / J. M. Sieburth // *Air–Sea Exchange of Gases and Particles*; eds. P. S. Liss, W. G. N. Slinn. – Hingham: Reidel Publishers, 1983. – P. 121–172.
184. Simek K. Broad habitat range of the phylogenetically narrow R-BT065 cluster, representing a core group of the betaproteobacterial genus *Limnohabitans* / K. Simek, V. Kasalicky, J. Jezbera, J. Jezberova, J. Hejzlar, M. W. Hahn // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2010. – V. 76, № 3. – P. 631–639.
185. Simon M. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems / M. Simon, H.-P. Grossart, B. Schweitzer, H. Ploug // *Aquat. Microb. Ecol.* – 2002. – V. 28, № 2. – P. 175–211.
186. Singer C. E. Sunlight ultraviolet and bacterial DNA base ratios / C. E. Singer, B. N. Ames // *Science.* – 1970. – V. 170, № 3960. – P. 822–826.
187. Smith M. B. Natural bacterial communities serve as quantitative geochemical biosensors / M. B. Smith, A. M. Rocha, C. S. Smillie, S. W. Olesen, C. Paradis, L. Wu, J. H. Campbell, J. L. Fortney, T. L. Mehlhorn, K. A. Lowe, J. E. Earles, J. Phillips, S. M. Techtmann, D. C. Joyner, D. A. Elias, K. L. Bailey, R. A. Hurt, Jr., S. P. Preheim, M. C. Sanders, J. Yang, M. A. Mueller, S. Brooks, D. B. Watson,

- P.Zhang, Z.He, E. A. Dubinsky, P. D.Adams, A. P.Arkin, M. W.Fields, J.Zhou, E. J.Alm, T. C.Hazen // *MBio.* – 2015. – V. 6, № 3. – P. e00326-15.
188. Sorokovikova L. M. Plankton composition and water chemistry in the mixing zone of the Selenga River with Lake Baikal / L. M. Sorokovikova, G. I. Popovskaya, O. I. Belykh, I. V. Tomberg, S. Yu. Maksimenko, N. V. Bashenkhaeva, V. G. Ivanov, T. I. Zenskaya // *Hydrobiologia.* – 2012. – V. 695, № 1. – P. 329–341.
189. Stackebrandt E. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards / E. Stackebrandt, J. Ebers // *Microbiology today.* – 2006. – V. 33, № 4. – P. 152–155.
190. Stolle C. Bacterial activity in the sea-surface microlayer: in situ investigations in the Baltic Sea and the influence of sampling devices / C. Stolle, K. Nagel, M. Labrenz, K. Jürgens // *Aquat. Microb. Ecol.* – 2009. – V. 58, № 1. – P. 67–78.
191. Stolle C. Succession of the sea-surface microlayer in the coastal Baltic seabunder natural and experimentally induced low-wind conditions / C. Stolle, K. Nagel, M. Labrenz, K. Jurgens // *Biogeosciences.* – 2010. – V. 7, № 9. – P. 2975–2988.
192. Stolle C. Bacterioneuston community structure in the southern Baltic Sea and its dependence on meteorological conditions / C. Stolle, M. Labrenz, C. Meeske, K. Jurgens // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2011. – V. 77, № 11. – P. 3726–3733.
193. Stubbins A. Aspects of aquatic CO photoproduction from CDOM: diss. – Newcastle-upon-Tyne: University of Newcastle-upon-Tyne, 2001.
194. The sea surface and global change; eds. P. S. Liss, R. A. Duce. – N.Y.:Cambridge University Press, 2005. –519 p.
195. Tsai W.-T. Impact of a surfactant on a turbulent shear layer under the air–sea interface / W.-T. Tsai // *J. Geophys. Res. Oceans.* – 1996. – V. 101, № 12. – P. 28557–28568.
196. Tsai W.-T. A numerical study of the evolution and structure of a turbulent shear layer under a free surface / W.-T. Tsai // *J. Fluid. Mech.* – 1998. – V. 354. – P. 239–276.

197. Tsyban A. V. Marine bacterioneuston / A. V. Tsyban // J. Oceanogr. Soc. Japan. – 1971. – V. 27, № 2. – P. 56–66.
198. Upstill-Goddard R. C. Methane in the southern North Sea: low-salinity inputs, estuarine removal, and atmospheric flux / R. C. Upstill-Goddard, J. Barnes, T. Frost, S. Punshon, N. J. P. Owens // Global Biogeochem. Cycles. – 2000. – V. 14, №. 4. – P. 1205–1217.
199. Upstill-Goddard R. C. Bacterioneuston control of air–water methane exchange determined with a laboratory gas exchange tank / R. C. Upstill-Goddard, T. Frost, G. R. Henry, M. Franklin, J. C. Murrell, N. J. P. Owens // Global Biogeochem. Cycles. – 2003. – V. 17, №. 4. – P. 19.1–19.15.
200. Upstill-Goddard R. C. Air–sea gas exchange in the coastal zone / R. C. Upstill-Goddard // Estuar. Coast. ShelfSci.– 2006. – V. 70, №. 3. – P. 388–404.
201. Van Vleet E. S. Sampling sea surface films: a laboratory evaluation of techniques and collecting materials / E. S. Van Vleet, P. M. Williams // Limnol. Oceanogr. – 1980. – V. 25, № 4. – P. 764–770.
202. Van Vleet E. S. Surface potential and film pressure measurements in seawater systems / E. S. Van Vleet, P. M. Williams // Limnol. Oceanogr. – 1983. – V. 28, № 3. – P. 401–414.
203. Vila-Costa M. Bacterial and archaeal community structure in the surface microlayer of high mountain lakes examined under two atmospheric aerosol loading scenarios / M. Vila-Costa, A. Barberan, J.-C. Auguet, S. Sharma, M. A. Moran, E. O. Casamayor // FEMS Microbiol. Ecol. – 2013. – V. 84, № 2. – P. 387–397.
204. Wagner M. The *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae* and sister phyla comprise a superphylum with biotechnological and medical relevance / M. Wagner, M. Horn // Curr. Opin. Biotechnol.– 2006. – V. 17, № 3. – P. 241–249.
205. Williams P. M. Chemical and microbiological studies of seasurface films in the southern gulf of California and off the west coast of Baja California / P. M.

- Williams, A. F. Carlucci, S. M. Henrichs, E. S. Van Vleet, S. G. Horrigan, F. M. H. Reid, K. J. Robertson // *Mar. Chem.* – 1986. – V. 19, № 1. – P. 17–98.
206. Woolf D. K. Bubbles and their role in air–sea gas exchange / D. K. Woolf // *The sea surface and global change*; eds. P. S. Liss, R. A. Duce. – N.Y.: Cambridge University Press, 2005. – P. 173–205.
207. Wurl O. The gelatinous nature of the sea-surface microlayer / O. Wurl, M. Holmes // *Mar. Chem.* – 2008. – V. 110, № 1. – P. 89–97.
208. Wurl O. The distribution and fate of surface-active substances in the sea-surface microlayer and water column / O. Wurl, L. Miller, R. Röttgers, S. Vagle // *Mar. Chem.* – 2009. – V. 115, № 1. – P. 1–9.
209. Wurl O. Production and fate of transparent exopolymer particles in the ocean / O. Wurl, L. Miller, S. Vagle // *J. Geophys. Res. Oceans.* – 2011a. – V. 116, № 7. – P. 1–16.
210. Wurl O. Formation and global distribution of sea-surface microlayers / O. Wurl, E. Wurl, L. Miller, K. Johnson, S. Vagle // *Biogeosciences.* – 2011b. – V. 8, № 1. – P. 121–135.
211. Zakharova Yu. R. The structure of microbial community and degradation of diatoms in the deep near-bottom layer of Lake Baikal / Yu. R. Zakharova, Yu. P. Galachyants, M. I. Kurilkina, A. V. Likhoshvay, D. P. Petrova, S. M. Shishlyannikov, N. V. Ravin, A. V. Mardanov, A. B. Beletsky, Ye. V. Likhoshway // *PLoS ONE.* – 2013. – V. 8, № 4. – P. e59977.
212. Zhang Z. Physicochemical studies of the sea surface microlayer: I. Thickness of the sea surface microlayer and its experimental determination / Z. Zhang, L. Liu, Z. Wu, J. Li, H. Ding // *J. Colloid Interface Sci.* – 1998. – V. 204, № 2. – P. 294–299.
213. Zhang Z. Studies on the sea surface microlayer. II. The layer of sudden change of physical and chemical properties // Z. Zhang, L. Liu, C. Liu, W. Cai // *J. Colloid Interface Sci.* – 2003. – V. 264, № 1. – P. 148–159.

214. Zubkov M. V. Photoheterotrophy in marine prokaryotes / M. V. Zubkov // J. Plankton Res. – 2009. – V. 31, № 9. – P. 933–938.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ДАФИ – 4',6-Диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорид, англ. DAPI – 4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride
- ДГГЭ – денатурирующий градиентный гель-электрофорез
- ЖА желточный агар
- КА крахмальный агар
- ККП – коэффициент корреляции Пирсона
- МА молочный агар
- ОТЕ – операционная таксономическая единица
- ОЧБ – общая численность бактерий
- ПДФР – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, англ. RFLP – restriction fragment length polymorphism
- ПМС – поверхностный микрослой
- ПО – перманганатная окисляемость органического вещества
- ПС подповерхностный слой
- ПСВ – подповерхностный слой воды
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ТМУВ – тест Манна-Уитни-Вилкоксона
- ХПК – бихроматная окисляемость органического вещества
- ЧКГБ – численность культивируемых гетеротрофных бактерий
- ЧКОБ – численность культивируемых олиготрофных бактерий
- ЧКПБ – численность культивируемых психрофильных бактерий
- CARD FISH – Catalyzed reporter deposition – fluorescence *in situ* hybridization
- MICROCARD-FISH – Catalyzed reporter deposition – fluorescence *in situ* hybridization and microautoradiography
- SSCP – single strand conformation polymorphism, рус. конформационный полиморфизм одноцепочечной ДНК

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Сравнение методик пробоотбора

	Культивирование	Молекулярные методы	Микроскопия	Проточная цитометрия	Ссылки
Сетчатый экран (металл, полиэстер, полиэтилен или нейлон) Garrett, 1965; Sieburth, Conover, 1965	<ol style="list-style-type: none"> 1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря; 2. Эвтрофное озеро Джезиорак Малый; 3. Шхеры на юго-западном побережье Финляндии; 4. Пресноводный пруд в Висконсине (США); 5. Эстуарное озеро Гардно (Польша) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (DGGE, SSCP, RFLP); 2. Высокогорные озера в Пиренеях (метагеномный анализ ампликонов, клонирование); 3. Северное море, в 20 км к югу от Бергена (RFLP, DGGE, quantitative real-time PCR (Q-PCR)); 4. Эстуарий реки Тайн (Северное море) (DGGE); 5. Шхеры на юго-западном побережье Финляндии (T-RFLP); 6. Южная часть Тихого океана, трансекта от Маркизовых островов до Чили 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SYBR-Green I, DAPI); 2. Побережье Атлантического океана возле Нью-Йорка (FISH, DAPI); 3. Высокогорные озера в Пиренеях (CARD-FISH, DAPI); 4. Эвтрофное озеро Джезиорак Малый (orange acridine); 5. Высокогорные озера в центральных Альпах (CARD-FISH, DAPI); 6. Атлантический океан, трансекта от побережья Массачусетса до открытых вод Саргассова моря (DAPI); 7. Пресноводный пруд в Висконсине 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SYBR-Green I); 2. Северное море, в 20 км к югу от Бергена; 3. Шхеры на юго-западном побережье Финляндии (SYBR-Green); 4. Южная часть Тихого океана, трансекта от Маркизовых островов до Чили (SYBR-Green); 5. Южная и центральная части Балтийского моря (SYBR Green); 6. Высокогорные озера в Пиренеях 	<p>Maki, Remsen, 1989; Donderski et al., 1999; Mudryk, Skorczewski, 2000; Kuznetsova, Lee, 2001; Agogue et al., 2004; Kuznetsova et al., 2004; Agogue et al., 2005a, 2005b; Aller et al., 2005; Obernosterer et al., 2005, 2008; Joux et al., 2006; Auguet, Casamayor, 2008; Cunliffe et al., 2009a, 2009b, 2009в; Hervas, Casamayor, 2009; Stolle et al., 2009; Hörtnagl et al., 2010a, 2010b; Lindroos et al., 2011; Vila-Costa et al., 2013; Barberan et al., 2014; Sarmiento et al., 2015</p>

		(Capillary electrophoresis CE-SSCP); 7. Южная и центральная части Балтийского моря (SSCP, TRFLP)	(США) (acridine orange); 8. Южная часть Тихого океана, трансекта от Маркизовых островов до Чили (CARD-FISH); 9. Южная и центральная части Балтийского моря (MICROCARD-FISH)		
Тарелка (стекло, плексиглас или акрил) Harvey, Burzell, 1972	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря; 2. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро; 3. Северная часть Тихого океана, около острова Ванкувер; 4. Эвтрофное озеро Джезиорак Малый; 5. Пресноводный пруд в Висконсине (США); 6. Эстуарное озеро Гардно (Польша)	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (DGGE, SSCP, RFLP); 2. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро (DGGE); 3. Эстуарий реки Тайн (Северное море) (DGGE); 4. Южная и центральная части Балтийского моря (SSCP, TRFLP)	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SYBR-Green I); 2. Эвтрофное озеро Джезиорак Малый (orange acridine); 3. Тихий океан, залив Секвиум (штат Вашингтон, США) (Эпифлюоресцентная микроскопия микроводорослей); 4. Пресноводный пруд в Висконсине (США) (acridine orange); 5. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SYBR-Green I); 2. Субтропическая часть Атлантического океана и западная часть Средиземного моря; 3. Южная и центральная части Балтийского моря (SYBR Green)	Hardy, Apts, 1984; Maki, Remsen, 1989; Donderski, 1999; Mudryk, Skorczewski, 2000; Agogue et al., 2004; Agogue et al., 2005a, 2005b; Reinthal et al., 2008; Cunliffe et al., 2009b; Santos et al., 2009, 2011a, 2011b, 2012a, 2012b, 2014; Stolle et al., 2009, 2011; Coelho, 2011; Azevedo et al., 2012

			(FISH, Epifluorescence microscopy acridine orange)		
Поликарбонатные мембранные фильтры Crow et al., 1975	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря; 2. Эстуарий в Северной Каролине (Атлантический океан)	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (DGGE, SSCP, RFLP); 2. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро (DGGE); 3. Эстуарий реки Блис (Северное море) (RFLP, DGGE, клонирование); 4. Эстуарий реки Тайн (Северное море) (DGGE); 5. Северное море, в 20 км к югу от Бергена (RFLP, DGGE); 6. Северное море у побережья Великобритании (клонирование, RFLP); 7. Шхеры на юго-западном побережье Финляндии (Т-	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SYBR-Green I); 2. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро (FISH, DAPI); 3. Тихий океан, залив Секвиум (штат Вашингтон, США) (Эпифлюоресцентная микроскопия с акридиновым оранжевым)	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SYBR-Green I); 2. Северное море, в 20 км к югу от Бергена	Fehon, Oliver, 1979; Hardy, Apts, 1984; Agogue et al., 2004; Franklin et al., 2005; Cunliffe et al., 2008, 2009a, 2009b; Lindroos et al., 2011

		RFLP)			
Гидрофобные мембранные фильтры (тефлон, PTFE) Kjelleberg et al., 1979	Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря; Озеро Мичиган	Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (DGGE, SSCP, RFLP)	Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SYBR-GreenI)	Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SYBR-GreenI)	Jones et al., 1991; Agogue et al., 2005a, 2005b; Cunliffe et al., 2009b
Вращающийся барабан Harvey, 1966	Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря	Южная и центральная части Балтийского моря (SSCP, TRFLP)	Атлантический океан, трансекта от побережья Массачусетса до открытых вод Саргассова моря (DAPI)	Южная и центральная части Балтийского моря (SYBRGreen)	Agogue et al., 2005a, 2005b; Kuznetsova et al., 2004; Stolle et al., 2009
Коллоидная полимерная мембрана Drudge, Warren, 2014		Озеро Онтарио, озеро Колдспринг (клонирование)	Озеро Онтарио, озеро Колдспринг (DAPI)		Drudge, Warren, 2014
Микробатометр Tsyban, 1971	Азовское, Черное море				Tsyban, 1971

Приложение 2. Разница в составе и численности микробных сообществ в ПМС и подповерхностном слое воды

Культивирование	Молекулярные методы	Эпифлюоресцентная микроскопия	Проточная цитометрия	Ссылки
Наличие разницы в составе микробных сообществ				
1. Эвтрофное озеро Джезиорак Малый; 2. Озеро Мичиган; 3. Азовское, Черное море	1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (ДГГЭ, SSCP); 2. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро (ДГГЭ);	1. Высокогорные озера в Пиренеях (CARD-FISH); 2. Высокогорные озера в центральных Альпах (CARD-FISH); 3. Атлантический океан,	Нд*	Tsyban, 1971; Jones et al., 1991; Donderski et al., 1999; Agogue et al., 2004; Franklin et al., 2005; Auguet, Casamayor, 2008; Cunliffe et al., 2008, 2009a,

	<ol style="list-style-type: none"> 3. Эстуарий реки Блис, Северное море (ДГГЭ, ПДФР); 4. Северное море, в 20 км к югу от Бергена (ПДФР, ДГГЭ); 5. Эстуарий реки Тайн, Северное море (ДГГЭ) (при отборе проб поликарбонатными фильтрами); 6. Северное море у побережья Великобритании (клонирование, ПДФР); 7. Высокогорные озера в Пиренеях (клонирование); 8. Шхеры на юго-западном побережье Финляндии (ПДФР); 9. Южная и центральная части Балтийского моря (SSCP) 	эстуарий Риа де Авейро (FISH)		2009б; Hervas, Casamayor, 2009; Hörtnagl et al., 2010a, 2010б; Lindroos et al., 2011; Stolle et al., 2011; Azevedo et al., 2012; Santos et al., 2014
Отсутствие разницы в составе микробных сообществ				
Нд	<ol style="list-style-type: none"> 1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря (SSCP); 2. Эстуарий реки Тайн, Северное море (ДГГЭ) (при отборе проб сетчатым экраном и стеклянной тарелкой); 	2. Южная часть Тихого океана, трансекта от Маркизовых островов до Чили (CARD FISH)	Нд*	Agogue et al., 2005a; Cunliffe et al., 2009б; Obernosterer et al., 2008; Santos et al., 2009; Stolle et al., 2009; Vila-Costa et al., 2013

	<ol style="list-style-type: none"> 3. Южная часть Тихого океана, трансекта от Маркизовых островов до Чили (SSCP); 4. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро (ДГГЭ); 5. Южная и центральная части Балтийского моря (SSCP, ПДФР); 6. Высокогорные озера в Пиренеях (метагеномный анализ ампликонов) 			
Наличие разницы в численности микроорганизмов				
<ol style="list-style-type: none"> 1. Северная часть Тихого океана, около острова Ванкувер; 2. Эстуарий в Северной Каролине, Атлантический океан; 3. Озеро Мичиган; 4. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря; 5. Шхеры на юго-западном побережье Финляндии; 6. Азовское, Черное море 	Нд**	<ol style="list-style-type: none"> 1. Побережье Атлантического океана возле Нью-Йорка (ДАФИ или SYBR Gold); 2. Высокогорные озера в Пиренеях (CARD-FISH); 3. Эвтрофное озеро Джезиорак Малый (акридиновый оранжевый); 4. Тихий океан, залив Секвиум ,штат Вашингтон, США (акридиновый оранжевый); 5. Высокогорные озера в центральных Альпах 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря; 2. Северное море, в 20 км к югу от Бергена; 3. Шхеры на юго-западном побережье Финляндии; 4. Западная часть Средиземного моря; 5. Высокогорные озера в Пиренеях – гетеротрофный пикопланктон 	<p>Tsyban, 1971; Dietz et al., 1976; Fehon, Oliver, 1979; Hardy, Apts, 1984; Jones et al., 1991; Donderski et al., 1999; Agogue et al., 2004; Kuznetsova et al., 2004; Aller et al., 2005; Obernosterer et al., 2005; Joux et al., 2006; Auguet, Casamayor, 2008; Reinthaler et al., 2008; Cunliffe et al., 2009в; Santos et al., 2009, 2014; Hörtnagl et al., 2010а; Lindroos et al., 2011; Sarmiento et al., 2015</p>

		(ДАФИ); 6. Атлантический океан, трансекта от побережья Массачусетса до открытых вод Сарагассова моря (ДАФИ) 7. Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря; 8. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро (акридиновый оранжевый); 9. Высокогорные озера в Пиренеях (CARD FISH)		
Отсутствие разницы в численности микроорганизмов				
Нд	Нд**	1. Высокогорные озера в центральных Альпах (ДАФИ); 2. Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро (акридиновый оранжевый); 3. Высокогорные озера в Пиренеях (CARD-FISH, ДАФИ)	1. Северное море, в 20 км к югу от Бергена; 2. Южная часть Тихого океана, трансекта от Маркизовых островов до Чили; 3. Субтропическая часть Атлантического океана; 4. Южная и центральная части Балтийского моря (SYBR Green); 5. Высокогорные озера в Пиренеях – фототрофный пикопланктон	Obernosterer et al., 2008; Reinthaler et al., 2008; Cunliffe et al., 2009a; Stolle et al., 2009; Hörtnagl et al., 2010б; Santos et al., 2011б; Vila-Costa et al., 2013; Sarmiento et al., 2015

Примечания: в скобках указан метод отбора проб, метод исследования или название флюоресцентного красителя; * – метод проточной цитометрии не применяли, поскольку с его помощью нельзя оценить состав микробного сообщества; ** – молекулярные методы не применяли, поскольку с их помощью нельзя оценить численность микроорганизмов.

Приложение 3. Доминирующие таксоны в ПМС

Место выделения	Метод идентификации		Ссылка
	Культивирование	Молекулярные методы**	
Морские экосистемы			
Азовское, Черное море	<i>Gammaproteobacteria</i>		Tsyban, 1971*
Эстуарий в Северной Каролине, Атлантический океан	<i>Gammaproteobacteria</i>		Fehon, Oliver, 1979*
Прибрежные районы на северо-западе Средиземного моря	<i>Gammaproteobacteria</i>		Agogue et al., 2005a
Северное море у побережья Великобритании		<i>Gammaproteobacteria</i> (клонирование)	Franklin et al., 2005
Эстуарий реки Блис, Северное море		<i>Gammaproteobacteria</i> (клонирование)	Cunliffe et al., 2008
Северное море, в 20 км к югу от Бергена		<i>Gammaproteobacteria</i> (ДГГЭ)	Cunliffe et al., 2009a
Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро	<i>Gammaproteobacteria</i>		Azevedo et al., 2012
Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро		<i>Bacteroidetes-Chlorobi, Firmicutes, Gammaproteobacteria</i> (ДГГЭ)	Santos et al., 2012a
Атлантический океан, эстуарий Риа де Авейро		<i>Gammaproteobacteria, Actinobacteria</i> (FISH)	Santos et al., 2014
Пресноводные экосистемы			
Эвтрофное озеро Джезиорак	<i>Gammaproteobacteria</i>		Donderski et

Малый			al., 1999*
Высокогорные озера в Пиренеях		<i>Betaproteobacteria, Actinobacteria</i> (клонирование)	Hervas, Casamayor, 2009
Высокогорные озера в центральных Альпах		<i>Betaproteobacteria, Actinobacteria</i> (FISH)	Hörtnagl et al., 2010a
Высокогорные озера в центральных Альпах		<i>Betaproteobacteria, Actinobacteria</i> (FISH)	Hörtnagl et al., 2010b
Высокогорные озера в Пиренеях		<i>Actinobacteria, Betaproteobacteria</i> (метагеномный анализ ампликонов)	Vila-Costa et al., 2013
Высокогорные озера в Пиренеях		<i>Betaproteobacteria</i> (метагеномный анализ ампликонов)	Barberan et al., 2014
Озеро Онтарио, США		<i>Betaproteobacteria</i> (клонирование)	Drudge, Warren, 2014
Озеро Колдспринг, США		<i>Bacteroidetes</i> (клонирование)	Drudge, Warren, 2014

Примечания: * – идентификация микроорганизмов выполнена по физиолого-биохимическим признакам; ** – в скобках указано название метода.

Приложение 4. Описание и краткая характеристика мест отбора проб на оз. Байкал

	Станция	Дата отбора пробы	Широта (N)	Долгота (E)	Глубина, м	Скорость ветра, м/с	Температура Поверхности воды, °С
1	12 км п. Култук	29.05.2013	51°40.631'	103°52.461'	1250	0	2.54
2	3 км п. Солзан	29.05.2013	51°31.818'	104°13.808'	486	0	2.14
3	ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	29.05.2013	51°38.808'	104°13.642'	1259	0	2.27
4	3 км п. Маритуй	29.05.2013	51°45.575'	104°13.170'	1337	0	2.51
5	ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой	30.05.2013	51°42.330'	105°00.597'	1421	2.5	2.51
6	3 км прот. Харауз (р. Селенга)	31.05.2013	52°17.485'	106°12.629'	16	0	3
7	3 км м. Тонкий	02.06.2013	52°44.582'	107°38.475'	517	1.3	2.3
8	ц. ст. р. Тья–м. Немнянка	05.06.2013	55°34.064'	109°35.660'	651	0	2.09
9	пр. Малое Море	07.06.2013	53°14.546'	107°15.242'	86	4.9	2.4
10	пр. Малое Море	07.06.2013	53°01.566'	106°54.293'	30	4	3.89
11	12 км п. Култук	06.08.2013	51°40.631'	103°52.461'	1250	нд	13.1
12	3 км п. Солзан	06.08.2013	51°31.818'	104°13.808'	486	нд	14.5
13	ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	06.08.2013	51°38.808'	104°13.642'	1259	нд	13.4
14	3 км п. Маритуй	06.08.2013	51°45.575'	104°13.170'	1337	нд	13.8
15	3 км п. Танхой	06.08.2013	51°35.510'	105°06.747'	нд	нд	14.2
16	ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой	06.08.2013	51°42.330'	105°00.597'	1421	нд	13.9
17	3 км прот. Харауз (р. Селенга)	07.08.2013	52°17.485'	106°12.629'	16	нд	16.6
18	1 км прот. Харауз (р. Селенга)	07.08.2013	нд	нд	нд	нд	нд
19	з. Лиственничный	12.08.2013	51°50.648'	104°49.652'	826	нд	15.1
20	ц. ст. р. Анга–р. Сухая	07.08.2013	52°39.914'	106°51.321'	1173	нд	13.2
21	3 км м. Тонкий	07.08.2013	52°44.582'	107°38.475'	489	нд	14.1
22	ц. ст. м. Ухан–м. Тонкий	07.08.2013	52°53.726'	107°31.915'	1565	нд	14.3

23	3 км м. Ухан	07.08.2013	53°02.973'	107°25.348'	нд	нд	14.2
24	б. Базарная (пр. Малое Море)	10.08.2013	53°01.356'	106°52.193'	нд	нд	17
25	з. Мухор (пр. Малое Море)	10.08.2013	53°02.102'	106°46.428'	нд	нд	18.2
26	пр. Малое Море	10.08.2013	53°14.546'	107°15.242'	90	нд	17.5
27	з. Баргузинский	09.08.2013	53°27.230'	108 44.294'	154	нд	16.9
28	б. Бабушка	11.08.2013	52°15.592'	105°42.453'	нд	нд	нд
29	з. Лиственничный	27.05.2014	51°50.648'	104°49.652'	826	4	3.5
30	12 км п. Култук	28.05.2014	51°40.756'	103°52.423'	1255	0	2.6
31	3 км п. Солзан	28.05.2014	51°31.695'	104°14.235'	338	0	2.4
32	ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	28.05.2014	51°38.707'	104°13.610'	1258	0	2.87
33	3 км п. Маритуй	28.05.2014	51°45.472'	104°13.315'	1339	0	2.8
34	ц. ст. р. Анга–р. Сухая	29.05.2014	52°39.914'	106°51.321'	1173	2.4	3.3
35	3 км м. Тонкий	30.05.2014	52°44.508'	107°38.327'	489	1.8	2.7
36	ц. ст. м. Ухан–м. Тонкий	30.05.2014	52°53.726'	107°31.915'	1565	1.7	2.8
37	пр. Малое Море	31.05.2014	53°14.630'	107°15.056'	90	2	3
38	3 км п. Давша	31.05.2014	54°22.657'	109°25.217'	94	1.2	2.5
39	3 км п. Байкальское	01.06.2014	55°21.005'	109°14.853'	637	1.7	3.1
40	ц. ст. п. Байкальское–м. Турали	02.06.2014	55°19.228'	109°28.933'	803	1.1	2.9
41	3 км м. Турали	02.06.2014	55°17.643'	109°42.805'	591	3	2.6
42	з. Баргузинский	02.06.2014	53°27.244'	108°44.556'	154	2.2	3
43	5 км р. Верхняя Ангара	01.06.2015	55°40.665'	109°49.607'	нд	0	3
44	3 км м. Тонкий	04.06.2015	52°44.527'	107°38.281'	нд	0	3.26
45	ц. ст. м. Ухан–м. Тонкий	04.06.2015	52°53.665'	107°31.776'	нд	1	3.18
46	напротив п. Бабушкин	29.05.2015	51°45.012'	105°50.141'	нд	нд	3.04
47	м. Биракан	04.06.2015	55°61.924'	109°87.717'	нд	нд	2.45
48	м. Шунте Правый	07.06.2015	53°27.148'	107°80.276'	нд	нд	3.16

49	напротив п. Хужир	07.06.2015	53°25.593'	107°24.837'	нд	нд	3.35
50	з. Баргузинский	02.08.2015	53°27.230'	108°44.294'	158	0	16.9
51	ц. ст. м. Заворотный–р. Сосновка	03.08.2015	54°14.595'	108°59.828'	831	2	13.3
52	ц. ст. м. Елохин–п. Давша	04.08.2015	54°27.143'	109°03.943'	857	2.1	15
53	ц. ст. п. Байкальское–м. Турали	04.08.2015	55°19.245'	109°28.920'	802	3.7	15.3
54	7 км г. Нижнеангарск	05.08.2015	55°43.174'	109°37.842'	467	нд	18.6
55	Ангаро-Кичерское мелководье	06.08.2015	55°43.607'	109°44.702'	нд	нд	нд
56	ц. ст. м. Ивановский–п. Мурино	10.08.2015	51°38.761'	104°25.827'	1293	0	15
57	12 км п. Култук	11.08.2015	51°40.415'	103°52.534'	1230	0	17.5
58	ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	26.05.2016	51°38.795'	104°13.626'	1251	0	3
59	3 км п. Маритуй	26.05.2016	51°45.501'	104°13.001'	1337	1.5	3.51
60	ц. ст. м. Красный Яр–прот. Харауз	29.05.2016	52°20.769'	106°03.911'	257	3	3.34
61	7 км м. Ижимей	31.05.2016	53°11.867'	107°48.438'	1624	1.7	3.14
62	ц. ст. м. Елохин–п. Давша	01.06.2016	54°26.991'	109°04.016'	853	1.8	2.82
63	ц. ст. м. Котельниковский–р. Амнундакан	02.06.2016	55°02.738'	109°26.028'	765	1.5	2.28
64	3 км м. Турали	02.06.2016	55°17.647'	109°42.673'	577	1.5	2.27
65	ц. ст. п. Байкальское–м. Турали	02.06.2016	55°19.304'	109°28.805'	801	2.2	2.72
66	пр. Малое море	27.07.2016	53°26.124'	107°42.533'	268	нд	20.2
67	б. Ая	28.07.2016	55°27.211'	109°53.836'	22.6	нд	8.5
68	б. Фролиха	28.07.2016	55°32.937'	109°47.504'	495	нд	10.4
69	напротив б. Фролиха	29.07.2016	55°32.073'	109°43.929'	508	нд	12.7
70	з. Чивыркуйский	30.07.2016	53°59.652'	109°06.163'	827	нд	15.1
71	б. Песчаная	31.07.2016	52°11.708'	105°40.880'	167	нд	20

Примечание. нд – нет данных.

Приложение 5. Численность бактерий в поверхностном микрослое и подповерхностном слое воды оз. Байкал

	Станция	год	сезон	котловина	Удаленность от берега	Слой воды	ОЧБ	Численность микроорганизмов, КОЕ/мл		
								ЧГМ	ЧПМ	ЧОМ
1	з. Чивыркуйский	2013	весна	с	лит	Н (С)	нд	6	10	5
						П	нд	120	183	253
2	з. Лиственничный	2013	весна	ю	лит	Н (С)	нд	106	246	233
						П	нд	нд	нд	нд
3	ц. ст. р. Анга – р. Сухая	2013	весна	ср	пел	Н (С)	нд	62	68	73
						П	нд	нд	нд	нд
4	ц. ст. м. Ухан – м. Тонкий	2013	весна	ср	пел	Н (С)	нд	44	50	57
						П	нд	нд	нд	нд
5	3 км п. Танхой	2013	весна	ю	пел	Н (С)	нд	32	72	40
						П	нд	нд	нд	нд
6	12 км п. Култук	2013	весна	ю	пел	Н (С)	2.5	36	39	70
						Н (Ф)	нд	453	266	662
						П	1.1	14	4	17
7	3 км п. Солзан	2013	весна	ю	пел	Н (С)	2.6	16	32	32
						П	1.3	8	17	6
8	ц. ст. п. Маритуй – п. Солзан	2013	весна	ю	пел	Н (С)	2.5	51	41	40
						Н (Ф)	нд	331	309	511
						П	0.9	6	9	4
9	3 км п. Маритуй	2013	весна	ю	пел	Н (С)	1.7	5	51	70
						Н (Ф)	нд	490	295	511
						П	1.2	1	15	3

10	3 км м. Тонкий	2013	весна	ср	пел	Н (С)	0.8	101	72	78
						Н (Ф)	нд	18	36	21
						П	0.2	11	22	12
11	пр. Малое Море	2013	весна	ср	лит	Н (С)	0.5	19	39	17
						Н (Ф)	нд	7	5	0
						П	0.4	4	10	4
12	3 км прот. Харауз (р. Селенга)	2013	весна	ср	лит	Н (С)	1.3	23	56	40
						П	0.29	23	30	47
13	ц. ст. п. Листвянка – п. Танхой	2013	весна	ю	пел	Н (С)	0.7	56	67	50
						Н (Ф)	нд	35	0	14
						П	нд	нд	нд	нд
14	ц. ст. р. Тья – м. Немнянка	2013	весна	с	пел	Н (С)	0.87	628	512	903
						Н (Ф)	нд	400	381	337
						П	0.9	11	17	10
15	з. Мухор (пр. Малое Море)	2013	лето	ср	лит	Н (С)	нд	7320	7500	нд
						П	нд	1050	1013	нд
16	пр. Малое Море	2013	лето	ср	лит	Н (С)	нд	2730	2200	нд
						П	нд	700	911	нд
17	з. Баргузинский	2013	лето	ср	лит	Н (С)	1.4	5047	5100	нд
						П	1.3	1230	1400	нд
18	б. Бабушка	2013	лето	ср	лит	Н (С)	нд	4082	3890	нд
						П	нд	990	900	нд
19	12 км п. Култук	2013	лето	ю	пел	Н (С)	2.99	4000	3800	нд
						П	1.5	400	580	нд
20	3 км п. Солзан	2013	лето	ю	пел	Н (С)	1.3	2759	2500	нд
						П	1.3	230	320	нд

21	ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	2013	лето	ю	пел	Н (С)	2.25	3600	3200	нд
						П	2	800	700	нд
22	3 км п. Маритуй	2013	лето	ю	пел	Н (С)	1.6	4500	3800	нд
						П	1	1200	1000	нд
23	3 км п. Танхой	2013	лето	ю	пел	Н (С)	нд	7335	6750	нд
						П	нд	400	600	нд
24	ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой	2013	лето	ю	пел	Н (С)	нд	2060	2300	нд
						П	нд	350	390	нд
25	3 км прот. Харауз (р. Селенга)	2013	лето	ср	лит	Н (С)	нд	6000	6200	нд
						П	нд	580	520	нд
26	1 км прот. Харауз (р. Селенга)	2013	лето	ср	лит	Н (С)	нд	9400	8800	нд
						П	нд	670	701	нд
27	з. Лиственничный	2013	лето	ю	лит	Н (С)	3.48	27540	25000	нд
						П	1.8	1900	1360	нд
28	ц. ст. р. Анга–р. Сухая	2013	лето	ср	пел	Н (С)	1.57	2000	1760	нд
						П	0.8	700	670	нд
29	3 км м. Тонкий	2013	лето	ср	пел	Н (С)	2.1	8000	8200	нд
						П	1.2	900	880	нд
30	ц. ст. м. Ухан–м. Тонкий	2013	лето	ср	пел	Н (С)	3.5	17360	16400	нд
						П	1.7	2000	2100	нд
31	3 км м. Ухан	2013	лето	ср	пел	Н (С)	нд	9640	9800	нд
						П	нд	1500	1870	нд
32	б. Базарная (пр. Малое Море)	2013	лето	ср	лит	Н (С)	нд	11900	10700	нд
						П	нд	1350	2400	нд
33	з. Лиственничный	2014	весна	ю	лит	Н (С)	2.1	0	6	4
						П	1.5	53	3	45

34	ц. ст. р. Анга–р. Сухая	2014	весна	ср	пел	Н (С)	0.5	180	166	158
						П	0.55	19	25	42
35	ц. ст. м. Ухан–м. Тонкий	2014	весна	ср	пел	Н (С)	1.2	7	2	2
						П	1	161	15	203
36	3 км п. Давша	2014	весна	с	пел	Н (С)	0.9	5	56	13
						П	1	138	123	159
37	3 км п. Байкальское	2014	весна	с	пел	Н (С)	1.8	89	61	69
						П	1.3	119	246	115
38	3 км м. Турали	2014	весна	с	пел	Н (С)	0.56	63	91	38
						П	0.7	93	78	81
39	3 км п. Танхой	2014	весна	ю	пел	Н (С)	0.6	1386	1352	932
						П	0.8	287	339	244
40	ц. ст. п. Байкальское–м. Турали	2014	весна	с	пел	Н (С)	0.4	5	6	5
						П	0.4	65	89	67
41	з. Баргузинский	2014	весна	ср	лит	Н (С)	1.8	1576	нд	2320
						П	1.4	104	108	76
42	12 км п. Култук	2014	весна	ю	пел	Н (С)	1.04	13	7	14
						П	0.9	2	0	6
43	3 км п. Солзан	2014	весна	ю	пел	Н (С)	0.75	17	10	16
						П	0.6	8	1	1
44	ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	2014	весна	ю	пел	Н (С)	0.9	13	4	6
						П	1	1	0	0
45	3 км п. Маритуй	2014	весна	ю	пел	Н (С)	0.8	0	0	2
						П	0.75	71	30	81
46	3 км м. Тонкий	2014	весна	ср	пел	Н (С)	0.8	12	20	29
						П	0.6	398	2	383

47	пр. Малое Море	2014	весна	ср	лит	Н (С)	1.6	39	18	32
						П	0.8	241	300	530
48	ц. ст. п. Листвянка–п. Танхой	2014	весна	ю	пел	Н (С)	0.8	129	122	120
						П	0.9	281	280	267
49	ц. ст. м. Ухан–м. Тонкий	2015	весна	ср	пел	Н (С)	нд	3912	2544	1744
						П	нд	47	15	50
50	3 км м. Тонкий	2015	весна	ср	пел	Н (С)	нд	5128	5864	4132
						П	нд	165	125	139
51	напротив п. Бабушкин	2015	весна	ю	лит	Н (С)	1.3	392	2	365
						П	0.8	57	9	46
52	м. Биракан	2015	весна	с	лит	Н (С)	1	46	2	46
						П	1.1	1155	13	974
53	м. Шунте Правый	2015	весна	ср	лит	Н (С)	нд	нд	4	3
						П	нд	37	127	8
54	напротив п. Хужир	2015	весна	ср	лит	Н (С)	0.5	3	0	7
						П	0.6	15	18	16
55	5 км р. Верхняя Ангара	2015	весна	с	лит	Н (С)	нд	22	27	6
						П	нд	2	4	5
56	3 км м. Турали	2016	весна	с	пел	Н (С)	нд	4424	нд	нд
						П	нд	63	46	нд
57	ц. ст. п. Байкальское–м. Турали	2016	весна	с	пел	Н (С)	нд	3488	656	3544
						П	нд	78	67	94
58	ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	2016	весна	ю	пел	Н (С)	нд	16	14	7
						П	нд	1	0	0
59	3 км п. Маритуй	2016	весна	ю	пел	Н (С)	нд	84	68	166
						П	нд	3	1	1

60	ц. ст. прот. Харауз–м. Красный Яр	2016	весна	ср	пел	Н (С)	нд	3857	нд	нд
						П	нд	55	91	45
61	7 км м. Ижимей	2016	весна	ср	пел	Н (С)	нд	5105	5218	нд
						П	нд	7	3	нд
62	ц. ст. м. Елохин–п. Давша	2016	весна	с	пел	Н (С)	нд	3913	3857	нд
						П	нд	458	404	нд
63	ц. ст. м. Котельниковский–р. Амнундакан	2016	весна	с	пел	Н (С)	нд	5529	нд	нд
						П	нд	297	нд	нд
64	напротив п. Большие Коты	2015	лето	ю	лит	Н (С)	2.4	9000	7087	нд
						П	1.5	1842	160	нд
65	ц. ст. м. Заворотный–р. Сосновка	2015	лето	с	пел	Н (С)	1.2	400	280	нд
						П	0.9	440	454	нд
66	ц. ст. м. Елохин–п. Давша	2015	лето	с	пел	Н (С)	0.9	752	394	нд
						П	0.6	141	50	нд
67	Ангаро-Кичерское мелководье	2015	лето	с	лит	Н (С)	2.3	4309	4000	нд
						П	1.5	703	132	нд
68	3 км г. Нижнеангарск	2015	лето	с	пел	Н (С)	1.8	8000	нд	нд
						П	0.9	756	нд	нд
69	3 км м. Солнечный	2015	лето	с	пел	Н (С)	1.2	14628	10000	нд
						П	1	3402	115	нд
70	ц. ст. м. Ивановский–п. Мурино	2015	лето	ю	пел	Н (С)	2.3	14000	12000	нд
						П	1.7	2336	2551	нд
71	ц. ст. п. Байкальское–м. Турали	2015	лето	с	пел	Н (С)	1.7	10000	нд	нд
						П	1.1	2200	нд	нд
72	з. Баргузинский	2015	лето	ср	пел	Н (С)	нд	2176	2612	нд
						П	нд	654	нд	нд

73	12 км п. Култук	2015	лето	ю	пел	Н (С)	нд	13000	12000	нд
						П	нд	1632	1200	нд
74	пр. Малое море	2016	лето	ср	лит	Н (С)	нд	1855	2120	1900
						П	нд	145	0	164
75	б. Аяя	2016	лето	с	лит	Н (С)	нд	11600	12040	12560
						П	нд	105	88	37
76	б. Фролиха	2016	лето	с	лит	Н (С)	нд	25120	17720	20800
						П	нд	65200	53920	51030
77	напротив б. Фролиха	2016	лето	с	пел	Н (С)	нд	22800	9800	9880
						П	нд	505	521	557
78	з. Чивыркуйский	2016	лето	ср	лит	Н (С)	нд	32600	54640	43200
						П	нд	235	208	215
79	б. Песчаная	2016	лето	ю	лит	Н (С)	нд	105040	87600	105040
						П	нд	2016	1801	1752

Примечание. ю – южная, с – северная, ср – средняя котловина оз. Байкал; лит – литоральная станция; пел – пелагиальная станция; Н (С) – нейстон, отбор проб металлической сеткой; Н (Ф) – нейстон, отбор проб поликарбонатными фильтрами; П – подповерхностный слой воды; нд – нет данных.

Приложение 6. Химический анализ проб воды, отобранных летом (6.08 – 13.08) 2013 г.

Станция	Слой воды	рН	Электрическая проводимость, мкСм/см	Мутность (по каолину), мг/л	NO ₂ ⁻ , мг/л	NH ₄ ⁺ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	N мин, мг/л	PO ₄ ³⁻ мин, мг/л	P мин, мг/л	PO ₄ ³⁻ общ, мг/л	P общ, мг/л
ц. ст. п. Маригуй–п. Солзан	Н	8.22	123.8	6.23	0.009	0.04	0.03	0.038	0.027	0.009	0.057	0.019
	П	8.41	120.1	2.64	0.004	0.04	0.03	0.038	0.007	0.002	0.018	0.006

3 км п. Маритуй	Н	8.4	121.7	4.15	0.006	0.03	0.12	0.054	0.014	0.005	0.047	0.015
	П	8.57	119.6	3.40	0.005	0.04	0.06	0.045	0.014	0.004	0.029	0.01
12 км п. Култук	Н	8.34	122.7	10.00	0.007	0.02	0.08	0.036	0.026	0.009	0.044	0.014
	П	8.43	121.4	2.45	0.005	0.05	0.06	0.049	0.012	0.004	0.031	0.01
3 км п. Солзан	Н	8.63	121.7	2.45	0.007	0.05	0.06	0.050	0.023	0.007	0.038	0.012
	П	8.63	120	1.70	0.003	0.05	0.13	0.071	0.007	0.002	0.022	0.007
3 км п. Танхой	Н	8.35	118.2	10.38	0.005	0.06	0.03	0.056	0.010	0.003	0.025	0.008
	П	8.57	116.2	1.89	0.004	0.05	0.05	0.050	0.001	0.000	0.016	0.005
ц. ст. п. Листвянка- п. Танхой	Н	8.2	121.6	16.98	0.014	0.02	0.02	0.019	0.033	0.011	0.067	0.022
	П	8.31	119.9	3.77	0.009	0.02	0.07	0.034	0.008	0.003	0.037	0.012
3 км прот.Харауз (р. Селенга)	Н	8.18	120	19.25	0.011	0.04	0.09	0.051	0.028	0.009	0.095	0.031
	П	8.3	120	1.89	0.002	0.01	0.01	0.012	0.004	0.001	0.031	0.01
1 км прот. Харауз (р. Селенга)	Н	8.25	144.4	24.53	0.019	0.03	0.17	0.066	0.052	0.017	0.179	0.058
	П	8.24	137.1	11.70	0.009	0.02	0.21	0.062	0.043	0.014	0.073	0.024
з. Лиственничный	Н	7.96	121.7	27.36	0.015	0.03	0.07	0.046	0.020	0.006	0.029	0.01
	П	8.1	121.3	2.83	0.005	0.04	0.16	0.065	0.013	0.004	0.026	0.009

Примечание. Н – нейстон; П – подповерхностный слой воды; мин – минеральный; общ – общий.

Приложение 7. Химический анализ проб воды, отобранных весной (29.05 – 07.06) и летом (31.07 – 12.08) 2015 г.

Станция	сезон	Слой воды	Si, мг/л	NH ₄ ⁺ , мг/л	NO ₂ ⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	N мин, мг/л	PO ₄ ³⁻ мин, мг/л	P мин, мг/л	PO ₄ ³⁻ общ, мг/л	P общ, мг/л	P орг, мг/л	ПО, мгО/л	ХПК, мгО/л
напротив п. Бабушкин	весна	Н	0.33	0.02	0.001	0.01	0.018	0.02	0.006	0.086	0.028	0.022	14.5	2.9008
		П	0.36	0.008	0.001	0.01	0.009	0.006	0.002	0.05	0.016	0.014	7.7	0.8624
м. Биракан	весна	Н		0.019	0.002	0.02	0.019	0.022	0.007	0.069	0.022	0.015	16.45	1.8032
		П	0.72	0.008	0.005	0.32	0.079	0.016	0.005	0.054	0.018	0.012	1.4	0.6272
м. Шунте Правый	весна	Н	нд	нд	нд	0.04	0.008	0.019	0.006	0.06	0.02	0.013	302.5	2.9792
		П	0.12	0.008	0.001	0.01	0.008	0.011	0.004	0.048	0.016	0.012	460	3.6064
напротив п. Хужир	весна	Н	0.52	0.025	0.001	0.01	0.021	0.035	0.011	0.084	0.027	0.016	287.5	3.4496
		П	0.45	0.005	0.001	0.01	0.007	0.008	0.003	0.045	0.015	0.012	5.1	0.8624
ц. ст. з. Баргузинский	лето	Н	0.21	0.02	0.002	0.03	0.023	0.025	0.008	0.066	0.021	0.013	7	1.7248
		П	0.23	0.017	0.001	0.16	0.051	0.017	0.006	0.031	0.01	0.005	4.7	1.0976
ц. ст. м. Елохин–п. Давша	лето	Н	0.27	0.007	0.002	0.06	0.021	0.023	0.008	0.104	0.034	0.026	11.55	2.352
		П	0.27	0.014	0.002	0.03	0.018	0.017	0.006	0.035	0.011	0.006	4.3	0.6272
ц. ст. п. Байкальское–м. Турали	лето	Н	0.61	0.012	0.002	0.03	0.016	0.028	0.009	0.094	0.031	0.021	7.85	1.7248

		П	0.65	0.008	0.002	0.01	0.008	0.03 5	0.01 1	0.03 7	0.01 2	0	3.85	1.411 2
Ангаро-Кичерское мелководье	лето	Н	2.5	0.011	0.003	0.03	0.015	0.02 4	0.00 8	0.07 5	0.02 4	0.01 6	6.25	1.881 6
		П	2.46	0.013	0.002	0.01	0.013	0.01 4	0.00 4	0.04 4	0.01 4	0.01	4.3	1.254 4
3 км г. Нижнеангарск	лето	Н	0.94	0.006	0.002	0.02	0.01	0.01 8	0.00 6	0.08 2	0.02 7	0.02 1	8.6	2.116 8
		П	0.96	0.008	0	0.02	0.01	0.01 5	0.00 5	0.04 4	0.01 4	0.00 9	3.95	1.097 6
3 км м. Солнечный	лето	Н	0.26	0.011	0.006	0.05	0.02	0.00 7	0.00 2	0.04 5	0.01 5	0.01 2	3.2	1.097 6
		П	0.23	0.007	0.006	0.04	0.016	0.01 1	0.00 4	0.01 5	0.00 5	0.00 1	2.65	0.705 6
100 м п. Большие Коты	лето	Н	0.28	0.016	0.001	0.01	0.016	0.01 2	0.00 4	0.05 4	0.01 8	0.01 4	5.55	1.254 4
		П	0.28	0.008	0.001	0.02	0.01	0.01 4	0.00 4	0.02 9	0.01	0.00 5	2.4	0.784
ц. ст. м. Ивановский–п. Мурино	лето	Н	0.25	0.011	0.001	0.03	0.015	0.03 2	0.01	0.09 2	0.03	0.02	23.2	3.841 6
		П	0.28	0.012	0.001	0.03	0.016	0.01 4	0.00 5	0.02 2	0.00 7	0.00 3	3.1	0.862 4
12 км п. Култук	лето	Н	0.3	0.014	0.002	0.03	0.018	0.00 7	0.00 2	0.04 8	0.01 6	0.01 3	10.9	1.724 8
		П	0.3	0.008	0	0.03	0.012	0.00 9	0.00 3	0.02 5	0.00 8	0.00 5	3.5	0.784

Примечание. Н – нейстон; П – подповерхностный слой воды; мин – минеральный; общ – общий; орг – органический; ПО – перманганатная окисляемость органического вещества; ХПК – бихроматная окисляемость органического вещества; нд – нет данных.

Приложение 8. Химический анализ проб воды, отобранных весной (25.05 – 06.06) 2016

Станция	Слой воды	pH	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ мин, мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л
ц. ст. п. Маритуй–п. Солзан	Н	8.01	0.38	0.033	0.38
	П	8.01	0.39	0.027	0.37
3 км п. Маритуй	Н	7.98	0.45	0.035	0.43
	П	7.95	0.45	0.026	0.41
ц. ст. прот. Харауз–м. Красный Яр	Н	7.72	0.37	0.020	0.40
	П	7.81	0.37	0.020	0.39
7 км м. Ижимей	Н	7.79	0.17	0.024	0.37
	П	7.75	0.17	0.017	0.35
ц. ст. м. Елохин–п. Давша	Н	7.73	0.65	0.023	0.41
	П	7.79	0.64	0.019	0.41
ц. ст. м. Котельниковский–р. Амнундакан	Н	7.76	0.78	0.017	0.34
	П	7.86	0.77	0.012	0.34
3 км м. Турали	Н	7.83	0.55	0.013	0.30
	П	8.09	0.51	0.009	0.27
ц. ст. п. Байкальское–м. Турали	Н	7.57	0.78	0.010	0.38
	П	7.73	0.77	0.015	0.37

Примечание. Н – нейстон; П – подповерхностный слой воды; мин – минеральный.

Приложение 9. Представленность фотогетеротрофных бактерий в различных точках оз. Байкал, май-июнь 2013 г.

Номер ОТЕ	Класс (база данных с валидированной таксономией бактерий)	Наличие гена, кодирующего пигмент	Доля (%) в бактерионейстонных сообществах		
			1	2	3
3	<i>Alphaproteobacteria</i> (SILVA, RDP)	Ген родопсина	8.0	12.9	11.4
5	<i>Actinobacteria</i> (SILVA)	Ген родопсина	3.9	6.9	6.4
9	<i>Actinobacteria</i> (SILVA)	Ген родопсина	3.0	5.1	3.6
11	<i>Cytophagia</i> (SILVA, RDP)	Ген родопсина	0.6	2.4	2.2
13	<i>Sphingobacteriia</i> (SILVA, RDP)	Ген родопсина	1.6	1.1	1.8
20	<i>Actinobacteria</i> (SILVA, RDP)	Ген родопсина	0.3	0.7	0.4
33	<i>Betaproteobacteria</i> (SILVA, RDP)	Ген родопсина	0.1	0.2	0.3
34	<i>Actinobacteria</i> (SILVA, RDP)	Ген родопсина	0	0.1	0.5
39	<i>Actinobacteria</i> (SILVA, RDP)	Ген родопсина	0.1	0.3	0.2
63	<i>Betaproteobacteria</i> (SILVA, RDP)	RuBisCO	0	0	0.3
всего			17.6	29.7	27.1

Примечание. 1 – 12 км от п. Култук, 2 – 3 км прот. Харауз (р. Селенга), 3 – ц. ст. разреза п. Листвянка–п. Танхой.

Приложение 10. Представленность фотогетеротрофных бактерий в различных точках оз. Байкал, август 2013 г.

Номер ОТЕ	Класс (база данных с валидированной таксономией бактерий)	Наличие гена, кодирующего пигмент	Доля (%) в бактерионейстонных сообществах						
			1	2	3	4	5	6	7

1	<i>Actinobacteria</i> (SILVA)	Ген родопсина	17.8	16.1	14.6	19.5	11.3	10	5.9
3	<i>Actinobacteria</i> (SILVA)	Ген родопсина	6.3	7.5	4.7	5.9	8.6	4.9	5.6
9	<i>Alphaproteobacteria</i> (<i>SAR11</i>) (SILVA)	Генродопсина	3.3	4.3	3.1	2.3	7.2	3.7	3
12	<i>Actinobacteria</i> (SILVA, RDP)	Ген родопсина	5.3	3.8	2.6	4.3	2	2.3	1.2
13	<i>Actinobacteria</i> (SILVA)	Ген родопсина	3.5	4.2	2.5	2.3	1.5	1.6	1.2
17	<i>Sphingobacteriia</i> (SILVA)	Ген родопсина	0	0.2	0.02	0	4.3	1.8	6.5
18	<i>Alphaproteobacteria</i> (SILVA)	RuBisCO	0.6	2.8	2.7	4.7	1.3	1.1	0.3
20	<i>Sphingobacteriia</i> (SILVA)	Ген родопсина	5	0.9	1.2	2.5	0.5	1	1.2
21	<i>Betaproteobacteria</i> (SILVA)	RuBisCO	2.2	2	1	1.3	1.2	1.2	1.2
22	<i>Cytophagia</i> (SILVA)	Ген родопсина	1.8	0.8	1.7	2.6	0.7	2.3	0.5
29	<i>Actinobacteria</i> (SILVA)	Ген родопсина	1.4	0.05	0.8	1	0.3	0.3	0.3
31	<i>Betaproteobacteria</i> (SILVA)	Ген родопсина	0.03	0.5	0.5	0.5	1.2	0.1	0.4
112	<i>Actinobacteria</i> (SILVA)	Ген родопсина	0	0.1	0.02	0.1	0	0	0
113	<i>Sphingobacteriia</i> (SILVA)	Ген родопсина	0.08	0.1	0.02	0	0.03	0	0.03
всего			47.31	43.35	35.46	47	40.13	30.3	27.33

Примечание. 1 – 12 км от п. Култук, 2 – 3 км от прот. Харауз (р. Селенга), 3 – ц. ст. разреза п. Листвянка–п. Танхой, 4 – ц. ст. разреза п. Маритуй – п. Солзан, 5 – ц. ст. разреза р. Анга–р. Сухая, 6 – б. Базарная, 7 – ц. ст. пр. Малое Море.

Приложение 11. Краткая характеристика операционных таксономических единиц, идентифицированных в составе бактерионейстонных сообществ оз. Байкал (Май-июнь 2013 г.)

Номер ОТЕ	Репрезентативная последовательность (Ac. No)	Фила, класс, род (база данных с валидированной таксономией бактерий)	Сходство с ближайшим гомологом, %	Источник выделения бактерии
1	Uncultured bacterium clone Espejo_9_20_11_Water.265898 (KM169274)	<i>Actinobacteria, Actinobacteria</i> (RDP)	100	оз. Эспежо (Аргентина), планктон (Elseretal., 2015)
2	<i>Flavobacteriumlimicola</i> B33CS2014 (KP762220)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia</i> (RDP)	100	Балластная вода (Starliperetal., 2015)
3	Alpha proteobacterium SCGC AAA280-B11 (HQ663615)	<i>Proteobacteria, Alphaproteobacteria</i> (SILVA,RDP)	100	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
4	Uncultured bacterium clone JS46 (JF922950)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (RDP, SILVA)	100	Речная вода (Китай)
5	Actinobacterium SCGC AAA043-P11 (HQ663418)	<i>Actinobacteria, Actinobacteria</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
6	Uncultured Opitutae bacterium clone Q043 (JN634240)	<i>Verrucomicrobia, Opitutae</i> (SILVA)	100	Резервуардляпитьевойводы
7	<i>Limnohabitans</i> sp. 2KL-15 (HE600664)	<i>Proteobacteria, Betaproteobacteria, Limnohabitans</i> (RDP)	100	Резервуар для питьевой воды (Kazalickyetal., 2013)
8	Bacteroidetes bacterium SCGC AAA027-D14 (HQ663127)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Fluvicola</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Мендота (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
9	Actinobacterium SCGC AAA043-E13 (HQ663389)	<i>Actinobacteria, Actinobacteria</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
10	<i>Flavobacterium</i> sp. KJ005 (JF894317)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia,</i>	100	нд

		<i>Flavobacterium</i> (SILVA, RDP)		
11	Bacteroidetes bacterium SCGC AAA043-A05 (HQ663376)	<i>Bacteroidetes, Cytophagia</i> (SILVA, RDP)	100	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
12	Uncultured bacterium clone Espejo_1_17_12_Water.264305 (KM185639)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Эспежо (Аргентина), планктон (Elseretal., 2015)
13	Bacteroidetes bacterium SCGC AAA027-P03 (HQ663213)	<i>Bacteroidetes, Sphingobacteriia</i> (SILVA, RDP)	99	эпилимниоз. Мендота (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
14	Flavobacterium sp. W2 (KF499997)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (SILVA, RDP)	100	Пресная вода
15	Flavobacterium sp. DC32 (LN899781)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (SILVA)	100	Пресная вода
16	Actinobacterium SCGC AAA043-M10 (HQ663409)	<i>Actinobacteria</i> (SILVA, RDP)	100	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
17	Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone EE5-002_H10 (LM652224)	<i>Actinobacteria, Acidimicrobiia</i> (SILVA)	100	Поверхностные воды Балтийского моря, зима
18	Uncultured bacterium clone 5III.6 (JX948737)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (SILVA, RDP)	100	Донные осадки озера в Антарктиде (Tangetal., 2013)
19	Uncultured bacterium clone DP10.4.47 (FJ612418)	<i>Proteobacteria</i> (SILVA)	99	Озеро Донгпинг, планктон(Китай)
20	Actinobacterium SCGC AAA043-L13 (HQ663405)	<i>Actinobacteria</i> (SILVA, RDP)	99	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
22	Uncultured bacterium clone 6618c5 (HM599663)	<i>Actinobacteria</i> (SILVA)	100	Водопроводная вода
23	Uncultured bacterium, clone rS25m_82 (AB753977)	<i>Planctomycetes, Phycisphaerae</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Мицугаки (Япония), планктон(Кojima et al., 2014b)

24	Flavobacterium sp. R-38284 (FR772225)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (SILVA, RDP)	99	Водный микробный мат (Антарктида)
25	Uncultured bacterium clone lp282 (KC331500)	<i>Verrucomicrobia, Opiritae, Opiritus</i> (SILVA, RDP)	100	Почва в яблоневом саду (Китай)
26	Uncultured bacterium clone Espejo_9_20_11_Water.266753 (KM169305)	<i>Proteobacteria, Betaproteobacteria</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Эспежо (Аргентина), планктон (Elser et al., 2015)
27	Candidatus Pelagibacter sp. AAA795- P11 (LN850160)	<i>Proteobacteria, Alphaproteobacteria, SAR11</i> (SILVA, RDP)	100	Поверхностные воды Красного моря
28	Uncultured bacterium clone LNH_9_9_11_Pumice.245008 (KM126147)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Fluviicola</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Нахеул-Гуапи (Аргентина), плавающий кусок пемзы (Elser et al., 2015)
29	Uncultured Sphingobacteriales bacterium clone L-19 (KJ173723)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Fluviicola</i> (SILVA, RDP)	100	Мелководное озеро Хок Айленд, планктон (США) (Song et al., 2015)

Примечание. нд – нет данных.

Приложение 12. Краткая характеристика операционных таксономических единиц, идентифицированных в составе бактериоценозов оз. Байкал (Август 2013 г.)

Номер ОТЕ	Репрезентативная последовательность (Ac. No)	Филум, класс, род (база данных с валидированной таксономией бактерий)	Сходство с ближайшим гомологом, %	Источник выделения микроорганизма
1	Actinobacterium SCGC AAA044- L23 (HQ663503)	<i>Actinobacteria, Actinobacteria</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez- Garcia et al., 2012)
2	Beta proteobacterium SCGC AAA043-P09 (HQ663417)	<i>Proteobacteria, Betaproteobacteria, Limnhabitans</i> (SILVA, RDP)	100	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez- Garcia et al., 2012)

3	Actinobacterium SCGC AAA280-003 (HQ663639)	<i>Actinobacteria, Actinobacteria</i> (SILVA)	100	эпилимнион оз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
4	Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone PodoII_H1 (HE858013)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia</i> (SILVA, RDP)	100	высокогорное оз. Подо (Пиренеи), планктон
5	Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone Llauset_1_E5 (HE857449)	<i>Verrucomicrobia, Opitutae</i> (SILVA, RDP)	100	высокогорное оз. Лаулет (Пиренеи), планктон
6	Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone SBfYyy26 (HE574368)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Цюрих, планктон (Eckert et al., 2012)
7	Flavobacterium sp. OB148 (KF424306)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia</i> (SILVA, RDP)	100	мерзлая почва
8	Uncultured bacterium clone LNH_1_16_12_Water.251431 (KM156436)	<i>Verrucomicrobia, Opitutae</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Нахеул-Гуапи (Аргентина), планктон (Elseretal., 2015)
9	Alpha proteobacterium SCGC AAA280-B11 (HQ663615)	<i>Proteobacteria, Alphaproteobacteria</i> (SAR11) (SILVA)	100	эпилимнион оз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
11	Actinobacterium SCGC AAA044-C06 (HQ663436)	<i>Actinobacteria, Actinobacteria</i> (SILVA)	100	эпилимнион оз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
12	Actinobacterium SCGC AAA280-P13 (HQ663645)	<i>Actinobacteria, Actinobacteria</i> (SILVA, RDP)	100	эпилимнион оз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
13	Actinobacterium SCGC AAA278-P08 (HQ663605)	<i>Actinobacteria, Actinobacteria</i> (SILVA)	100	эпилимнион оз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
14	Uncultured bacterium clone 05-BS117 (KF791071)	<i>Verrucomicrobia, Verrucomicrobiae</i> (SILVA)	100	глубоководная эндемичная губка <i>Baikalospongia intermedia</i> (оз. Байкал)
15	Uncultured Flavobacteriaceae bacterium clone LW18m-4-60	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Мичиган (США), планктон (Mueller-Spitz et al., 2009)

	(EU640618)			
16	Bacteroidetes bacterium SCGC AAA023-K17 (HQ663018)	<i>Bacteroidetes, Cytophagia</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Спарклинг (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
17	Bacteroidetes bacterium SCGC AAA024-O02 (HQ663099)	<i>Bacteroidetes, Sphingobacteriia</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Спарклинг (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
18	Alpha proteobacterium SCGC AAA024-J18 (HQ663085)	<i>Proteobacteria, Alphaproteobacteria, Sphingorhabdus</i> (SILVA, RDP)	100	эпилимниоз. Спарклинг (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
19	Uncultured bacterium clone: rS5m_36 (AB753884)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Мицугаки (Япония), планктон (Kojima et al., 2014b)
20	Bacteroidetes bacterium SCGC AAA024-O05 (HQ663100)	<i>Bacteroidetes, Sphingobacteriia</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Спарклинг (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
21	Beta proteobacterium SCGC AAA280-P07 (HQ663643)	<i>Proteobacteria, Betaproteobacteria, Candidatus Methylopusillus</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
22	Bacteroidetes bacterium SCGC AAA024-E18 (HQ663062)	<i>Bacteroidetes, Cytophagia</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Спарклинг (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
23	Antarctic bacterium R-7515 partial 16S rRNA gene, strain R-7515 (AJ440977)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Фрикселл (Антарктида), микробный мат (Van Trappen et al., 2002)
24	Bacteroidetes bacterium SCGC AAA027-F10 (HQ663147)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Fluviicola</i> (SILVA)	100	эпилимниоз. Мендота (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
25	Bacterium strain SEI_B19 (KY075742)	<i>Bacteroidetes, Flavobacteriia, Flavobacterium</i> (SILVA)	100	поверхность икринки озерного осетра (США, оз. Мичиган)
26	Uncultured bacterium clone 04_LB11b (KR012946)	<i>Planctomycetes, Phycisphaerae</i> (SILVA)	100	пресноводная губка <i>Lubomirskia baicalensis</i> (оз. Байкал)

27	Uncultured bacterium clone THBP.0912.102 (HQ905058)	<i>Verrucomicrobia</i> , <i>Spartobacteria</i> (SILVA, RDP)	100	оз. Таиху (Китай), планктон
28	<i>Rhodobacter</i> sp. MDT1-69-1 (JX949604)	<i>Proteobacteria</i> , <i>Alphaproteobacteria</i> , <i>Rhodobacter</i> (SILVA), <i>Pseudorhodobacter</i> (RDP)	100	ледник (Китай)
29	<i>Actinobacterium</i> SCGC AAA044-C20 (HQ663442)	<i>Actinobacteria</i> , <i>Actinobacteria</i> (SILVA)	100	эпилимнионоз. Дамарискотта (США), (Martinez-Garcia et al., 2012)
30	Uncultured Bacteroidetes bacterium clone XSLB054 (KC246208)	<i>Bacteroidetes</i> , <i>Sphingobacteriia</i> (SILVA, RDP)	99	поверхностные воды оз. Ксянгси (Китай) (Zhangetal., 2003)

Приложение 13. Происхождение близкородственных гомологов штаммов, изолированных из поверхностного микрослоя озера Байкал

		Ближайший гомолог	% гомологии	источник выделения	Номер в базе данных
1	NA202	<i>Deinococcus ficus</i> CC-FR2-10 NR_043282	99	Ризосфера <i>Ficus religiosa</i> L	LN736018
2	NC17	<i>Sphingobium</i> sp. HLS18 JX949366	99	Ледник в Китае	LN831989
3	NC28	<i>Caulobacter</i> sp. Tibet-S913 DQ177494	99	Вечная мерзлота плато Квингай-Тибет	LN831990
4	NA318	<i>Brevundimonas</i> sp. BZ11 HQ588830	99	Почва индустриальной зоны	LN831991
5	NC38	<i>Naxibacter</i> sp. BUZ1 FJ657440	99	Культура пресноводных нитчатых цианобактерий	LN831992
6	NC45	<i>Massilia</i> sp. RHLB16 JX949434	99	Ледник в Китае	LN831993
7	NC95	<i>Acinetobacter</i> sp. A1041 JX266303	99	Почва рисовых полей	LN831994
8	NC138	Uncultured bacterium clone 624ForB_9 KC408578	99	Вода угольного пласта	LN831995

9	NC108	<i>Ralstonia</i> sp. DI-3 KM051530	100	Почва	LN831996
10	NC132	<i>Janthinobacterium</i> sp. An8 AJ551147	99	Осадки озера Ардли Айленд, Антарктида	LN831997
11	NC148	<i>Pseudomonas</i> sp. DhA-91 AF177916	99	Почва арктической тундры, загрязненная углеводами	LN831998
12	NC15	<i>Pseudomonas</i> sp. RKS7-6 EU934229	99	Ледник Рупкунд, Индия	LN831999
13	NA176	<i>Pseudomonas fluorescens</i> L228 CP015639	99	Растение <i>Miscanthus giganteus</i>	LN832000
14	NC165	<i>Microbacterium</i> sp. MN6-7 JQ396561	99	Ризосфера, арктика	LN832001
15	NC171	<i>Exiguobacterium</i> sp. 16F3I KU758893	99	Вода реки Хан (Южная Корея)	LN832002
16	NC135	<i>Flavobacterium</i> sp. S6-2b GQ253121	98	Альпийская почва	LN832003
17	NA347	<i>Flavobacterium</i> sp. WB 1.1-23 AM167556	99	Минеральный источник (Горы Харц, Германия)	LN832004
18	NA361	<i>Flavobacterium</i> sp. NJA2 KP730000	99	Почва в Антарктиде	LN832005
19	NA350	<i>Janthinobacterium</i> sp. HH01 KJ855978	99	Поливочная бочка	LN832006
20	NA124	<i>Sphingomonas</i> sp. ATCC 31555 AF503280	99	Пресноводный пруд	LN832007
21	NC110	<i>Sphingomonas aquatilis</i> JSS-7 NR_024997	99	Природная минеральная вода	LN832008
22	NC109	<i>Sphingomonas zeae</i> JM-791 NR_136793	99	Стебель растения <i>Zeamays</i>	LN832009
23	NA55	<i>Janthinobacterium</i> sp. Lc30-2 GU244361	99	Озерные осадки, Антарктида	LN832010
24	NA351	<i>Flavobacterium</i> sp. sgn 49 HF562458	99	Высокогорные озера, Восточный Саян	LN832011
25	NA179	<i>Sphingomonas aquatilis</i> JSS-7 NR_024997	99	Природная минеральная вода	LN832012
26	NA53	<i>Sphingomonas</i> sp. Ant20 AF184221	100	Антарктида: Возле базы Скотт	LN832013
27	NA198	<i>Sphingomonas</i> sp. J05 AJ864842	98	Высокогорное озеро Джоери III, Швейцария	LN832014
28	NA77	<i>Sphingomonas faeni</i> MA-olki NR_042129	99	Воздух, Антарктида	LN832015
29	NA56	<i>Brevundimonas nasdae</i> W1-2B NR_028633	99	Российская космическая станция Мир	LN832016
30	NA409	<i>Deinococcus aquatilis</i> CCUG 53370 NR_042696	99	Вода	LN832017
31	NA23	<i>Rhodococcus</i> sp. RKAT245 KU179856	99	Растаявший морской лед	LN832018

32	NA32	<i>Variovorax boronicumulans</i> strain 23 KF923433	99	Вечная мерзлота плато Квингай-Тибет	LN832019
33	NA405	<i>Chryseobacterium shandongense</i> NR_135879	99	Почва	LN832020
34	NA81	<i>Brevundimonas intermedia</i> strain 29 KF923439	99	Вечная мерзлота	LN832021
35	NA93	<i>Pedobacter</i> sp. Tibet-YD4720-1 KF805070	99	Навоз	LN832022
36	NA215	<i>Sphingomonas aerolata</i> NW12 NR_042130	99	Воздух	KU844067
37	NC46	<i>Micrococcus yunnanensis</i> X19 KJ782615	99	Почва, загрязненная нефтью	KY454478
38	NC174	<i>Acinetobacter johnsonii</i> 3P08MA EU977634	100	Пол в чистой комнате космического центра Кеннеди	KY454479
39	NA352	<i>Pedobacter</i> sp. DL3 FJ517610	99	Почва, Антарктида	KY454480
40	NC26	<i>Arthrobacter</i> sp. TmT3-37 JX949830	99	Ледник в Китае	KY454481
41	NC115	<i>Brevundimonas nasdae</i> G1-5-80 KC494331	99	Почва холодной пустыни (Горы Грив, Антарктида)	KY454482
42	NC127	<i>Microbacterium oxydans</i> ИВ В 13601 KP762551	100	Ризосфера <i>Hippophae rhamnoides</i> (холодная пустыня Индийских Гималай)	KY454483
43	NC173	<i>Sphingomonas hunanensis</i> strain 26 KF923436	100	Вечная мерзлота плато Квингай-Тибет	KY454484
44	NA62	<i>Sphingomonas</i> sp. J05 AJ864842	99	Высокогорное озеро Джоери III, Швейцария	KY454485
45	NC52	<i>Massilia</i> sp. NC8 KY454491	100	ПМС, озеро Байкал	KY454486
45	NC52	<i>Massilia</i> sp. NC45 LN831993	100	ПМС, озеро Байкал	KY454486
46	NA4	<i>Chryseobacterium lactis</i> SE01(2) KT239469	100	Почва	KY454487
47	NA412	<i>Chryseobacterium</i> sp. NA405 LN832020	99	ПМС, озеро Байкал	KY454488
47	NA412	Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium clone GC0AA1ZE01PP1 JQ919246	99	Почва	KY454488
48	NA368	<i>Sphingomonas aerolata</i> R-36940	99	Озеро Форлидас, Антарктида	KY454489

		FR691420			
48	NA368	<i>Sphingomonas</i> sp. NA53 LN832013	99	ПМС, озеро Байкал	KY454489
49	NC11 Massilia	<i>Naxibacter</i> sp. BUZ1 FJ657440	100	Культура пресноводных нитчатых цианобактерий	KY454490
50	NC8	<i>Massilia</i> sp. NC45 LN831993	99	ПМС, озеро Байкал	KY454491
50	NC8	<i>Massilia timonae</i> SJC45 KX301306	99	Камень монастыря Сан-Жеронимо	KY454491
51	NA148	<i>Sphingomonas aurantiaca</i> MA101b NR_042128	99	Воздух	KY454492
52	NC30	<i>Ralstonia</i> sp. DI-3 KM051530	100	Почва	KY454493
53	NA173	<i>Pseudomonas</i> sp. RZ56 KT710817	99	Солончаковые болота	KY454494
54	NC27	<i>Brevundimonas</i> sp. Ema11 JQ977507	100	Ризосфера <i>Pedicularis</i> sp.	KY454495
55	NC39	<i>Massilia</i> sp. NC8 KY454491	100	ПМС, озеро Байкал	KY454496
55	NC39	<i>Massilia</i> sp. NC52 KY454486	100	ПМС, озеро Байкал	KY454496
55	NC39	<i>Massilia</i> sp. NC45 LN831993	100	ПМС, озеро Байкал	KY454496
56	NC153	<i>Sphingomonas</i> sp. PETBA05 JQ658410	100	Осадки мангровых зарослей, Бразилия	KY454497
57	NA75	<i>Dyadobacter psychrophilus</i> BZ26 NR_117212	98	Почва	KY454498
58	NA76	<i>Sphingomonas faeni</i> R-36238 FR682704	99	Почва (Антарктида)	KY454499
59	NA168	<i>Pedobacter westerhofensis</i> WB 3.3-22 NR_042602	99	Минеральный источник	KY454500
60	NA175	<i>Pedobacter</i> sp. UA-JF0701 KC108939	99	Осадки ледниковой реки, Исландия	KY454501
61	NA360	<i>Pedobacter jeongneungensis</i> BH45 NR_132685	99	Лесная почва	KY454502
62	NC107	<i>Pedobacter duraquae</i> G1-8-80 KC494334	99	Почва в горах Грув, Антарктида	KY454503
63	NC7	<i>Achromobacter</i> sp. BA-148-09 LT601393	100	Биопленка камней, озеро Байкал	KY454504
64	NC62	<i>Bacillus simplex</i> WJB70 KU877645	100	Почва рисовых полей	KY454505
65	NC74	<i>Achromobacter</i> sp. BA-148-09 LT601393	100	Биопленка камней, озеро Байкал	KY454506
66	NC133	<i>Achromobacter</i> sp. ATY31 HQ219950	99	Корни цитрусовых растений, Флорида	KY454507
67	NC4	<i>Microbacterium testaceum</i> yangyueK7	99	Почва	KY454508

		KU977122			
68	NC41	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> strain 361 KP763474	99	Речная вода	KY454509
69	NC55	<i>Sphingomonas</i> sp. PETBA05 JQ658410	100	Осадки мангровых зарослей, Бразилия	KY454510
70	NC80	<i>Shewanella</i> sp. S5-8 KC202266	99	Осадки озера Чао, Китай	KY454511
71	NC102	<i>Pedobacter borealis</i> YF04-4(1) KT369930	98	Горы Квилян	KY454512
72	NC104	<i>Acinetobacter</i> sp. PL15a_S38 JF274908	100	Отработанная вода оливковой мельницы	KY454513
73	NC25	<i>Psychrobacter alimentarius</i> KSW 71. LK391675	99	Осадки фьорда Конгсфьорд, Норвегия	KY454514
74	NC33	<i>Sphingomonas</i> sp. UV9 KX086567	100	Антарктида	KY454515
75	NC49	<i>Massilia</i> sp. NC11 KY454490	100	ПМС, озеро Байкал	KY454516
75	NC49	<i>Naxibacter</i> sp. BUZ1 FJ657440	100	Культура пресноводных нитчатых цианобактерий	KY454516
76	NC56	<i>Ralstonia</i> sp. NC30 KY454493	100	ПМС, озеро Байкал	KY454517
76	NC56	<i>Ralstonia pickettii</i> SMV187-13 KT354646	100	Почва, загрязненная углеводами	KY454517
77	NC70	<i>Ralstonia</i> sp. DI-3 KM051530	100	Почва, загрязненная диазиномом	KY454518
77	NC70	<i>Ralstonia</i> sp. PY4 KF609499	100	Почва, загрязненная пиреном	KY454518
78	NC76	<i>Shewanella</i> sp. S5-28 KC202274	99	Осадки озера Чао, Китай	KY454519
79	NC105	<i>Curtobacterium</i> sp. EA_L_38 KJ642411	99	Ризосфера <i>Echinacea purpurea</i> и <i>Echinacea angustifolia</i>	KY454520
80	NC181	<i>Sphingomonas</i> sp. NC55 KY454510	100	ПМС, озеро Байкал	KY454521
80	NC181	<i>Sphingomonas</i> sp. NC153 KY454497	100	ПМС, озеро Байкал	KY454521
80	NC181	<i>Sphingomonas</i> sp. PMR03 KF648890	100	Эндифиты <i>Pteris vittata</i> и <i>Pteris multifida</i>	KY454521
81	NC149	<i>Acinetobacter johnsonii</i> KC422447	99	Водоочистная установка	KY454522
82	NC163	<i>Brevundimonas</i> sp. TMB1-1 JX950103	99	Ледник, Китай	KY454523
83	NC172	<i>Exiguobacterium acetylicum</i> DCH-3 KC166866	99	Биомасса цианобактерии <i>Microcystis</i> , Китай, озеро Дианчи	KY454524
84	NC69	<i>Massilia brevitalea</i> I2_4 KT799667	99	Водоочистная установка	KY454525
85	NC83	<i>Pseudomonas tolaasii</i> AF348507	100	Почва	KY454526
86	NC85	Uncultured bacterium clone HL201208-88 KU514862	99	Дождевая вода	KY454527

87	NC168	<i>Pseudomonas</i> sp. PK8 KT424948	99	Ледник Томб Тагер, Восточный Памир	KY454528
----	-------	-------------------------------------	----	------------------------------------	----------

Приложение 14. Таксономический состав культивируемого бактериального сообщества нейстона озера Байкал

	фила	класс	род	Представители	Доля, %
1	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas</i>	NA53, NA62, NA76, NA77, NA124, NA148, NA179, NA198, NA215, NA368, NC33, NC55, NC109, NC110, NC153, NC173, NC181	19.5
2	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Brevundimonas</i>	NA56, NA81, NA318, NC27, NC115, NC163	6.9
3	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Caulobacter</i>	NC28	1.1
4	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingobium</i>	NC17	1.1
5	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Ralstonia</i>	NC30, NC56, NC70, NC108	4.6
6	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Massilia</i>	NC8, NC11, NC38, NC39, NC45, NC49, NC52	8
7	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Achromobacter</i>	NC7, NC74, NC133	3.4
8	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax</i>	NA32	1.1
9	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Janthinobacterium</i>	NA55, NA350, NC69, NC132	4.6
10	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Acinetobacter</i>	NC41, NC95, NC104, NC138, NC149, NC174	6.9
11	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Shewanella</i>	NC76, NC80	2.3
12	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Psychrobacter</i>	NC25	1.1
13	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonas</i>	NA173, NA176, NC15, NC83, NC148, NC168	6.9
14	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Sphingobacteriia</i>	<i>Pedobacter</i>	NA93, NA168, NA175, NA352, NA360, NC102, NC107	8
15	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Flavobacteriia</i>	<i>Flavobacterium</i>	NA347, NA351, NA361, NA412, NC135	5.7
16	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Flavobacteriia</i>	<i>Chryseobacterium</i>	NA4, NA405	2.3
17	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Cytophagia</i>	<i>Dyadobacter</i>	NA75	1.1
18	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Microbacterium</i>	NC4, NC127, NC165	3.4
19	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Curtobacterium</i>	NC105	1.1
20	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter</i>	NC26	1.1
21	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micrococcus</i>	NC46	1.1
22	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Rhodococcus</i>	NA23	1.1

23	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Exiguobacterium</i>	NC85, NC171, NC172	3.4
24	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillus</i>	NC62	1.1
25	<i>Deinococcus- Thermus</i>	<i>Deinococci</i>	<i>Deinococcus</i>	NA202, NA409	2.3

Приложение 15. Гидролиз спиртов и аминокислот гетеротрофными бактериями, выделенными из поверхностного микрослоя озера Байкал

		дульцит	инозит	сорбит	маннит	аланин	фенилаланин	лейцин	пролин
1	<i>Rhodococcus</i> sp. NA23	—	—	—	+	—	—	—	—
2	<i>Flavobacterium</i> sp. NA351	—	—	—	—	—	—	—	+
3	<i>Pedobacter</i> sp. NA93	—	+	—	—	—	—	—	—
4	<i>Pedobacter</i> sp. NC107	—	—	—	+	—	—	—	—
5	<i>Deinococcus</i> sp. NA202	—	+	+	—	—	—	—	+
6	<i>Exiguobacterium</i> sp. NC85	—	+	—	—	—	—	—	—

Примечание. «+» – микроорганизм способен утилизировать данный субстрат; «—» – микроорганизм не способен утилизировать данный субстрат. В таблице не указан 81 штамм, не утилизирующий спирты и аминокислоты.

Приложение 16. Гидролиз моно- и дисахаридов гетеротрофными бактериями, выделенными из поверхностного микрослоя озера Байкал

		мальтоза	галактоза	рафиноза	фруктоза	сахароза	арабиноза	лактоза	глюкоза	рамноза	манноза	ксилоза
1	<i>Microbacterium</i> sp. NC165	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2	<i>Chryseobacterium</i> sp. NA4	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
3	<i>Flavobacterium</i> sp. NA351	+	+	—	—	+	—	—	—	—	+	+
4	<i>Flavobacterium</i> sp. NA412	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+
5	<i>Flavobacterium</i> sp. NC135	+	+	+	—	+	+	—	+	+	+	—
6	<i>Pedobacter</i> sp. NA93	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
7	<i>Pedobacter</i> sp. NA168	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
8	<i>Pedobacter</i> sp. NA175	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
9	<i>Pedobacter</i> sp. NC107	+	—	—	+	+	+	—	+	—	+	+
10	<i>Deinococcus</i> sp. NA202	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+
11	<i>Bacillus</i> sp. NC62	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
12	<i>Exiguobacterium</i> sp. NC172	+	—	—	+	+	—	—	+	—	—	—
13	<i>Sphingomonas</i> sp. NA53	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
14	<i>Sphingomonas</i> sp. NA179	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
15	<i>Sphingomonas</i> sp. NA198	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—
16	<i>Sphingomonas</i> sp. NA215	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
17	<i>Sphingomonas</i> sp. NC33	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	<i>Sphingomonas</i> sp. NC110	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
19	<i>Janthinobacterium</i> sp. NA55	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
20	<i>Janthinobacterium</i> sp. NC69	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—
21	<i>Janthinobacterium</i> sp. NC132	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
22	<i>Ralstonia</i> sp. NC56	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
23	<i>Variovorax</i> sp. NA32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+

24	<i>Acinetobacter</i> sp. NC104	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
25	<i>Acinetobacter</i> sp. NC41	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—
26	<i>Acinetobactersp.</i> NC95	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
27	<i>Acinetobactersp.</i> NC138	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—
28	<i>Pseudomonas</i> sp. NA173	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
29	<i>Psychrobacter</i> sp. NC25	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
30	<i>Shewanella</i> sp. NC76	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—

Примечание. «+» – микроорганизм способен утилизировать данный субстрат; «—» – микроорганизм не способен утилизировать данный субстрат. В таблице не указаны 57 штаммов, не утилизирующие моно- и дисахариды.

Приложение 17. Активность внеклеточных ферментов, продуцируемых бактериями из поверхностного микрослоя озера Байкал

	Название штамма	Амилолитическая активность, мм	Протеолитическая активность, мм		Липолитическая активность, мм		Активность щелочной фосфатазы (24 часа)	Активность каталазы
			казеин	желатин	трибутирин	фосфолипиды		
1	<i>Microbacterium</i> sp. NC127	0	6	2	0	7	—	+
2	<i>Microbacterium</i> sp. NC4	0	0	0	2	0	+++	+
3	<i>Microbacterium</i> sp. NC165	1	0	0	3	0	++	+
4	<i>Curtobacterium</i> sp. NC105	1	0	0	0	0	—	+
5	<i>Arthrobacter</i> sp. NC26	1	0	0	3	0	++	+
6	<i>Micrococcus</i> sp. NC46	1	5	3	0	0	—	+
7	<i>Rhodococcus</i> sp. NA23	0	0	0	0	0	+	++
8	<i>Chryseobacterium</i> sp. NA4	8	10	0	0	2	—	+
9	<i>Chryseobacterium</i> sp. NA405	1	0	0	0	0	—	+
10	<i>Dyadobacter</i> sp. NA75	0	0	0	0	0	—	+
11	<i>Flavobacterium</i> sp. NA347	4	7	0	0	0	—	+
12	<i>Flavobacterium</i> sp. NA351	18	7	3	0	5	+++	+
13	<i>Flavobacterium</i> sp. NA361	0	6	4	0	2	—	+
14	<i>Flavobacterium</i> sp. NA412	15	13	1	0	1	+	+
15	<i>Flavobacterium</i> sp. NC135	6	7	1	0	1	—	+
16	<i>Pedobacter</i> sp. NA93	0	7	1	0	2	—	+
17	<i>Pedobacter</i> sp. NA168	0	0	0	0	0	+	+
18	<i>Pedobacter</i> sp. NA175	1	0	0	0	0	+++	+
19	<i>Pedobacter</i> sp. NA352	1	0	0	0	0	+++	+
20	<i>Pedobacter</i> sp. NA360	2	6	4	0	5	+	+
21	<i>Pedobacter</i> sp. NC102	1	0	0	3	0	—	+

22	<i>Pedobacter</i> sp.NC107	0	0	0	0	5	—	+
23	<i>Deinococcus</i> sp.NA202	2	6	2	0	5	+++	+
24	<i>Deinococcus</i> sp.NA409	3	5	0	0	2	—	+
25	<i>Bacillus</i> sp. NC62	2	6	1	0	1	+	+
26	<i>Exiguobacterium</i> sp.NC172	7	12	3	0	6	—	+
27	<i>Exiguobacterium</i> sp.NC171	0	0	0	0	1	—	+
28	<i>Exiguobacterium</i> sp. NC85	14	15	1	0	4	++	++
29	<i>Brevundimonas</i> sp. NA81	10	0	0	0	0	+	+
30	<i>Brevundimonas</i> sp.NA56	1	1	0	0	0	+	+
31	<i>Brevundimonas</i> sp.NC27	2	3	2	0	0	—	+
32	<i>Brevundimonas</i> sp.NA318	0	0	0	0	0	+	+
33	<i>Brevundimonas</i> sp. NC115	0	0	0	4	0	+++	+
34	<i>Brevundimonas</i> sp.NC163	0	0	0	0	0	—	+
35	<i>Caulobacter</i> sp.NC28	10	0	0	0	0	+	+
36	<i>Sphingobium</i> sp.NC17	0	0	0	2	0	—	+
37	<i>Sphingomonas</i> sp. NA53	0	0	0	0	0	+	+
38	<i>Sphingomonas</i> sp.NA76	0	0	0	0	0	—	+
39	<i>Sphingomonas</i> sp.NA179	0	0	0	0	0	+++	+
40	<i>Sphingomonas</i> sp.NA198	0	0	0	0	0	++	++
41	<i>Sphingomonas</i> sp. NA215	4	0	0	0	0	++	+
42	<i>Sphingomonas</i> sp.NC109	0	0	0	0	0	++	+
43	<i>Sphingomonas</i> sp.NA148	0	0	0	4	0	—	+
44	<i>Sphingomonas</i> sp.NA124	3	0	0	0	0	+++	+
45	<i>Sphingomonas</i> sp. NA77	0	0	0	0	0	—	+
46	<i>Sphingomonas</i> sp.NA62	0	0	0	0	0	—	+
47	<i>Sphingomonas</i> sp.NA368	9	0	0	0	0	+	+
48	<i>Sphingomonas</i> sp.NC33	0	0	0	0	0	+	+
49	<i>Sphingomonas</i> sp. NC55	1	0	0	0	0	—	+

50	<i>Sphingomonassp.</i> NC110	0	0	0	0	0	+	+
51	<i>Sphingomonassp.</i> NC153	0	0	0	0	0	—	+
52	<i>Sphingomonassp.</i> NC173	0	0	0	2	0	—	+
53	<i>Sphingomonas sp.</i> NC181	0	0	0	0	0	—	+
54	<i>Achromobactersp.</i> NC7	4	0	0	0	0	—	+
55	<i>Achromobactersp.</i> NC74	0	0	0	0	0	+	+
56	<i>Achromobactersp.</i> NC133	0	0	0	0	0	+	+
57	<i>Janthinobacterium sp.</i> NA55	0	4	2	0	4	+++	++
58	<i>Janthinobacteriumsp.</i> NA350	0	0	0	0	0	+	+
59	<i>Janthinobacteriumsp.</i> NC69	3	6	0	0	3	—	+
60	<i>Janthinobacterium sp.</i> NC132	0	4		0	4	+++	++
61	<i>Massilia sp.</i> NC38	1	6	0	0	2	++	+
62	<i>Massiliasp.</i> NC45	0	0	3	0	2	+++	+
63	<i>Massiliasp.</i> NC8	0	0	2	0	0	—	+
64	<i>Massilia sp.</i> NC11	1	5	35	0	0	+++	+
65	<i>Massilia sp.</i> NC52	1	5	3	0	0	+++	+
66	<i>Massilia sp.</i> NC39	1	6	4	0	0	+++	+
67	<i>Massilia sp.</i> NC49	0	0	0	1	2	—	+
68	<i>Ralstoniasp.</i> NC108	1	0	0	0	0	+	+
69	<i>Ralstonia sp.</i> NC30	1	0	0	0	0	++	+
70	<i>Ralstoniasp.</i> NC56	0	0	0	0	0	—	+
71	<i>Ralstoniasp.</i> NC70	1	0	0	0	0	++	+
72	<i>Variovoraxsp.</i> NA32	7	0	0	0	0	+	++
73	<i>Acinetobacter sp.</i> NC149	1	0	0	0	0	—	+
74	<i>Acinetobactersp.</i> NC174	0	0	0	0	0	—	+
75	<i>Acinetobactersp.</i> NC104	1	0	0	0	0	+	+
76	<i>Acinetobactersp.</i> NC41	0	8	2	0	0	—	+
77	<i>Acinetobacter sp.</i> NC95	0	0	0	0	0	++	+

78	<i>Acinetobacter</i> sp.NC138	1	0	0	0	0	+	+
79	<i>Pseudomonas</i> sp.NC15	0	3	3	0	3	—	+
80	<i>Pseudomonas</i> sp.NA173	0	0	1	0	0	—	+
81	<i>Pseudomonas</i> sp. NA176	1	0	10	2	2	—	+
82	<i>Pseudomonas</i> sp.NC83	0	0	1	10	0	+	+
83	<i>Pseudomonas</i> sp.NC148	0	8	0	0	3	—	+
84	<i>Pseudomonas</i> sp.NC168	0	0	0	0	0	—	+
85	<i>Psychrobacter</i> sp. NC25	0	0	1	0	0	—	+
86	<i>Shewanella</i> sp.NC76	0	0	0	0	0	—	+
87	<i>Shewanella</i> sp.NC80	0	0	1	0	0	—	+

Примечание. Амилолитическую, протеолитическую, липолитическую активности учитывали по диаметру зоны просветления вокруг колонии в мм. Активность щелочной фосфатазы и каталазы оценивали по интенсивности соответствующих реакций: «+++» – выраженная, «++» – умеренная, «+» – слабая, «—» – отсутствие активности.