

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ЛИМНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ**

На правах рукописи

МИХАЙЛОВ Иван Сергеевич

**АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА
ЭПИЛИМНИОНА ОЗЕРА БАЙКАЛ**

03.02.08 – Экология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель –
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Ю. Р. Захарова

Иркутск

2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. Обзор литературы	8
1.1. Экологические факторы, определяющие развитие альго- бактериальных сообществ в эпилимнионе озера Байкал	8
1.2. Характеристика фито - и бактериопланктона в эпилимнионе озера Байкал	11
1.3. Современные методы исследования разнообразия микроорганизмов водных экосистем	16
1.4. Общая характеристика взаимодействий диатомовых водорослей и гетеротрофных бактерий в водных экосистемах	18
ГЛАВА 2. Объекты и методы исследования	27
2.1. Объекты исследования	27
2.2. Методы исследования	30
ГЛАВА 3. Среда обитания альго-бактериальных сообществ эпилимниона озера Байкал	40
3.1. Физико-химические условия и характеристика фитопланктона в эпилимнионе озера Байкал	40
3.2. Характеристика бактериальных сообществ в эпилимнионе озера Байкал	51
ГЛАВА 4. Структура и разнообразие сообществ бактерий и одноклеточных эукариот эпилимниона озера Байкал по данным анализа фрагментов генов 16S рРНК и 18S рРНК	59
4.1. Разнообразие бактериальных сообществ	59
4.2. Структура бактериальных сообществ	61
4.3. Сравнительный анализ бактериальных сообществ	68

4.4. Разнообразие сообществ одноклеточных эукариот	71
4.5. Структура сообществ одноклеточных эукариот	73
4.6. Сравнительный анализ сообществ одноклеточных эукариот	78
ГЛАВА 5. Численность и разнообразие бактерий, ассоциированных с микроводорослями из озера Байкал	83
5.1. Альго-бактериальные ассоциации в эпилимнионе озера Байкал	83
5.2. Таксономическое разнообразие бактерий в культурах диатомовых водорослей	86
ГЛАВА 6. Получение аксеничной культуры диатомеи <i>Synedra acus</i> subsp. <i>radians</i> и ее миксотрофное культивирование	90
6.1. Получение аксеничной культуры диатомеи <i>Synedra acus</i> subsp. <i>radians</i>	90
6.2. Миксотрофное культивирование аксеничной культуры диатомеи <i>Synedra acus</i> subsp. <i>radians</i>	95
ВЫВОДЫ	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	107
ПРИЛОЖЕНИЯ	137

ВВЕДЕНИЕ

Бактерии и одноклеточные водоросли – важнейшие участники биогеохимических циклов в большинстве водных экосистем. Взаимодействия между первичными продуцентами и бактериями влияют на физиологию этих организмов, приводят к изменению условий окружающей их среды и участвуют в формировании разнообразия экосистемы [71].

Озеро Байкал – крупнейшее и самое глубокое пресноводное озеро в мире. Эпилимнион – верхний, наиболее интенсивно перемешиваемый слой озера, в котором массово развивается фитопланктон, представленный в весенне-летний период диатомовыми водорослями (13–98 % биомассы фитопланктона в пелагиали озера) [193]. Растворенные органические вещества, продуцируемые микроводорослями, усваиваются в основном гетеротрофными бактериями, поэтому изменение количественных и качественных характеристик фитопланктона влияет на численность и видовой состав бактерий [97, 229]. Микроорганизмы эпилимниона озера Байкал ранее определяли с помощью традиционных методов микроскопии [192, 193], культивирования [42, 43, 44] и в результате анализа последовательностей генов 16S рРНК [6, 21, 134] и 18S рРНК [1, 85, 121]. В этих работах использованы методы, с помощью которых в отдельной пробе можно идентифицировать несколько десятков видов микроорганизмов, однако природные сообщества могут содержать сотни и тысячи видов. Применение технологий массового параллельного секвенирования позволяет выявить не только доминирующих, но и минорных представителей сообществ бактерий и одноклеточных эукариот, что способствует наиболее полной характеристике биоразнообразия, которое обеспечивает сохранение стабильности экосистемы [72, 157, 224]. Бактерии и микроводоросли сосуществуют в одной среде, но насколько тесные взаимодействия между ними и зависит ли таксономический состав этих групп про- и эукариот друг от друга в озере Байкал не известно.

Цель работы – определить структуру и разнообразие альго-бактериальных сообществ эпилимниона озера Байкал в весенне-летний период и исследовать особенности взаимодействий диатомовых водорослей и бактерий.

Задачи исследования:

1. Исследовать альго-бактериальные сообщества в эпилимнионе озера Байкал с помощью световой, сканирующей электронной микроскопии и методов культивирования.

2. Определить структуру сообществ бактерий и одноклеточных эукариот эпилимниона озера Байкал и провести сравнение разнообразия сообществ из различных районов озера на основе данных пиросеквенирования нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 16S рРНК и 18S рРНК.

3. Определить таксономический состав бактерий, развивающихся в лабораторных условиях совместно с диатомовыми водорослями, изолированными из озера Байкал.

4. Подобрать условия получения аксеничной культуры планктонной диатомовой водоросли *Synedra acus* subsp. *radians* (Kützing) Skabitshevsky.

Научная новизна работы. Впервые проведен комплексный анализ альго-бактериальных сообществ эпилимниона озера Байкал в весенне-летний период с помощью пиросеквенирования ампликонов фрагментов генов 16S рРНК и 18S рРНК, световой и сканирующей электронной микроскопии. Установлено, что в эпилимнионе различных районов озера развиваются сходные по структуре бактериальные сообщества, несмотря на существенные различия в составе фитопланктона. С помощью анализа фрагментов генов 18S рРНК в эпилимнионе озера Байкал впервые определены представители Chytridiomycota, которые, как известно, являются паразитами фитопланктона и сапротрофами [159]. Показаны альго-бактериальные ассоциации в эпилимнионе озера Байкал и в лабораторных культурах диатомовых водорослей. В культурах планктонных диатомей из Байкала

идентифицированы бактерии, принадлежащие филумам *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*. Впервые получена аксеничная культура планктонной диатомовой водоросли *S. acus* subsp. *radians*.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов. Результаты исследований позволили расширить представления о структуре комплексных сообществ бактерий и одноклеточных эукариот в различных местообитаниях эпилимниона озера Байкал. Свыше 40 тыс. последовательностей 16S рРНК бактерий и 260 тыс. последовательностей 18S рРНК одноклеточных эукариот были получены в результате пиросеквенирования и внесены в мировую базу данных NCBI, что имеет практическое значение для сравнительного анализа микроорганизмов из различных водных экосистем. Апробированный в работе метод пиросеквенирования может быть использован для мониторинга состава сообществ бактерий и одноклеточных эукариот в озере Байкал. Разработанная методика получения аксеничных культур диатомовых водорослей, была применена для различных микроводорослей в других лабораториях мира [71]. Аксеничная культура диатомеи *S. acus* subsp. *radians* используется в цитологических и полногеномных исследованиях [14, 46].

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Альго-бактериальные сообщества эпилимниона озера Байкал в весенне-летний период характеризуются высоким разнообразием.
2. Бактериальные сообщества в различных районах эпилимниона озера Байкал, отличающихся видовым составом фитопланктона, имеют сходную структуру.
3. Получение безбактериальной культуры планктонной диатомовой водоросли *S. acus* subsp. *radians*.

Апробация работы: Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на Верещагинских Байкальских конференциях (Иркутск, 2010, 2015), Байкальских Микробиологических симпозиумах с международным участием (Иркутск, 2011, 2015), XX Международной

научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов 2013» (Москва, 2013), VI Всероссийском с международным участием конгрессе молодых ученых-биологов «Симбиоз-Россия 2013» (Иркутск, 2013).

Научные публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 работ, из них 2 в международных рецензируемых (Web of Science) журналах. Материалы диссертации доложены на шести международных и всероссийских научных конференциях с 2010 по 2015 гг., по итогам которых опубликовано 8 тезисов.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

1.1. Экологические факторы, определяющие развитие альго-бактериальных сообществ в эпилимнионе озера Байкал

Экологические факторы окружающей среды определяют состав микробных сообществ и характер биогеохимических процессов, происходящих в водных экосистемах. К основным факторам, определяющим развитие альго-бактериальных сообществ, относят температурный режим водоема, глубину проникновения света, концентрации кислорода, биогенных элементов, количество растворенного органического вещества [229, 224]. Эпилимнион – верхний, наиболее интенсивно перемешиваемый слой водоема, в пределах которого наблюдается гомотермия или слабо выраженная температурная стратификация [18]. Эпилимнион можно разделить на несколько экологических ниш в зависимости от гидрологического режима водоема. К первой относится поверхностная пленка воды, содержащая в основном липиды, которые в ней скапливаются из водной массы и воздуха. В этой нише развиваются прикрепляющиеся и обрастающие субстрат организмы. Вторая экологическая ниша располагается ниже поверхностной пленки воды в зоне оптимальной освещенности и характеризуется массовым развитием фитопланктона. Третья экологическая ниша соответствует зоне термоклина, который расположен между эпилимнионом и гиполимнионом, где задерживаются опускающиеся сверху частицы детрита и отмершего планктона, а снизу из гиполимниона за счет турбулентного перемешивания и диффузного подтока поступают биогенные элементы. Эта ниша характеризуется массовым развитием бактерий, а при наличии света – и фитопланктона [17, 242].

Байкал – древнейшее (25 млн лет) и самое глубокое озеро в мире, в котором сосредоточено 20 % мировых запасов поверхностных пресных вод. Озеро расположено в Восточной Сибири, его впадина является центральным

звеном Байкальской рифтовой зоны и представлена тремя котловинами (южной, средней и северной), разделенными повышениями дна [217]. Озеро Байкал характеризуется своеобразным температурным режимом, который определяется климатическими условиями, глубиной озера и преобладанием глубинной зоны над мелководьями. Сезонные изменения температуры толщи вод озера Байкал охватывают лишь верхний слой воды, до глубины 200-250 м. Ниже его температура воды практически постоянна круглый год (от 3,6 °С до 3,3 °С). Прогревание верхнего слоя вод начинается сразу же после установления ледяного покрова (февраль – март) за счет проникновения через него солнечной радиации. В связи с этим начинается подтаивание ледяного покрова снизу и поступление в верхний слой расплавов льда. Подледное прогревание, наряду с увеличением освещенности и поступлением талых вод, служит толчком для развития фитопланктона и, как следствие, большого количества бактерий [26, 217]. Весной, когда в Байкале температура верхних слоев воды (3,1-3,4 °С) ниже придонных, происходит конвекция в глубинных слоях воды. При прогреве верхних слоев воды до 3,6 °С размеры слоя конвективного перемешивания достигают 250 м, а при прогреве воды выше 4 °С конвекция прекращается и устанавливается летняя температурная стратификация. Вертикальный обмен водных масс приводит к подъему биогенных элементов с придонных слоев воды в поверхностные, что стимулирует развитие фитопланктона [60, 239]. Летнее прогревание в Южном Байкале длится от весенней гомотермии обычно с конца июня до середины или конца августа. Поверхностный слой воды открытого Байкала прогревается до 12 °С – 15 °С [26]. Температурные различия в водоеме обуславливают развитие психрофильных и мезофильных микроорганизмов. В летнее время развиваются преимущественно мезофильные микроорганизмы, в зимний период и в глубоководных районах озера – психрофильные.

Свет является фактором, необходимым для развития фитопланктона. Различные лучи солнечного спектра поглощаются водой с разной

интенсивностью. Глубже всего проникают зеленые и голубые лучи длиной волны 500-550 нм, сильнее всего поглощаются ультрафиолетовые и красные. Оптимальная интенсивность света для развития и фотосинтеза фитопланктона лежит при длине волны 450 и 680 нм в пределах 3000-10000 люкс [17]. На Байкале продолжительность солнечного сияния выше, чем на смежных территориях, и на севере озера составляет 1900-2200 ч/год. Приход солнечной радиации в среднем 60 ккал/см^2 в год, в том числе летом до $9,9 \text{ ккал/см}^2$ [4].

Вода Байкала характеризуется низким содержанием минеральных веществ ($96,4 \text{ мг/л}$) и по химическому составу относится к слабоминерализованным водам гидрокарбонатно-кальциевого состава [12, 118]. Распределение хлоридов, сульфатов, гидрокарбонатов, калия в водной толще Байкала равномерно, сезонные изменения концентраций этих ионов практически отсутствуют. Важным фактором развития фитопланктона является наличие и интенсивность поступления в водоем биогенных элементов. Олиготрофные водоемы характеризуются низкой биомассой, большими глубинами, высокой прозрачностью воды, благоприятным кислородным режимом и слабым поступлением биогенных элементов. Противоположность этому составляют эвтрофные озера с постоянным притоком биогенных элементов и интенсивным развитием фитопланктона. В зависимости от метеорологических условий величина фотосинтеза в одном и том же водоеме может подвергаться значительным колебаниям [17]. В Байкале распределение биогенных элементов: нитратов, фосфатов, силикатов, железа – по вертикали неравномерно, и их концентрации в разные сезоны различаются. В период развития фитопланктона в верхних слоях воды озера Байкал концентрации биогенных элементов снижаются и вновь увеличиваются в период вертикальной циркуляции в течение весенней и осенней гомотермии [22, 24, 26, 47]. Содержание кислорода в воде Байкала не падает ниже $9,5\text{-}10 \text{ мг/л}$ и даже на максимальных глубинах составляет до 70-75 % насыщения [4, 22]. Растворенный в воде O_2 подвержен сезонным

изменениям, и его концентрации в верхнем слое воды зависят от жизнедеятельности организмов [24, 26].

Круговорот органического вещества является важнейшим процессом, происходящим в водоеме при непосредственном участии микроорганизмов [13, 77]. Рост бактерий в естественных условиях почти всегда лимитирован недостатком органического вещества. В верхнем 25-метровом слое воды озера Байкал содержание сухого беззольного органического вещества составляет 3-4 мг/л. Годовые величины первичной продукции открытых районов Южного и Среднего Байкала весьма близки между собой и составляют в среднем 130 г С-орг. под 1 м² поверхности озера; Северный Байкал несколько менее продуктивен – 119 г С-орг. под 1 м²; в целом за годы исследований (1964–1968) первичная продукция составляла в среднем 127 г [13].

1.2. Характеристика фито- и бактериопланктона в эпилимнионе озера Байкал

К настоящему времени для открытого Байкала и его отдельных районов накоплен обширный материал по видовому составу фитопланктона, исследована сезонная и многолетняя динамика [53]. В состав фитопланктона озера Байкал входят цианобактерии, диатомовые водоросли, хризофитовые, динофлагелляты, криптофитовые и зеленые водоросли [8, 27, 33, 47, 51, 63]. В весенний период массовое развитие фитопланктона начинается, когда озеро покрыто льдом (март – начало мая), и продолжается после вскрытия озера ото льда (май – июнь). Диатомовые водоросли являются важнейшими представителями фитопланктона озера Байкал. В его пелагиали в высокопродуктивные годы биомасса фитопланктона в слое 0–25 м составляет более 1 г/м³, и вклад диатомовых водорослей достигает 72-98 % этой биомассы, а в низкопродуктивные годы биомасса в слое 0–25 м составляет менее 0,5 г/м³, доля диатомей варьирует от 85-98 % до 1-13 % [193]. В некоторые годы в мае численность диатомей достигает 2-4 млн кл./л,

биомасса – 2-5 г/м³ [49, 51]. Диатомовые водоросли – фотосинтезирующие эукариоты с кремнистыми клеточными стенками, распространенные в пресных и морских экосистемах. Морские диатомеи синтезируют около 20 % глобальной первичной продукции [120] и 40 % первичной продукции морей [181]. Развитие диатомовых водорослей в водных экосистемах играет важную роль в биогеохимических циклах углерода, азота, кремния и железа [76].

Уровень развития доминирующих видов диатомей в пелагиали озера Байкал подвержен резким межгодовым колебаниям. При этом состав доминирующих видов в разные годы различается [2, 3, 49, 51]. Особенно велик диапазон межгодовой изменчивости у представителей рода *Aulacoseira* Thw. Весеннее их развитие в одни годы (так называемые «урожайные», или «мелозирные» годы) может достигать 4 млн кл./л, а в другие – до 20–30 тыс. кл./л [53]. Распределение доминирующего комплекса диатомовых и уровень их развития в различных котловинах озера варьируют. В Южном Байкале весной в высокопродуктивные годы массовое развитие диатомей обуславливается в одни годы исключительно *A. baicalensis* (K. Meyer) Sim, в другие – *A. baicalensis* и *A. islandica* (O. Müller) Simonsen, в третьи наблюдается массовое развитие представителей родов *Synedra* Ehr. или *Nitzschia* Hass. Иногда диатомовый планктон состоит из нескольких доминирующих видов – *A. baicalensis*, *Stephanodiscus meyeri* Genkal et Popovskaya, *Synedra acus* subsp. *radians*. В низкопродуктивные годы в диатомовом планктоне основную роль играют *Cyclotella baicalensis* Skv., *Synedra acus* subsp. *radians*, *S. ulna* var. *danica* (Kütz.) Grun., *Fragillaria crotonensis* Kitt. и *F. capucina* Desm. В Среднем Байкале наряду с доминирующими видами диатомей, характерными для Южного Байкала, отмечается повышенная роль в планктоне *St. meyeri*, *S. acus* subsp. *radians* и мелких центрических диатомей – *C. minuta* (Skvortzov) Antipova, *St. makarova* Genkal, *St. invisitatus* Hohn et Hellerman, *St. minutulus* (Kütz.) Cleve et Möller, *St. hantzschii* Grun. В Северном Байкале высокопродуктивные

годы бывают редко и создаются в основном за счет *A. baicalensis*. Другие виды диатомей малочисленны [2, 3, 47, 49, 51, 193]. В Чивыркуйском заливе весной во все годы по численности и биомассе преобладает байкальский комплекс диатомей. В мае – июле доминирующей становится диатомея *Asterionella formosa* Hass. В Баргузинском заливе видовой состав диатомовых носит смешанный характер и состоит из видов, вносимых рекой Баргузин, байкальского комплекса и видов, характерных для самого залива. В проливе Малое Море доминирует байкальский комплекс диатомей с особенно массовым и характерным видом *St. meyeri*. Общая численность диатомей весной в Малом Море характеризуется высокими значениями, максимальные ее показатели достигают 5–6 млн кл./л [48-50, 52, 193].

О составе сообществ одноклеточных эукариот озера Байкал известно в основном на основании их определения по морфологии с помощью световой микроскопии, таким способом идентифицируют состав фитопланктона [193] и протозоопланктона [41, 184]. Исследования генетического разнообразия одноклеточных эукариот озера Байкал фрагментарны и ограничены анализом по гену 18S рРНК динофлагеллят *Gyrodinium* Kofoid et Swezy и *Gymnodinium baicalense* Antipova [1, 73], зеленых водорослей *Choricystis minor* (Skuja) Fott [85], эустигматофитовых *Nannochloropsis limnetica* Krienitz, Hepperle, Stich et Weiler [121].

Фитопланктон является основой водной пищевой сети: он служит источником питания зоопланктону, которым питаются рыбы [107]. Органическое вещество, образующееся в результате фотосинтеза фитопланктона, сосредоточено в его биомассе и одновременно выделяется в окружающую среду. Количество выделенного водорослями органического вещества может достигать 20 % образовавшегося в процессе фотосинтеза [124, 125]. Органические экзометаболиты, выделенные фитопланктоном, в наибольших концентрациях локализуются в фикосфере – области вокруг клеток фитопланктона [84], в которой создаются благоприятные условия для развития бактерий [167].

Гетеротрофные бактерии – повсеместно распространенные прокариоты, использующие для метаболизма органические вещества, продуцируемые автотрофами и другими организмами. Гетеротрофные бактерии минерализуют большую часть органических веществ до CO_2 [100]. Высокая численность и функциональное разнообразие бактерий делают их ведущими участниками биогеохимических циклов большинства биологически значимых элементов [119]. Гетеротрофные бактерии потребляют низкомолекулярные органические вещества в фикосфере фитопланктона и высокомолекулярные, образованные в результате лизиса клеток фитопланктона, реминерализуя азот и фосфор в среде, что в результате способствует развитию фитопланктона [102, 170, 97]. В целом гетеротрофные бактерии потребляют до половины океанической первичной продукции [102]. Бактерии служат пищей гетеротрофным микрофлагеллятам, которых потребляют представители более высоких звеньев трофической сети [107, 170].

Водная толща Байкала характеризуется высокой численностью бактерий, которые играют важную роль в процессах круговорота веществ и энергии [23]. Микроорганизмы озера Байкал выполняют важную роль в самоочищении водоема и в поддержании условий среды обитания сообществ растительных и животных организмов. В озере Байкал ранее исследовали видовой состав сапрофитных микроорганизмов, вертикальное распределение общей численности микроорганизмов (ОЧМ) и их биомассы [28, 36, 37], сезонную динамику, горизонтальное и вертикальное распределение бактериопланктона в южной котловине озера [55, 32]. Исследованы байкальские микроорганизмы, участвующие в круговороте азота [11], фосфора [43], олигокарбофильные микроорганизмы и их вертикальное распределение [30, 42].

В летний период в трех котловинах озера Байкал в слое 0–25 м ОЧМ составляет от $1,8 \times 10^6$ кл./мл до $4,7 \times 10^6$ кл./мл, количество культивируемых гетеротрофных бактерий на четыре порядка ниже, чем ОЧМ, и составляет от

55 колониобразующих единиц на мл (КОЕ/мл) до 575 КОЕ/мл [6]. В водной толще озера Байкал широко распространены культивируемые бактерии, которые в основном принадлежат родам *Pseudomonas* [11, 30, 42, 43], *Flavobacterium*, *Caulobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus* [44], *Streptomyces* [58]. С помощью анализа клональных библиотек фрагментов генов 16S рРНК в эпилимнионе озера Байкал выявлены некультивируемые представители *Actinobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaaproteobacteria*, *Cytophaga-Flavobacteria*, *Cyanobacteria* [6, 21, 134]. С помощью метода гибридизации *in situ* олигонуклеотидных зондов к основным группам бактерий выявлены представители *Proteobacteria*, *Cytophaga-Flavobacteria* в образцах воды с глубин 0 м, 10 м, 25 м в Южной Байкале (Листвянка–Танхой) и 0 м в районе бухты Песчаная. В исследованных образцах воды отмечено высокое соотношение бактериальных клеток, негибридирующихся с известными зондами, например, на глубине 10 м из 70 % эубактериальных клеток только 15 % гибридизовались с зондами на основные группы бактерий, а 55 % составляли фракцию неопределенных бактерий. Эти данные подтверждают, что в микробном сообществе озера Байкал большую долю составляют микроорганизмы, пока не охарактеризованные по последовательностям 16S рРНК и поэтому не представленные в международной базе данных [7]. С помощью пиросеквенирования ампликонов фрагментов генов 16S рРНК установлено, что в микробном сообществе планктона прибрежной зоны южной котловины озера Байкал доминируют филумы *Bacteroidetes* (*Flavobacterium*, *Sediminibacterium*), *Actinobacteria* (*Planktophila*), *Proteobacteria* (*Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria*) [45].

Таким образом, исследования сообществ микроорганизмов планктона пелагиали озера Байкал имеют многолетнюю историю. Однако исследования фито- и бактериопланктона проводятся, как правило, не независимо друг от друга. Определить характер взаимодействий между бактериями и микроводорослями в эпилимнионе озера Байкал позволит комплексное

исследование сообществ этих организмов, с использованием методов пиросеквенирования, световой и сканирующей электронной микроскопии, и культивирования.

1.3. Современные методы исследования разнообразия микроорганизмов водных экосистем

Классическими методами исследования разнообразия микроорганизмов являются их культивирование, которое дает возможность получать чистые культуры бактерий и охарактеризовывать особенности их метаболизма [38]. Однако в лабораторных условиях удается культивировать не более 1 % микроорганизмов из естественных условий, а 99 % сообщества микроорганизмов составляют их некультивируемые представители [68].

Использование молекулярно-биологических методов анализа ДНК, выделенных из природных образцов, позволяет идентифицировать некультивируемые микроорганизмы и получить более полную информацию о составе микробных сообществ. В качестве основного филогенетического маркера у бактерий в настоящее время используется ген 16S рРНК [103]. Исследование состава микробных сообществ с помощью анализа клональных библиотек фрагментов генов 16S рРНК позволяет идентифицировать несколько десятков-сотен микроорганизмов, однако этого недостаточно для анализа природных микробных сообществ, которые могут содержать несколько тысяч видов бактерий [72, 146].

С разработкой метода пиросеквенирования стало возможно провести анализ нескольких десятков тысяч независимых последовательностей генов 16S рРНК, что позволяет выявить доминирующие и минорные компоненты микробных сообществ [72, 117]. С помощью пиросеквенирования V6 региона гена 16S рРНК было показано, что разнообразие микроорганизмов в морской воде на 1-2 порядка выше [225], чем оценивалось ранее с помощью традиционных методов (несколько сотен видов) [64]. Для оценки биоразнообразия, например, в различных районах Атлантического и Тихого

океанов, каждое полученное в результате пиросеквенирования прочтение (последовательность V6 региона 16S рРНК), сравнивают с последовательностями референсной базы данных V6 регионов 16S рРНК (V6RefDB). Количество филотипов, или операционных таксономических единиц (ОТЕ), определяют при сопоставлении с последовательностями из базы данных V6RefDB. Кроме того, биоразнообразие сообществ определяют с помощью кластерного анализа последовательностей V6 регионов 16S рРНК путем объединения последовательностей в кластеры по разным уровням их сходства (1 %, 3 % и т.д.), соответствующим классификации на уровне вида, рода, семейства и т.п. В этом случае каждый кластер соответствует филотипу (ОТЕ) определенного уровня. С помощью непараметрических индексов ACE и Chao1 оценивается полное биоразнообразие, соответствующее 5-20 тысячам видов [225]. Таким образом, этот метод успешно используется для выявления генетического разнообразия бактериальных сообществ [72, 117]. Для исследования разнообразия сообществ эукариот используют анализ фрагментов генов 18S рРНК [183]. Алгоритм обработки данных пиросеквенирования фрагментов генов 18S рРНК сходен аналогичным процессом для 16S рРНК [72, 89]. С помощью пиросеквенирования генов 18S рРНК можно определить таких представителей эукариот как Bacillariophyta, Chrysophyceae, Phaeophyceae, Chlorophyta, Haptophyta, Rhizaria, Dinophyta, Apicomplexa, Ciliophora, Cryptophyta, Embryophyta, Platyhelminthes, Copepoda, Cnidaria, Fungi [157, 224].

В центре коллективного пользования Лимнологического института СО РАН используется секвенатор нового поколения системы GS FLX компании Roshe на основе технологии пиросеквенирования 454 Life Science для определения состава микробных сообществ донных осадков [248] и подледных сообществ микроорганизмов [81].

1.4. Общая характеристика взаимодействий диатомовых водорослей и гетеротрофных бактерий в водных экосистемах

Бактерии и микроводоросли – организмы, доминирующие по численности в планктоне морских и пресных водоемов. Численность бактерий в водных экосистемах составляет около 10^6 кл./мл, численность фитопланктона варьирует (10^2 - 10^5 кл./мл) в зависимости от размеров и таксономической принадлежности микроводорослей [101]. Диатомеи и бактерии сосуществуют в океане на протяжении более 200 млн лет. В геномах диатомей сотни генов имеют бактериальное происхождение, что, вероятно, сыграло важную роль в разнообразии и эволюционном успехе диатомей [75, 91]. Например, у *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin некоторые из 784 генов, приобретенных от бактерий, вовлечены в использование азота и органического углерода, построение клеточных стенок, ДНК рекомбинацию, цикл орнитин-мочевины [67, 91].

До 40 % фиксированного диатомеями с помощью фотосинтеза углерода расходуется на образование внеклеточных полимерных веществ [125], состоящих на 90 % из полисахаридов [179], количество которых зависит от вида и стадии роста диатомей [128]. Гетеротрофные бактерии стимулируют продукцию экзополимерных веществ у диатомей, прикрепляются к их клеткам с помощью адгезии за счет собственных экзополисахаридов [203] и инициируют формирование агрегатов из клеток диатомей [131]. Завершающие стадии развития диатомей в естественных условиях связаны с образованием агрегатов и последующим их осаждением на дно [66, 152], что является важным процессом в круговороте углерода [127].

Взаимодействия между диатомеями и бактериями являются основой успешного или неблагоприятного их сосуществования и важным фактором разнообразия этих организмов в экосистеме [70]. В различных водных экосистемах типичными представителями бактериопланктона в течение развития фитопланктона с доминированием диатомей являются

Proteobacteria, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* [97, 190, 207, 229]. Количество и состав экзополисахаридов в процессе развития фитопланктона изменяется, что приводит к изменению численности и структуры бактериальных сообществ [78].

Показано, что в олиготрофном озере Стечлин (Германия) при завершении весеннего развития диатомей происходит увеличение численности бактерий. В течение развития фитопланктона состав прикрепленных бактерий изменялся, однако состав свободноживущих бактерий и *Actinobacteria* оставался постоянным [207]. Исследования, проведенные в Атлантическом океане у побережья Северной Америки, показали, что динамика развития бактерий родов *Roseobacter*, *Sulfitobacter* (*Alphaproteobacteria*) и *Cytophaga* (*Bacteroidetes*), которые доминировали во фракциях свободноживущих бактерий (0,22-5 мкм) и бактерий, прикрепленных к частицам (>5 мкм), коррелировала с динамикой развития фитопланктона [206]. В Северном море в течение весеннего развития диатомей выявлена сукцессия бактериальных сообществ. Было установлено, что до начала массового развития диатомей в составе бактериальных сообществ доминировали *Alphaproteobacteria* (41-67 %) (SAR11, *Roseobacter*), затем в течение одной недели развития фитопланктона численность *Bacteroidetes* увеличилась в 5 раз (с $1,5 \times 10^5$ до $7,7 \times 10^5$ кл./мл), в то же время численность *Alphaproteobacteria* (с $2,1 \times 10^5$ до $5,0 \times 10^5$ кл./мл) и *Gammaaproteobacteria* (с $0,8 \times 10^5$ до $1,8 \times 10^5$ кл./мл) только удвоилась. В течение развития диатомей происходила сукцессия видов бактерий, принадлежащих филуму *Bacteroidetes*: род *Ulvibacter* сменял род *Formosa*, затем – род *Polaribacter*. На завершающей стадии развития фитопланктона *Gammaaproteobacteria* достигали пика численности, в пределах этого филума выявлено последовательное развитие сначала *Reinekea* sp., а затем SAR92 [229].

Исследования состава и физиологических свойств бактерий, ассоциированных с диатомовыми водорослями, в основном проводят с

лабораторными культурами. В культурах диатомей разнообразие бактерий ниже, чем в природных образцах фитопланктона, однако выявляют, как правило, бактерий, доминирующих в естественных условиях. Представители *Alphaproteobacteria* (рода *Sulfitobacter*, *Roseobacter*, *Ruegeria* и *Erythrobacter*), *Betaproteobacteria* и *Bacteroidetes* выявлены в культурах диатомей *Dytilum brightwellii* (T. West) Grunow, *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G.Fryxell & Hasle, *Asterionella glacialis* Castracane, *Chaetoceros socialis* H.S.Lauder, *Leptocylindrus danicus* Cleve и *Coscinodiscus* sp. Ehrenberg с помощью анализа фрагментов генов 16S рНК в денатурирующем градиентном геле-электрофорезе (ДГГЭ) [214]. Представители *Alphaproteobacteria* (рода *Roseobacter* и *Sulfitobacter*), *Gammaproteobacteria* и *Bacteroidetes* выявлены в культурах двух видов рода *Pseudo-nitzschia* с помощью анализа клональных библиотек фрагментов генов 16S рНК [138].

Филотипы бактерий, доминирующие в культурах диатомей, могут в естественных условиях встречаться в небольших количествах. Например, с помощью пиросеквенирования фрагментов генов 16S рНК было установлено, что в инокуляте природных проб воды из гиперэвтрофного водоема Барра Бонита (Бразилия) доминировали *Actinobacteria* и в меньшем количестве были представлены *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* и *Bacteroidetes*. В результате сокультивирования аксеничной культуры диатомеи *Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen с этим инокулятом доминирующими таксонами становились *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* и *Bacteroidetes*, а количество *Actinobacteria* значительно снижалось [79]. В ряде других исследований было показано, что *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* являются основными филумами гетеротрофных бактерий, ассоциированных с диатомовыми водорослями. В рамках этих филумов такие рода как *Sulfitobacter*, *Roseobacter*, *Alteromonas* и *Flavobacterium* чаще всего встречаются как ассоциированные с диатомеями [70, 136, 211, 212].

Сукцессия бактериальных сообществ в ходе развития фитопланктона отражает способность определенных групп бактерий использовать для своего метаболизма только определенные субстраты [229]. На ранних стадиях развития фитопланктон выделяет растворимые низкомолекулярные вещества – аминокислоты, органические кислоты, углеводы, спирты, которые служат хемоаттрактантами для бактерий [97]. Подвижные представители рода *Roseobacter* с помощью жгутиков приближаются к клеткам фитопланктона и за счет адгезивных структур прикрепляются к ним. В геномах *Roseobacter* выявлены гены, кодирующие транспортные системы, которые используются для поглощения небольших молекул: АТФ-зависимые транспортеры и вторичные транспортеры, использующие электрохимический градиент для трансмембранного транспорта. Вторичные транспортеры участвуют в переносе органических кислот внутрь клеток бактерий и в секреции вторичных метаболитов ауксинов и витаминов, стимулирующих развитие фитопланктона, и секреции антимикробных веществ, которые позволяют *Roseobacter* конкурировать с другими бактериями при колонизации поверхности клеток фитопланктона. Многие представители *Roseobacter* используют кворум сенсинг сигнальные молекулы (N-ацилгомосерин лактоны) для регуляции продукции антимикробных веществ в зависимости от плотности популяции бактерий [96, 97].

При завершении цветения фитопланктона в результате лизиса их клеток во внешнюю среду выделяются высокомолекулярные соединения – полисахариды, белки, нуклеиновые кислоты, липиды [97]. Численность представителей класса *Flavobacteria* чаще всего, выше период завершения развития фитопланктона [190, 202]. *Flavobacteria* имеют адгезины, позволяющие прикрепляться к субстрату и скользить по его поверхности. В геномах *Flavobacteria* выявлены гены, кодирующие связанные с мембраной и внеклеточные гидролитические ферменты, такие как ламинариказы и β -D-фукозидазы, гидролизующие высокомолекулярные органические вещества, которые не могут проходить через мембраны бактериальных клеток [97].

Flavobacteria имеют высоко эффективные мультиферментные внеклеточные системы, которые связывают крупные молекулы, гидролизуют их и переносят продукты гидролиза через TonB-зависимые транспортные системы [197]. *Flavobacteria* имеют АТФ-зависимые транспортеры и АТФ-независимые транспортеры для транспорта низкомолекулярных компонентов растворенных органических веществ, продуцируемых фитопланктоном. Количество транспортеров у флавобактерий значительно ниже, чем у розеобактеров, что связано с их метаболической стратегией [97].

Характер взаимодействий диатомовых водорослей и бактерий варьирует от мутуализма до антагонизма и конкуренции за биогенные элементы (рис. 1) [70, 101].

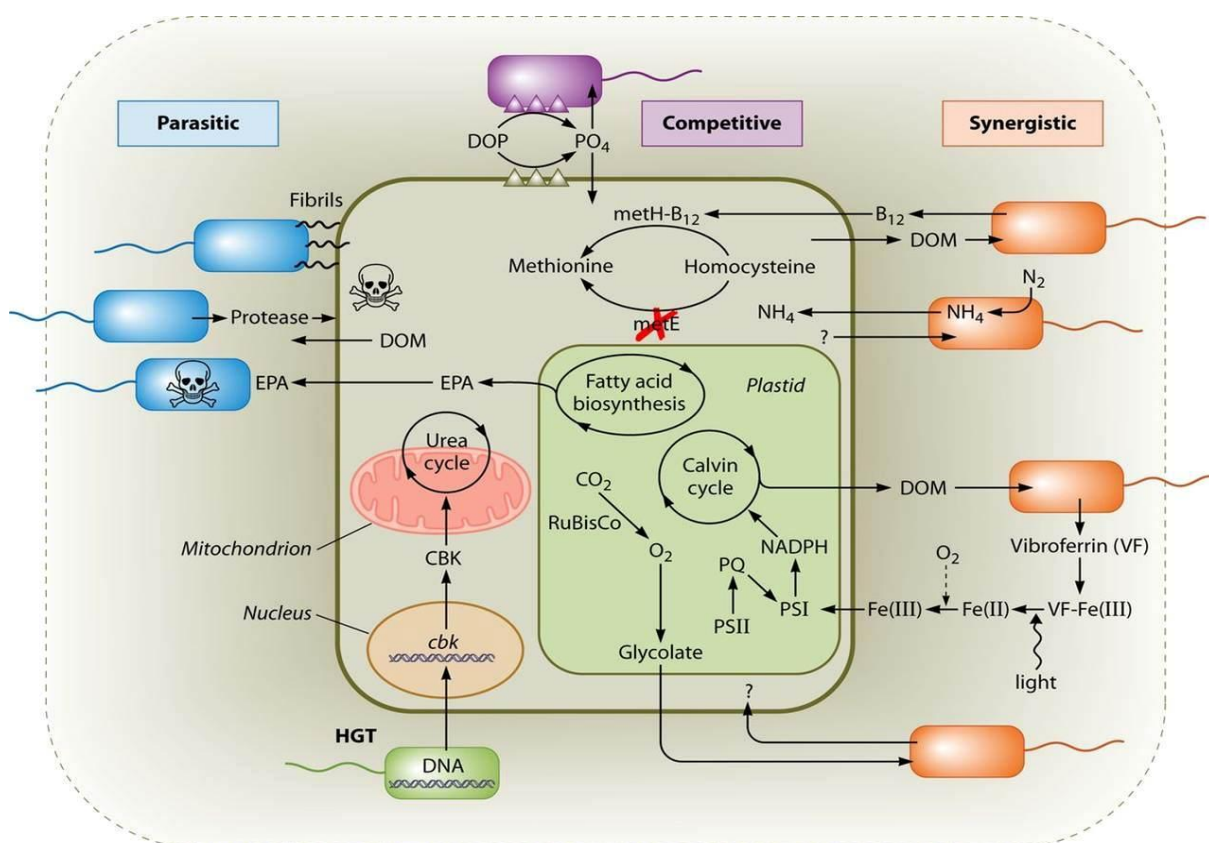


Рис. 1. Типы взаимодействий диатомей и бактерий: фиолетовый – конкурентные; оранжевый – мутуалистические; синий – антагонистические; зеленый – горизонтальный перенос генов. Бактерии – небольшие прямоугольники со жгутиками, клетка диатомей – прямоугольник в центре с темно-зеленой границей, фикосфера – градиентный фон. Процессы, вовлеченные во взаимодействия, обозначены в пределах соответствующих клеток. По Amin *et al.*, 2012 [70].

Некоторым представителям фитопланктона для развития необходимы витамины, которые продуцируют бактерии. Снижение концентраций витаминов в морской воде коррелирует с завершением массового развития диатомей [185, 186]. Витамином, необходимым для развития многих диатомей является кобаламин или B_{12} [113]. При сокультивировании аксеничных культур диатомей с B_{12} -продуцирующими гетеротрофными морскими бактериями численность диатомей увеличивалась [140]. Органические вещества, продуцируемые водорослями, могут стимулировать выработку бактериями витаминов, например, показано, что при добавлении фукоидина, коммерческого экстракта водорослей, в культуральную среду с бактериями рода *Halomonas* у бактерий увеличивалась продукция B_{12} [106] (см. **рис. 1**). Однако крайне низкие потребности многих видов водорослей в кобаламине могут быть свидетельством факультативного, а не обязательного условия синергетических взаимодействий между фитопланктоном и бактериями [114]. Необходимым микроэлементом для развития живых организмов на Земле является железо за счет способности катализировать окислительно-восстановительные реакции, переносить электроны, обратимо связывать и транспортировать кислород. В аэробных условиях морских экосистем растворенное железо присутствует в субнаномолярных количествах, поэтому у микроорганизмов имеется ряд стратегий потребления и конкуренции за этот элемент [92]. Многие морские бактерии синтезируют и выделяют органические соединения – сидерофоры, которые имеют высокое сродство к ионам железа. Бактерии могут обеспечивать фитопланктон биодоступными формами железа, например, бактерии рода *Marinobacter*, ассоциированные с различными культурами микроводорослей, в том числе диатомей, производят сидерофор вибриоферрин [70]. Бактерии потребляют органический углерод, продуцируемый микроводорослями, и с помощью вибриоферрина обеспечивают микроводорослей доступными формами Fe [69] (см. **рис. 1**).

Условием существования бактерий на поверхности клеток микроводорослей является их способность инактивировать H_2O_2 , выделяемую микроводорослями во внешнюю среду в процессе фотосинтеза [5]. Скорость образования H_2O_2 пропорциональна биомассе водорослей и интенсивности солнечного излучения. H_2O_2 обладает цитотоксичностью и способностью к локальному закислению среды, участвуя таким образом в процессах самоочищения водной среды обитания [34]. H_2O_2 рассматривается как ауторегулятор численности водорослевых популяций, поскольку образует высоко реактивный гидроксид-радикал, который ингибирует фиксацию микроводорослями CO_2 . Выделение бактериями каталаз, инактивирующих H_2O_2 микроводорослей, способствует взаимодействиям между этими двумя организмами [9]. Например, бактерии, ассоциированные с антарктической диатомовой водорослью *Amphiprora kufferathii* Manguin, продуцировали каталазы, защищающие диатомею на стационарной фазе роста от окислительного стресса [148].

Взаимодействия между диатомеями и бактериями могут приводить к гибели одного или обоих организмов. Альгицидные бактерии привлекают внимание как средство биоконтроля вредного цветения водорослей [176, 165]. Альгицидные бактерии проникают в фикосферу и выделяют молекулы, вызывающие гибель клеток диатомей. Показано, что флавобактерия *Kordia algicida* выделяет протеазу с массой >30 кДа, которая повреждает клетки диатомей *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G.Fryxell et Hasle, *Phaeodactylum tricornutum*, но не *Chaetoceros didymus* Ehrenberg, что свидетельствует о видоспецифичности антагонистических взаимодействий [189]. Другие альгицидные бактерии вызывают лизис клеток диатомей при прикреплении к ним. Например, *Saprospira* sp. штамм SS98-5 при непосредственном контакте с клетками *Chaetoceros ceratosporum* Ostenfeld приводит к их агрегации и через структуры, сходные с микротрубочками, вызывает лизис клеток диатомей [129] (см. **рис. 1**).

Диатомеи секретируют жирные кислоты и эфиры, имеющие антибактериальный эффект [168]. Например, было выявлено что *Navicula delognei* Van Heurck синтезирует и выделяет гексадекатетраеновую и октадекатетраеновую кислоты и эфир (Е)-фитол, имеющие антибактериальную активность против патогенных микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris* и *Salmonella enterica* [122]. *N. delognei* и *P. tricorutum* производят гексадекатриеновую кислоту, которая токсична для морской патогенной бактерии *Listonella anguillarum* [110, 122]. *P. tricorutum* продуцирует пальмитолеиновую и эйкозапентаеновую кислоты (ЭПК), которые ингибируют рост грамположительных бактерий [110]. ЭПК имеет слабое ингибирующее влияние на рост многих морских бактерий [111]. Диатомеи при повреждении копеподами продуцируют полиненасыщенные альдегиды [243], которые являются важным фактором защиты диатомей от консументов [149] и проявляют антибактериальную активность в отношении некоторых морских бактерий [200] (см. **рис. 1**).

Конкуренция микроорганизмов за необходимые питательные вещества широко распространена во многих экосистемах. Фитопланктон в океане развивается в дефиците макроэлементов (азота и фосфора) и микроэлементов (железо). Для бактерий кроме азота, фосфора и железа дефицитным является углерод. Бактерии ассимилируют фосфат эффективнее, чем фитопланктон, особенно при его низких концентрациях, что показано в естественных условиях [232] и лабораторных экспериментах [139] (см. **рис. 1**). Цианобактерии могут обеспечивать диатомей источниками азота. Например, в присутствии диатомей *Rhizosolenia* Brightwell, *Chaetoceros* Ehrenberg и *Hemiaulus* Heiberg цианобактерии *Richelia* и *Calothrix* фиксировали азот в избыточном количестве [126]. Микроводоросли и бактерии конкурируют за источники азота. Например, при исследовании в микрокосме бентосные микроводоросли вытесняли аммоний-окисляющих бактерий, снижая количество аммония в осадках [204].

Таким образом, результаты различных исследований отражают разнообразие взаимодействий между диатомовыми водорослями и бактериями в водных экосистемах – от мутуализма до конкуренции за биогенные элементы.

ГЛАВА 2. Объекты и методы исследования

2.1. Объекты исследования

Материалами для исследования были пробы воды эпилимниона озера Байкал, которые были отобраны 27 мая – 6 июня 2011 г., 3 июня – 11 июня 2012 г., 29 мая – 7 июня 2013 г. с бортов НИС «Верещагин» и «Академик Коптюг». Для анализа состава и количественных характеристик фито- и бактериопланктона пробы воды отбирали с помощью системы батометров SBE-32 (CarouselWaterSampler, фирмы Sea-BirdElectronics, Inc.USA) с глубин 0 м, 5 м, 10 м, 15 м, 20 м, 25 м в стерильные флаконы объемом 0,5 л согласно общепринятым методикам [39, 53]. Для анализа альго-бактериальных ассоциаций отбирали пробы фитопланктона сетью Джели (с размером ячеек 50 мкм) с глубин 0–25 м в стерильные флаконы объемом 0,2 л. Отбор проб осуществлялся на стандартных гидрологических разрезах в южной котловине (9 станций), в средней котловине (11 станций), в северной котловине (10 станций) (**рис. 2**). Координаты станций отбора проб приведены в **таблице 1**. Всего за период исследований в ходе комплексных кругобайкальских экспедиций было отобрано проб воды для анализа химических параметров – 158; состава и количественных характеристик фитопланктона – 82; общей численности бактерий – 59; численности бактерий, культивируемых на питательных средах, – 937; для выделения суммарной ДНК – 34; сетных проб фитопланктона для анализа альго-бактериальных ассоциаций – 60. Данные по температуре предоставлены сотрудниками Лаборатории гидрологии и гидрофизики ЛИН СО РАН – Р. Ю. Гнатовским и к.г.н. В. В. Блиновым; анализ химических параметров проводили сотрудники Лаборатории гидрохимии и химии атмосферы ЛИН СО РАН – к.г.н. В. М. Домышевой и к.г.н. М. В. Сакирко; анализ фитопланктона – сотрудники Отдела ультраструктуры клетки ЛИН СО РАН – д.б.н. Г. И. Поповская и к.б.н. М. В. Усольцева.

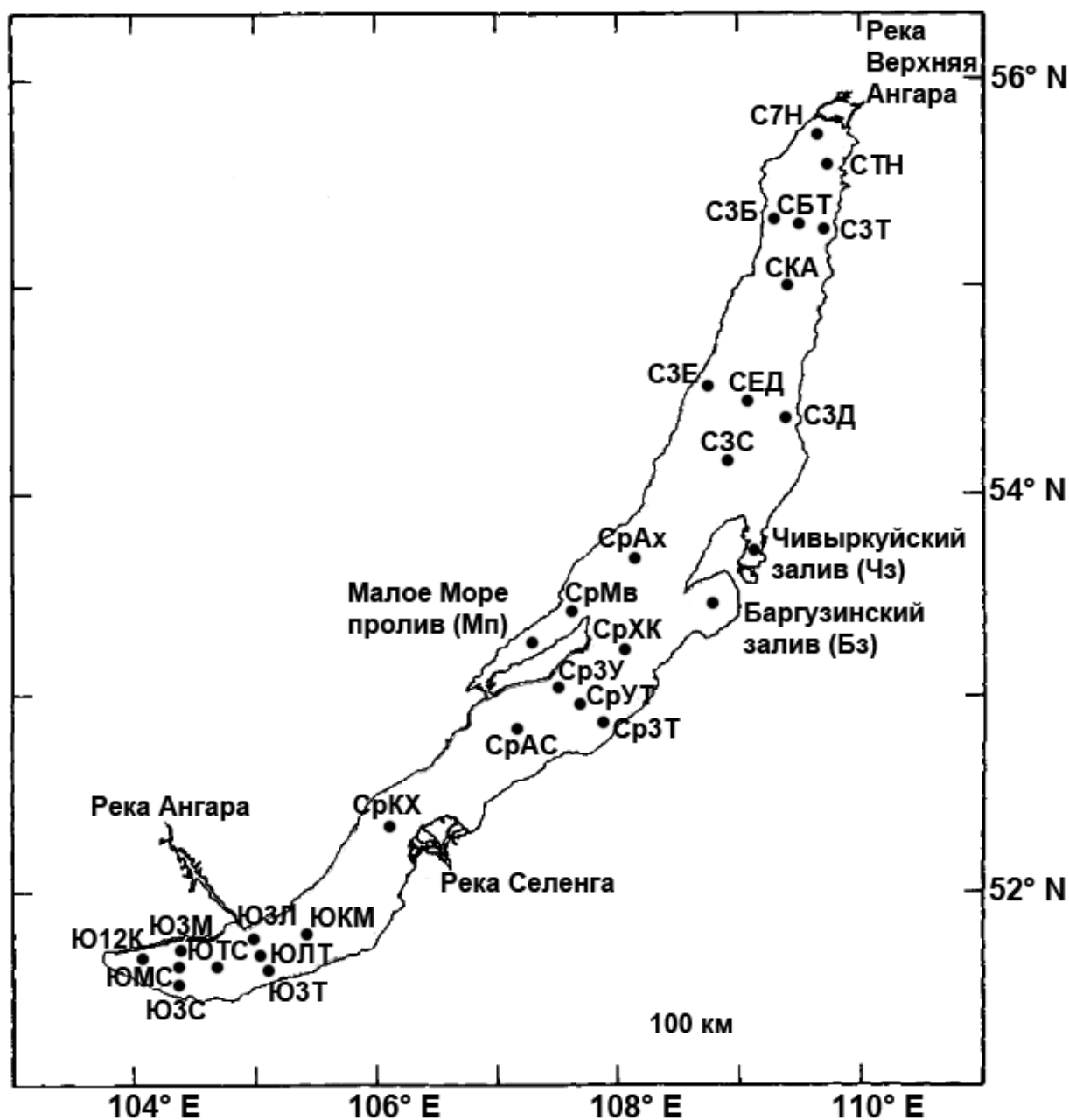


Рис. 2. Карта-схема станций отбора проб в озере Байкал. Южный Байкал: Ю12К – 12 км от Култука; Ю3М – 3 км от Маритуйа; ЮМС – Маритуй – Солзан; Ю3С – 3 км от Солзана; ЮТС – Толстый – Снежная; Ю3Л – 3 км от Листвянки; ЮЛТ – Листвянка – Танхой; Ю3Т – 3 км от Танхоя; ЮКМ – Кадильный – Мишиха. Средний Байкал: СрКХ – Красный Яр – Харауз; СрАС – Анга – Сухая; Ср3У – 3 км от Ухана; СрУТ – Ухан – Тонкий; Ср3Т – 3 км от Тонкого; СрХК – Хобой – Крестовый; Бз – Баргузинский залив; Чз – Чивыркуйский залив; Мп – пролив Малое Море центр; СрМв – пролив Малое Море выход; СрАх – Академический хребет. Северный Байкал: С3С – Заворотный – Сосновка; С3Е – 3 км от Елохина; СЕД – Елохин – Давша; С3Д – 3 км от Давши; СКА – Котельниковский – Амнундакан; С3Б – 3 км от Байкальского; СБТ – Байкальское – Турали; С3Т – 3 км от Турали; СТН – Тья – Немнянка; С7Н – 7 км от Нижнеангарска.

Таблица 1

Координаты и глубина на станциях отбора проб в озере Байкал

Котловины Байкала	Название станции	Код станции	Широта	Долгота	Глубина, м
Южная	12 км от Култука	Ю12К	51°40,578	103°52,309	1253
	3 км от Маритуя	Ю3М	51°45,546	104°13,222	1340
	Маритуй – Солзан	ЮМС	51°38,710	104°13,715	1258
	3 км от Солзана	Ю3С	51°31,428	104°14,417	256
	Толстый – Снежная	ЮТС	51°36,402	104°44,147	1118
	3 км от Листвянки	Ю3Л	51°49,033	104°54,616	1338
	Листвянка – Танхой	ЮЛТ	51°42,262	105°00,720	1425
	3 км от Танхоя	Ю3Т	51°35,440	105°06,968	675
Кадильный – Мишиха	ЮКМ	51°46,731	105°22,528	1436	
Средняя	Красный Яр – Харауз	СрКХ	52°20,722	106°03,870	261
	Анга – Сухая	СрАС	52°39,590	106°50,978	1170
	3 км от Ухана	СрЗУ	53°02,955	107°25,657	1609
	Ухан – Тонкий	СрУТ	52°53,630	107°31,001	1565
	3 км от Тонкого	СрЗТ	52°44,618	107°38,801	548
	Хобой – Крестовый	СрХК	53°21,278	108°13,078	1629
	Малое море выход	СрМв	53°26,563	107°40,447	334
	Академический хребет	СрАх	53°38,063	108°07,495	400
Северная	Заворотный – Сосновка	СЗС	54°16,860	108°44,473	898
	3 км от Елохина	СЗЕ	54°31,829	108°42,310	879
	Елохин – Давша	СЕД	54°27,052	109°04,164	857
	3 км от Давши	СЗД	54°22,754	109°25,314	92
	Котельниковский – Амнундакан	СКА	55°02,388	109°25,939	764
	3 км от Байкальского	СЗБ	55°20,966	109°14,635	557
	Байкальское – Турали	СБТ	55°19,487	109°28,707	804
	3 км от Турали	СЗТ	55°17,537	109°42,947	533
	Тыя – Немнянка	СТН	55°33,968	109°35,597	660
	7 км от Нижнеангарска	С7Н	55°42,876	109°36,573	485
Заливы, пролив	Баргузинский залив	Бз	53°27,245	108°44,387	156
	Чивыркуйский залив	Чз	53°42,564	109°06,384	10
	Малое Море пролив	Мп	53°14,500	107°15,416	86

2.2. Методы исследования

Для определения общей численности микроорганизмов (ОЧМ) использовали световую эпифлуоресцентную микроскопию. Для этого 5 мл интегральной пробы воды (с глубин 0 м, 5 м, 10 м, 15 м, 20 м, 25 м) фиксировали 1 % р-ром глутарового альдегида и окрашивали флуорохромным красителем ДАФИ (4,6-диамино-2-фенилиндол) (Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 1 мкг/мл в течение 2-3 мин. Затем окрашенную пробу осаждали на поликарбонатный фильтр (Millipore, Ирландия) с диаметром пор 0,2 мкм с помощью фильтровальной установки (Sartorius, Германия). Фильтры промывали стерильной водой, помещали на предметное стекло в каплю иммерсионного нефлуоресцирующего масла (МиниМед, Россия), выдерживали в темноте 20 мин [25, 241]. Полученные препараты анализировали с помощью инвертированного микроскопа Axiovert 200 (Zeiss, Германия) с ультрафиолетовой лампой HBO 50W/AC ASRAM при спектре возбуждения 365 нм. Для подсчета бактериальных клеток просматривали не менее 20 полей зрения на образец, вычисление ОЧМ проводили, как описано ранее [132]. Численность бактерий, ассоциированных с клетками фитопланктона, подсчитывали в 1000 полях зрения. Микрофотографии получали камерой PIXERA Penguin 600CL с программным обеспечением AXIOSET.

Для культивирования органотрофных бактерий из природных образцов и лабораторных культур диатомей использовали рыбо-пептонный агар, разбавленный в 10 раз (РПА/10) согласно ранее опубликованной методике [16] и диатомовый агар (ДА) по методике, предложенной Захаровой с соавт. [25]. При подборе сред учитывали, что микроорганизмы, развивающиеся в течение цветения фитопланктона, имеют гетеротрофный тип обмена веществ и являются типичными обитателями пресных водоемов с нейтральным рН. В результате была использована среда с гидролизатом диатомовых водорослей (ДА) для выявления микроорганизмов,

использующих в качестве питательных веществ органические экзаметаболиты и компоненты клеток диатомовых водорослей. Посевы выполняли глубинным способом в 3-х повторностях и культивировали при температуре 25 °С. Учет численности колоний и выделение чистых культур бактерий проводили согласно общепринятым методикам. Окрашивание по Граму проводили для всех чистых культур бактерий [39]. При изучении морфологии бактерий использовали световые микроскопы Axiostar Plus и Axiovert 200 (Zeiss, Германия) при увеличении $\times 1000$. Для установления таксономической принадлежности выделенных штаммов проведены исследования с использованием молекулярно-биологических методов на основе анализа последовательностей фрагментов генов 16S рРНК.

Для выделения ДНК биомассу бактерий собирали со скошенного агара в 3 мл ТЕ-буфера, центрифугировали 30 мин при 16100 об./мин (Eppendorf 5414, Германия) и сливали супернатант. К осадку добавляли 400 мкл ТЕ-буфера и лизоцим (конечная концентрация 1 мкг/мл) и инкубировали при 37 °С в течение 60 мин, затем добавляли 10 % ДДС-Na (конечная концентрация 1 %) и выдерживали при комнатной температуре 10 мин. Однократно замораживали при -20 °С и растаивали при 56 °С. Для очистки ДНК от белков и полисахаридов к лизату добавляли фенол и выдерживали в течение 10 мин непрерывно перемешивая, затем центрифугировали 10 мин (16100 об./мин), отбирали верхнюю фазу, и к ней добавляли смесь фенол : хлороформ : изоамиловый спирт (25:24:1), выдерживали 10 мин и центрифугировали 10 мин (16100 об./мин), отбирали верхнюю фазу и добавляли смесь хлороформ : изоамиловый спирт (24:1), выдерживали 10 мин, центрифугировали 10 мин (16100 об./мин), отбирали верхнюю фазу. ДНК осаждали 1/10 объема 3 М ацетата натрия и 2 объемами абсолютного этанола, выдерживали ночь при -20 °С, затем центрифугировали 30 мин (16100 об./мин), дважды промывали 70 % этанолом и высушивали на воздухе, осадок ДНК растворяли в 100 мкл 1 \times ТЕ-буфера [248].

Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с высококонсервативными олигонуклеотидными праймерами 27L, 500L и 1350R. Реакционная смесь (20 мкл) содержала: ПЦР-смесь-2-red (конечные концентрации: 1×ПЦР-буфер; 0,1 ед./мкл *Taq*-ДНК полимеразы; 2,2мМ Mg^{2+} ; крезол красный); 0,2 мМ 10× dNTP-mix; по 0,1 мкМ соответствующих праймеров: 27L-AGAGTTTGATCATGGCTCAG или 500L-CGTGCCAGCAGCCGCGGТАА, 1350R-GACGGGCGGTGTGTACAAG; H₂O стерильная; 1 мкл ДНК в качестве матрицы. Амплификацию проводили в автоматическом амплификаторе «БИС» М-111 (БИС-Н, Новосибирск) в следующем режиме: 94 °С – 2'; 94 °С – 30", 55 °С – 40", 72 °С – 50" – 25 циклов; 72 °С – 2'. Полученные продукты реакции анализировали в 1 %-ном агарозном геле. Полосы ПЦР продуктов, соответствующих по размерам вставкам фрагмента гена 16S рРНК, вырезали и очищали с помощью колонок набора CleanupStandard (Евроген, Россия). Концентрации очищенных ПЦР продуктов измеряли с помощью спектрофотометра Smart Spec Plus (BioRad, США).

Секвенирование фрагментов гена 16S рРНК проводили с использованием BigDye V 3.1 Terminator Cycle sequencing kit и AmpliTaqDNA polymerase FS (Applied Biosystems, ABI) и реакции анализировали на секвенаторе ABI 3130XL Genetic Analyser в ЦКП «Геномика» (Новосибирск). Анализ полученных нуклеотидных фрагментов проводили путем поиска гомологичных последовательностей в базах данных (GenBank, EMBL, DDBL) с помощью программы BLASTN. Филогенетические деревья последовательностей фрагментов гена 16S рРНК строили с помощью программ BioEdit и MEGA5.1.

Для определения общей численности и биомассы фитопланктона интегральные пробы воды (по 200 мл с горизонтов 0 м, 5 м, 10 м, 15 м, 20 м, 25 м, общий объем 1,2 л) фиксировали раствором Люголя [53]. В 100 мл фиксированных проб, сконцентрированных до 30 мл, подсчитывали клетки фитопланктона на световом микроскопе AxiostarPlus (Zeiss, Германия) при

увеличении $\times 200$ и $\times 400$ в трех повторностях и оценивали общую численность по методике Г. В. Кузьмина [29]. Биомассу рассчитывали по методу «истинного объема» клеток фитопланктона [8, 31], вычисленного по их средним размерам, измеренным по микрофотографиям (программа Axiovision, Zeiss, Германия). Видовой состав фитопланктона определяли по методическому пособию [8].

Для определения видового состава диатомовых водорослей пробы инкубировали с 30 % раствором H_2O_2 при $80\text{ }^\circ\text{C}$ в термостате в течение 2 ч, затем оставляли на ночь в выключенном термостате, осадок промывали дистиллированной водой пятикратно и центрифугировали при 13200 об./мин (MiniSpin, Eppendorf, Германия). Образец наносили на столик для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и напыляли золотом в вакуумной установке SDC 004 (Balzers, Лихтенштейн). Препараты анализировали с помощью СЭМ Philips SEM 525-M (Philips, Голландия) и Quanta 200 (FEI Company, США). Видовой состав диатомовых водорослей определяли по атласу-определителю [53].

Для выявления особенностей морфологии ассоциаций диатомовых водорослей и бактерий проводили микроскопические исследования. Природную сетную пробу фитопланктона фиксировали 1 % раствором глутарового альдегида, наносили на поликарбонатные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм (Millipore, Ирландия) и высушивали. Обезвоживание образца проводили в серии растворов этанола 30 %, 50 %, 70 %, 96 % (по 10 мин), затем высушивали. Фильтр с образцом укрепляли на столик для СЭМ с помощью двустороннего скотча, затем напыляли золотом в вакуумной установке SDC 004 (Balzers, Лихтенштейн). Образцы анализировали с помощью СЭМ Philips SEM 525-M и Quanta 200.

Для выделения моноклональных культур диатомовых водорослей проводили отбор проб весеннего фитопланктона в 2011–2012 гг. из разных районов озера Байкал. Культуры диатомей выращивали в колбах Эрленмейера объемом 1 л при температуре $10\text{ }^\circ\text{C}$ в условиях периодического

перемешивания и искусственном освещении в среде DM следующего состава, мг/л: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ – 20; KH_2PO_4 – 12,4; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 25; NaHCO_3 – 16; $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ – 2,25; H_3BO_3 – 2,48; $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ – 1,39; $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 1; цианкобаламин (витамин B_{12}) – 0,04; тиамин гидрохлорид (витамин B_1) – 0,04; биотин – 0,04; $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 42,6; FeCl_3 – 1,6 [233].

Для определения таксономического состава бактерий, ассоциированных с диатомовыми водорослями, проводили анализ последовательностей фрагментов генов 16S рРНК. Лабораторные культуры диатомовых водорослей на экспоненциальной стадии роста (через 10 сут. культивирования) осаждали на поликарбонатные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм (Millipore, Ирландия), затем биомассу смывали в стерильные флаконы с 5 мл ТЕ-буфера (10 мМ трис-НСl; рН 7,5, 1 мМ ЭДТА) и хранили при -20°C . Суммарную ДНК из полученной биомассы выделяли, как описано выше. Амплификацию фрагментов генов 16S рРНК проводили с помощью ПЦР с праймерами 27L, 500L и 1350R, как описано выше. Продукты амплификации фрагментов генов 16S рРНК лигировали с помощью набора CloneJET™ PCR Cloning Kit в плазмиду рJET. Лигирование и трансформацию выполняли согласно описанной ранее методике [150]. Отдельные колонии переносили в 50 мкл стерильной H_2O , инкубировали 5 мин при 90°C , хранили при -20°C . Клоны анализировали с помощью ПЦР, используя 1 мкл суспензии экстрагированных клеток и праймеры, комплементарные плазмиде рJET – рJET1.2F 5'-CGACTCACTATAGGGAGAGCGGC-3' и рJET1.2R 5'-AAGAACATCGATTTTCCATGGCAG-3'. Амплификацию проводили в автоматическом амплификаторе «БИС» М-111 (БИС-Н, Новосибирск) в следующем режиме: 95°C – 3'; 94°C – 30", 60°C – 30", 72°C – 45" – 25 циклов; 72°C – 2'. Полученные ампликоны ПЦР анализировали в 1 %-ном агарозном геле. Полосы ПЦР продуктов, соответствующих по размерам вставкам фрагмента гена 16S рРНК, вырезали и чистили с помощью колонок

набора CleanupStandard (Евроген, Россия). Концентрации очищенных ПЦР продуктов измеряли с помощью спектрофотометра SmartSpecPlus (BioRad, США). Секвенирование фрагментов генов 16S рРНК и анализ полученных нуклеотидных фрагментов проводили, как описано выше.

Для пиросеквенирования интегральные пробы воды (по 200 мл с горизонтов 0, 5, 10, 15, 20, 25 м, общий объем 1,2 л) осаждали на 0,2 мкм поликарбонатные фильтры (Millipore, Ирландия), затем биомассу смывали в стерильные флаконы с 5 мл ТЕ-буфера (10 mM трис-HCl; pH 7,5; 1 mM EDTA) и хранили при -70 °С. Суммарную ДНК выделяли из биомассы, как описано выше.

Аmplификацию фрагментов генов 16S рРНК, кодирующего V3–V4 петлю, проводили с использованием универсальных праймеров U341F (CCTACGGGRSGCAGCAG) и U758R (GGACTACCVGGGTATCTAAKCC) в автоматическом амплификаторе «БИС» М-111 (БИС-Н, Новосибирск) в следующем режиме: 96 °С – 2'; 96 °С – 30", 58 °С – 45", 72 °С – 40" – 30 циклов; 72 °С – 10'.

Аmplификацию фрагмента гена 18S рРНК, кодирующего V3 петлю, с праймерами F (ATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGG) и R (CTGGAATTACCGCGGSTGCTG) [183] в автоматическом амплификаторе «БИС» М-111 (БИС-Н, Новосибирск) в следующем режиме 98 °С – 1 мин; 98 °С – 15 с, 65 °С – 30 с, 72 °С – 30 с – 25 циклов; 72 °С – 7 мин.

Пиросеквенирование ампликонов проводили на платформе GS FLX 454 (Roche, США) с использованием реагентов серии Titanium по протоколу «GS FLX Titanium Sequencing Method Manual» в соответствии с рекомендациями производителя в Лимнологическом институте СО РАН (Иркутск).

Для метагеномного анализа данные пиросеквенирования анализировали с помощью пакета программного обеспечения Mothur 1.19.0 [215]. Для устранения ошибок полученные чтения анализировали по алгоритму Rungoise [195], отбирали последовательности протяженностью

350-450 п. н. и выравнивали с последовательностями генов 16S рРНК бактерий из базы данных Silva [http://www.mothur.org/wiki/Silva_reference_files]. Для упрощения набора данных чтения, отличающиеся на два нуклеотида, группировали. Химерные последовательности выявляли по алгоритму UCHIME [116] со стандартными параметрами. Полученные чтения классифицировали по таксономии Ribosomal Database Project (RDP) [103] с бутстреп-значением достоверности выше 80 % и группировали в операционные таксономические единицы (ОТЕ) с дистанцией 0,03. Для характеристики α -разнообразия микробных сообществ рассчитывали количество ОТЕ – богатство, индексы ACE, Chao1, обратный индекс Симпсона. Для характеристики β -разнообразия сообществ бактерий и одноклеточных эукариот был проведен кластерный анализ на основе матрицы различных ОТЕ и их количества в образцах, используя индекс сходства Брея-Кёртиса, рассчитанные в Mothur и представленные в виде МГК графиков и UPGMA дендрограмм. Для сравнения бактериальных сообществ использовали диаграммы Венна [156].

Для определения химических компонентов в пробах воды проводили измерения концентраций кислорода, фосфатов, нитратов, кремнекислоты. Кислород, растворенный в воде, измеряли объемным йодометрическим методом (по Винклеру) с относительной ошибкой 1 % [56, 240]. Для определения концентраций фосфатов использовали спектрофотометрический метод с образованием фосфорномолибденовой гетерополикислоты с последующим восстановлением ее хлористым оловом (погрешность метода 5 %) [57]. Содержание нитратов определяли с сульфифеноловым раствором (погрешность метода 5 %) [57]. Для определения кремнекислоты использовали метод, основанный на измерении интенсивности окраски желтой кремнемолибденовой гетерополикислоты (погрешность метода 5 %) [56].

Измерение температуры проводили с помощью STD-зонда SBE-25 (Sea-Bird Electronics, США).

Флуоресцирующий краситель нильский красный получали с помощью растворения 100 мг красителя нильского голубого (НеваРеактив, Санкт-Петербург, Россия) в 500 мл 0,5 % H_2SO_4 в круглодонной колбе ($V=1000$ мл) и кипячении смеси с обратным холодильником на песчаной бане в течение 2 ч. После охлаждения смеси до комнатной температуры проводили экстрагирование 100 мл диметилбензола (трижды), экстракты объединяли и концентрировали на ротационном испарителе досуха. Краситель нильский красный (9 мг) был идентифицирован по ультрафиолетовому и инфракрасному спектрам [109].

Для окрашивания липидных тел в клетках диатомей к 100 мкл предварительно сконцентрированных и нефиксированных клеток диатомеи *S. acus* subsp. *radians* ($3-4 \times 10^5$ кл./мл) добавляли 10 мкл стокового раствора нильского красного в ацетоне (2 мг/мл), смесь выдерживали в течение 5 мин. Пробы помещали на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и анализировали на инвертированном микроскопе Axiovert 200 (Zeiss, Германия), ультрафиолетовая лампа HBO 50W/AC ASRAM. Микрофотографии получали камерой PIXERA Penguin 600CL с программным обеспечением AXIOSET.

Для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) клетки диатомеи *S. acus* subsp. *radians* концентрировали на поликарбонатном 5 мкм фильтре (Millipore, Ирландия) с помощью фильтровальной установки (Sartorius, Германия). Клетки отбирали на разных стадиях роста культуры – экспоненциальной ($1,5-2,0 \times 10^4$ кл./мл) и на стационарной $3,5-4,0 \times 10^4$ кл./мл. В среду с клетками добавляли глутаровый альдегид (Sigma-Aldrich, Германия) до конечной концентрации 2,5 %, через 30 мин добавили OsO_4 (Merck KGaA, Германия) до конечной концентрации 1 % на 10 мин. После этого клетки отмывали в среде DM 3 раза и заключали в 1 % агар (Helicon, Москва). Обезвоживание проводили в серии растворов этанола 10, 30, 50, 70, 80, 96 %, затем – в обезвоженных сульфатом меди этаноле и ацетоне по 3 мин в каждом растворе. Обезвоженный материал пропитывали в трех смесях

эпоксидной смолы Araldit 502 Kit (SPI, США) и ацетона в соотношениях 1:2, 1:1, 2:1 по 6 ч и в чистой эпоксидной смоле – 12 ч. Затем материал переносили в смесь смолы с катализатором (250 мкл DMP-30 (SPI, США) на 20 мл смолы) и полимеризовали в термостате при 60 °С (3 сут.). Ультратонкие срезы делали алмазным ножом ULTRA 35 (Diatom, Швейцария) на микротоме Ultracut R (Leica, Австрия). Срезы помещали на палладиевые сетки и контрастировали в цитрате свинца по Рейнольдсу [199]. Исследование образцов проводили на ТЭМ Leo 906 E (Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 80 kV. Фотографии получены камерой MegaView II (Zeiss, Германия) и обработаны в программе MegaVision.

Для выделения липидов клетки диатомовой водоросли *S. acus* subsp. *radians* осаждали фильтрованием на поликарбонатный мембранный фильтр (Millipore, Ирландия) с диаметром пор 5 мкм при помощи вакуумной установки (Sartorius, Германия). Полученный осадок клеток на фильтре промывали стерильной средой DM. Экстракцию липидов проводили в пластиковых пробирках (объем 5 мл) с завинчивающейся крышкой. К 50 мг клеток добавляли 2 мл смеси метанола с хлороформом (2/1, v/v) при температуре 5 °С. Для разделения органической и водной фаз к смеси дополнительно добавляли 1 мл хлороформа и 1 мл воды и оставляли образцы на ночь при температуре 5 °С. На следующий день слой хлороформа отделяли, высушивали над безводным Na₂SO₄ и концентрировали в токе аргона.

Для получения метиловых эфиров жирных кислот общие липиды, выделенные из биомассы в количестве 10-20 мг, суспендировали в 0,2 мл 2 % раствора H₂SO₄ в метаноле, смесь выдерживали 1 ч при 75 °С в пробирке с плотно закрытой крышкой. Смесь охлаждали, добавляли несколько капель воды и проводили экстракцию метиловых эфиров жирных кислот 0,2 мл n-гексана (трижды). Экстракты объединяли и концентрировали в токе аргона. Для последующего анализа метиловых эфиров жирных кислот методом ГХ-МС полученный остаток растворяли в 300 мкл n-гексана.

Анализ метиловых эфиров жирных кислот проводили на хроматомасс-спектрометре Agilent, GC 6890, MSD 5973 с капиллярной колонкой DB-5MS (30 м × 0,25 мм, 250 мкм) (Agilent Technologies, США) при следующих условиях: нагрев колонки от 160 до 300 °С со скоростью 2 °С/мин с последующим выдерживанием температуры 300 °С в течение 20 мин; температура инжектора 290 °С; квадруполь 150 °С; объем вводимого в колонку образца 0,002 мл. Детектирование пиков проводили в режиме полного сканирования масс-спектров в диапазоне масс от 50 до 500 а.е.м., скорости сканирования 0,1 с и энергии ионизации 70 эВ.

Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам [15] с использованием программного пакета Microsoft Excel 7.0 для Windows 7. Для полученных данных рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение.

ГЛАВА 3. Среда обитания альго-бактериальных сообществ эпилимниона озера Байкал

3.1. Физико-химические условия и характеристика фитопланктона в эпилимнионе озера Байкал

Фактором среды, определяющим развитие альго-бактериальных сообществ в эпилимнионе озера Байкал, является содержание в воде биогенных элементов – углерода, азота, фосфора и кремния. Углерод поступает в водные экосистемы в виде углекислоты из атмосферы и преобразуется водорослями с помощью фотосинтеза в органические вещества, которые потребляет гетеротрофный бактериопланктон. Азот усваивается организмами в форме нитрат-иона и ионов аммония, которые поступают в озера в основном из их водосборных бассейнов и из атмосферы, а частично – за счет деятельности некоторых цианобактерий, усваивающих азот из атмосферы. Соединения фосфора в растворимой и усваиваемой организмами форме поступают в озера с водами их притоков и с атмосферными осадками, растворимые формы кремния поступают из водосборных бассейнов в результате выветривания горных пород. Кроме того, эти биогенные элементы поступают в водную толщу озер при разложении отмерших организмов из озерных осадков [12, 19]. В период весенней конвекции вертикальный обмен водных масс приводит к подъему биогенных элементов с придонных слоев воды в поверхностные, что стимулирует развитие фитопланктона [60, 239].

Для характеристики физико-химических условий и фитопланктона в эпилимнионе озера Байкал в период наших исследований в 2011-2013 гг. были использованы данные, полученные в ходе совместных комплексных экспедиций по озеру Байкал: данные по температуре (**прил. 1**) предоставлены сотрудниками Лаборатории гидрологии и гидрофизики ЛИИ СО РАН – Р. Ю. Гнатовским и к.г.н. В. В. Блиновым; данные по рН, концентрациям кислорода и биогенных элементов (см. **прил. 1**) –

сотрудниками Лаборатории гидрохимии и химии атмосферы ЛИН СО РАН – к.г.н. В. М. Домышевой и к.г.н. М. В. Сакирко; данные по составу и количественным характеристикам фитопланктона – сотрудниками Отдела ультраструктуры клетки ЛИН СО РАН – д.б.н. Г. И. Поповской и к.б.н. М. В. Усольцевой.

В весенне-летний период 2011-2013 гг. на станциях южной котловины озера температура поверхностных вод варьирует от 2,01 °С до 4 °С; средней котловины – от 1,83 °С до 3,63 °С, за исключением станции 3 км от Тонкого (Ср3Т) в 2012 г. – 5,42 °С (рис. 3). В северной котловине температура поверхностных вод в 2011 г. и 2013 г. варьирует в диапазоне 1,33-2,09 °С, за исключением станции 3 км от Байкальского (С3Б) в 2011 г. – 3,11 °С. В 2012 г. на станциях, расположенных 3 км от западного побережья северной котловины (СЗД, СЗТ, СТН), температура воды составит 4,55-5,15 °С, на других станциях этой котловины – 2,42-3,87 °С (см. рис. 3). В Баргузинском заливе (Бз) и проливе Малое Море (Мп) значения температуры сходные с другими районами озера. В Чивыркуйском заливе (Чз) температура воды варьирует от 4,53 °С в 2013 г. до 8,3 °С в 2012 г. (см. рис. 3).

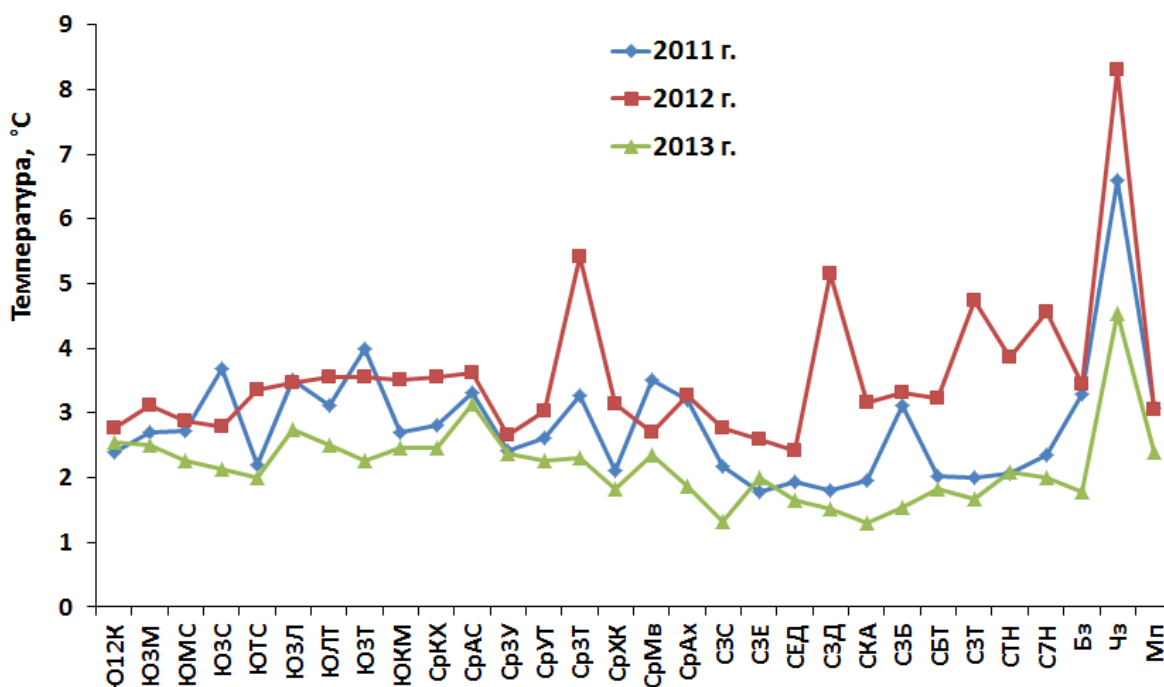


Рис. 3. Температура поверхностных вод (0 м) в озере Байкал в весенне-летний период 2011-2013 гг.

Таким образом, температура поверхностных вод в озере Байкал в период исследований в 2012 г. (2,42–5,42 °С) выше, чем в 2011 г. (1,78–4 °С) и 2013 г. (1,29–2,75 °С). Межгодовая изменчивость температуры воды озера в этот период связана с погодными условиями и временем вскрытия озера ото льда, которые в эти годы различались [22]. Различия в температуре воды по котловинам можно объяснить неравномерностью весеннего прогрева вод Байкала с юга на север, что является следствием значительной протяженности озера [10].

В эпилимнионе озера на глубинах 0 м и 25 м значения рН, концентрации кислорода и биогенных элементов отличаются незначительно (см. **прил. 1**). Значения рН варьируют в диапазоне 7,65-8,27 (см. **прил. 1**); концентрации кислорода (O_2) – 11,58-13,64 мг/л (**рис. 4**), кремния (Si) – 0,41-0,96 мг/л (**рис. 5**), фосфатов (PO_4^{3-}) – 0,014-0,031 мг/л (**рис. 6**), нитратов (NO_3^-) – 0,22-0,39 мг/л (**рис. 7**). В Чивыркуйском заливе (Чз) концентрации NO_3^- были ниже (0,01-0,05 мг/л), чем на других станциях озера (см. **рис. 7**). На **рисунках 4-7** концентрации кислорода и биогенных элементов в Чивыркуйском заливе указаны для глубины 8 м.

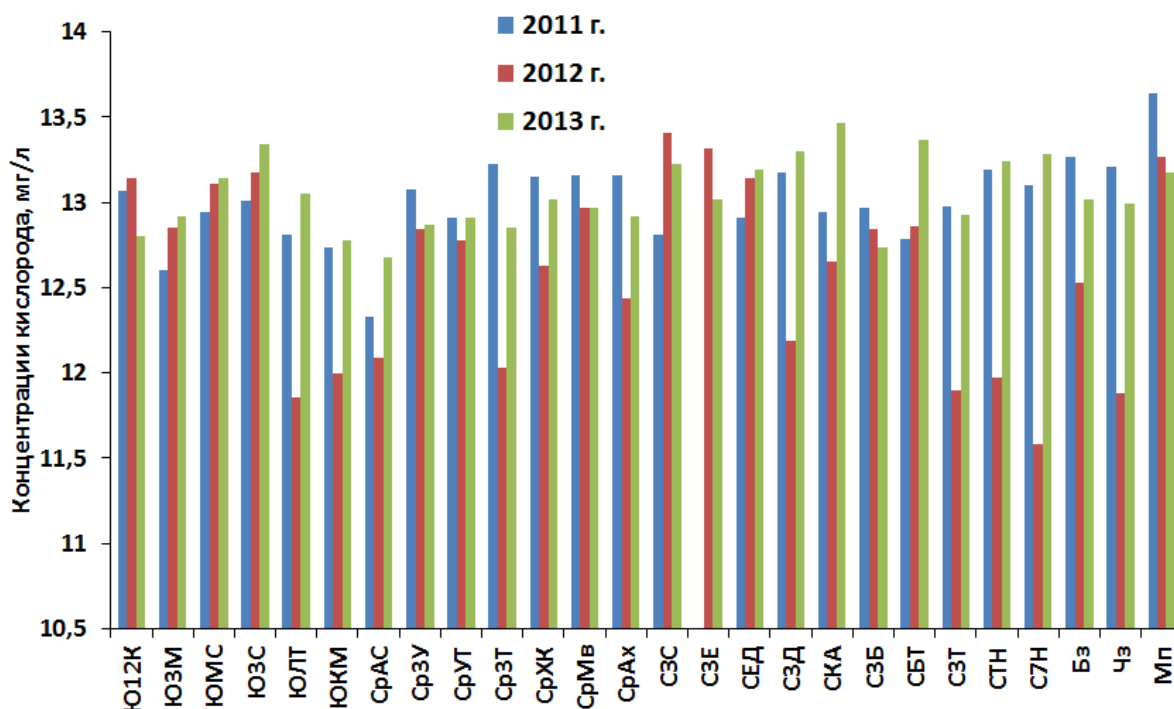


Рис. 4. Концентрации кислорода на глубине 25 м озера Байкал в конце мая – начале июня 2011-2013 гг.

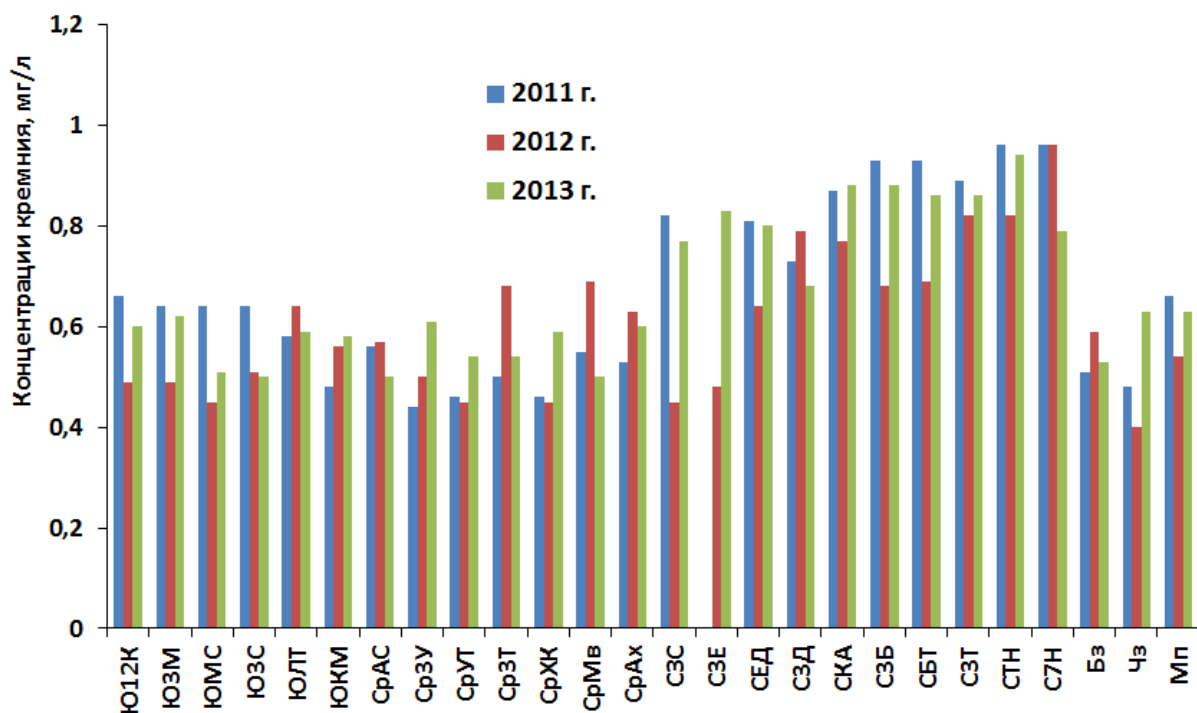


Рис. 5. Концентрации кремния на глубине 25 м озера Байкал в конце мая – начале июня 2011-2013 гг.

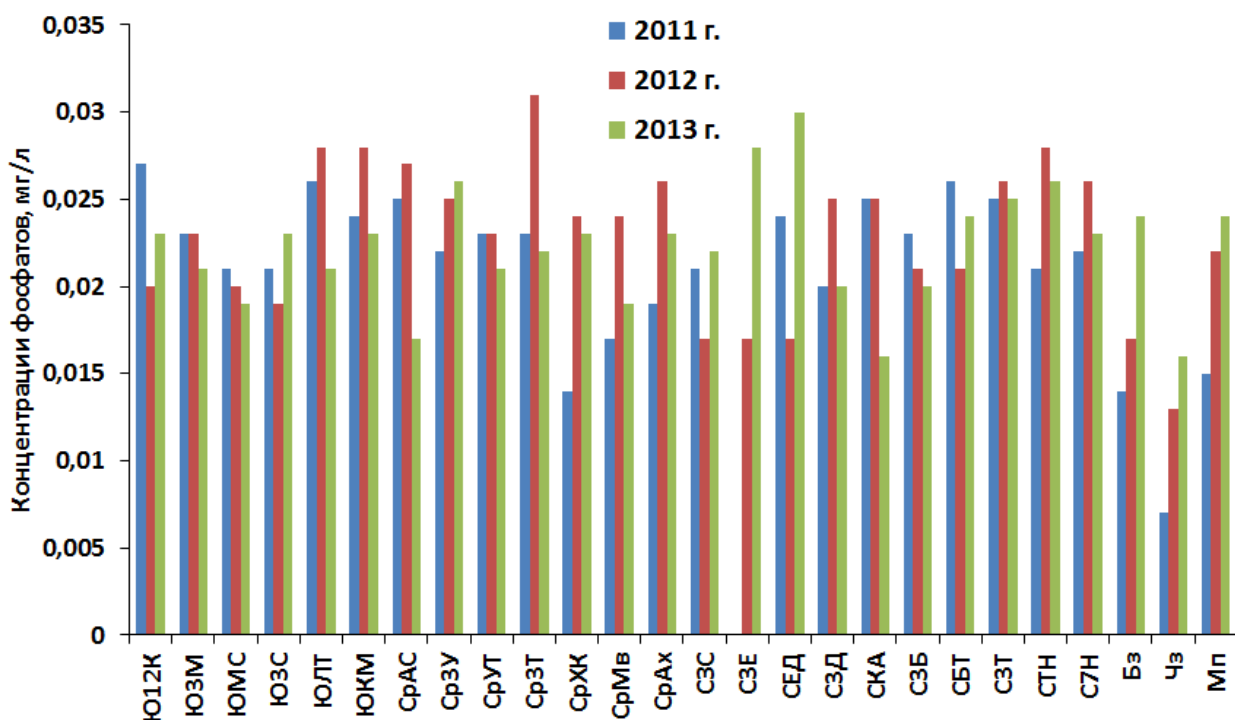


Рис. 6. Концентрации фосфатов на глубине 25 м озера Байкал в конце мая – начале июня 2011-2013 гг.

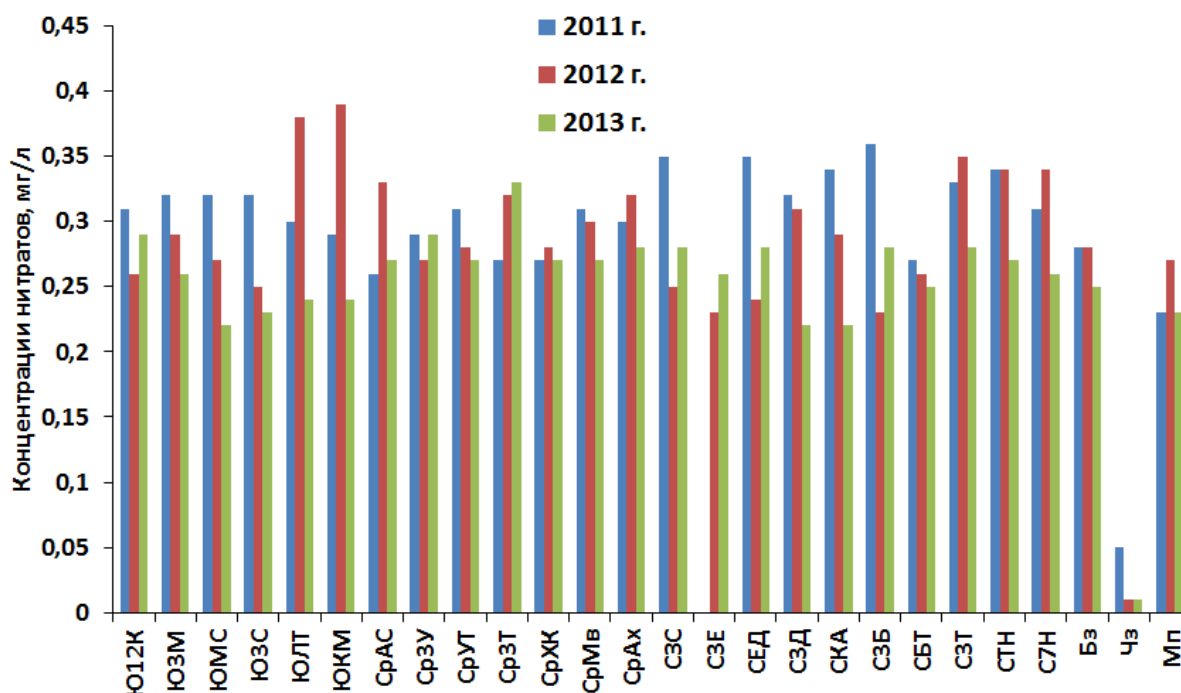


Рис. 7. Концентрации нитратов на глубине 25 м озера Байкал в конце мая – начале июня 2011-2013 гг.

Известно, что концентрации биогенных элементов в эпилимнионе озера Байкал в весенне-летний период подвержены межгодовой изменчивости, но характеризуются постоянством пространственного распределения [12, 22, 161]. В верхних слоях воды озера сезонная динамика и пространственное распределение нитратного азота и фосфатного фосфора тесно связаны с развитием фитопланктона [12]. С началом весеннего развития фитопланктона, обычно со второй половины марта, содержание нитратов и фосфатов в трофогенном слое озера снижается. В годы массового развития диатомей содержание нитратов в трофогенном слое снижается до аналитического нуля, что приводит к завершению развития диатомей. Фосфатный фосфор никогда не потребляется фитопланктоном из вод озера полностью, однако в период массового развития диатомей весной его содержание понижается до 2-4 мг/м³ [12].

Концентрации кислорода в эпилимнионе озера варьируют в диапазоне 11,58-13,49 мг/л, что согласуется с данными, полученными ранее другими исследователями [12, 22, 161]. На распределение кислорода оказывают

влияние соотношения продукционно-деструкционных процессов и характер газообмена с атмосферой [22]. Основным источником кислорода в водах Байкала является фитопланктон, который выделяет кислород в результате фотосинтеза. На его долю приходится до 99,5 % всего поступающего в воды озера кислорода. Главными потребителями кислорода, растворенного в байкальских водах, является фито- и бактериопланктон. На их долю приходится свыше 95 % от общей суммы потребляемого в толще вод Байкала кислорода. Дыхание зоопланктона составляет менее 5 %, дыхание зообентоса и ихтиофауны – всего около 0,2 % от общего количества кислорода, потребляемого в водах озера. Существенной чертой кислородного режима Байкала является то, что общее количество кислорода, ежегодно расходуемое в толще вод озера, практически равно тому его количеству, которое поступает в воды Байкала в процессе фотосинтеза байкальских водорослей [12]. По нашим данным, концентрации Si были немного выше в северной котловине, чем в средней и южной. Увеличение кремния с юга на север озера Байкал связано с особенностями круговорота кремния в северной котловине, составом диатомей в ней, пониженной на 1-2 °С средней годовой температурой воды и воздуха, сокращенным на месяц безледным периодом [61].

Фитопланктон – важнейший источник первичной продукции органических веществ в озере Байкал. Микроводоросли служат биологическими индикаторами изменений в экосистеме озера, поэтому многолетние исследования фитопланктона входят в программу биологического мониторинга Байкала [192].

В 2011 г. на большинстве станций южной и средней котловин в составе фитопланктона доминирует *Synedra acus* subsp. *radians*, на станции Красный Яр – Харауз (СрКХ) и в Баргузинском заливе (Бз) – *Stephanodiscus meyeri*, в северной котловине – *Monoraphidium griffithi* (рис. 8 а).

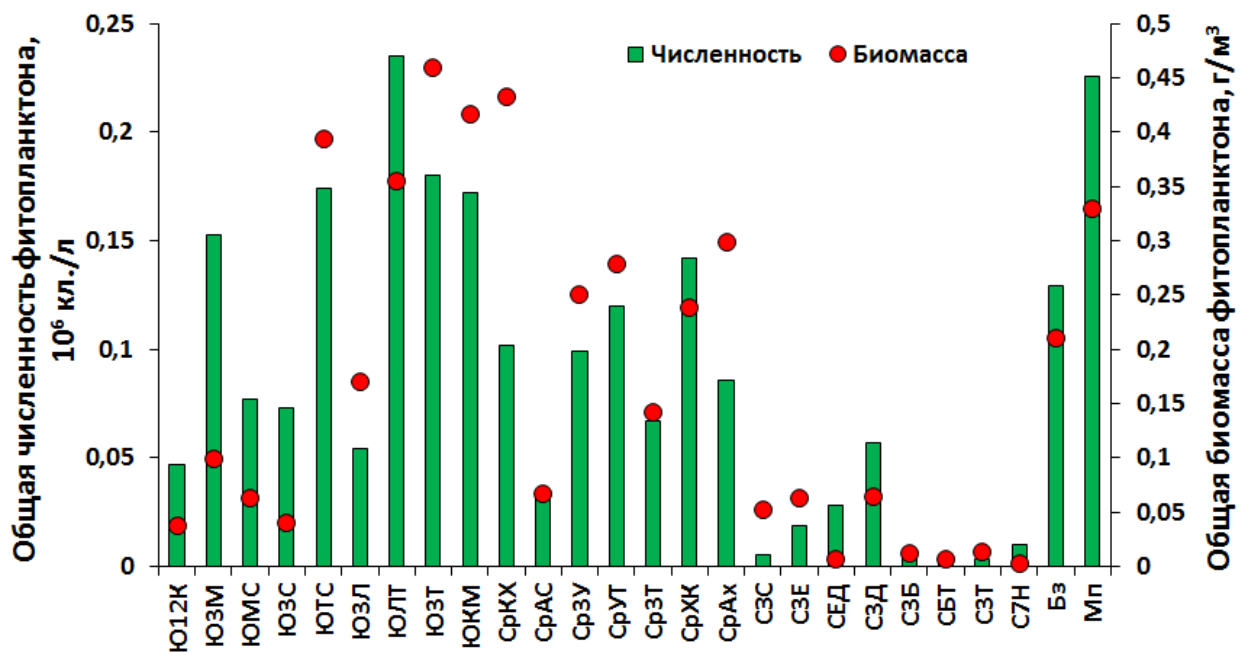


Рис. 9. Общие численность и биомасса фитопланктона в эпилимнионе озера Байкал в 2011 г.

В 2012 г. в южной и средней котловинах доминирует вид диатомей *S. acus* subsp. *radians*, субдоминант – зеленая микроводоросль *Koliella longiseta* (Vischer) Hindák, в северной котловине и проливе Малое Море (Мп) доминирует диатомея *Aulacoseira baicalensis*, в Баргузинском заливе (Бз) – *Stephanodiscus meyeri*, в Чз – *Asterionella formosa* (рис. 10 а). Вклад в биомассу доминирующих видов фитопланктона различается. На некоторых станциях средней котловины наибольший вклад в биомассу фитопланктона вносят динофлагелляты *G. baicalense* и *Peridinium baicalense* Kiselev et Svetkov (рис. 10 б). Общие численность (от $1,9 \times 10^4$ кл./л до $3,9 \times 10^5$ кл./л) и биомасса (от $0,066$ г/м³ до 1 г/м³) фитопланктона на станциях трех котловин озера Байкал были ниже, чем в Чивыркуйском заливе (Чз) ($5,9 \times 10^5$ кл./л; $2,1$ г/м³), Баргузинском заливе (Бз) ($1,1 \times 10^6$ кл./л; $2,4$ г/м³) и в проливе Малое Море (Мп) ($1,2 \times 10^6$ кл./л; $5,6$ г/м³) (рис. 11).

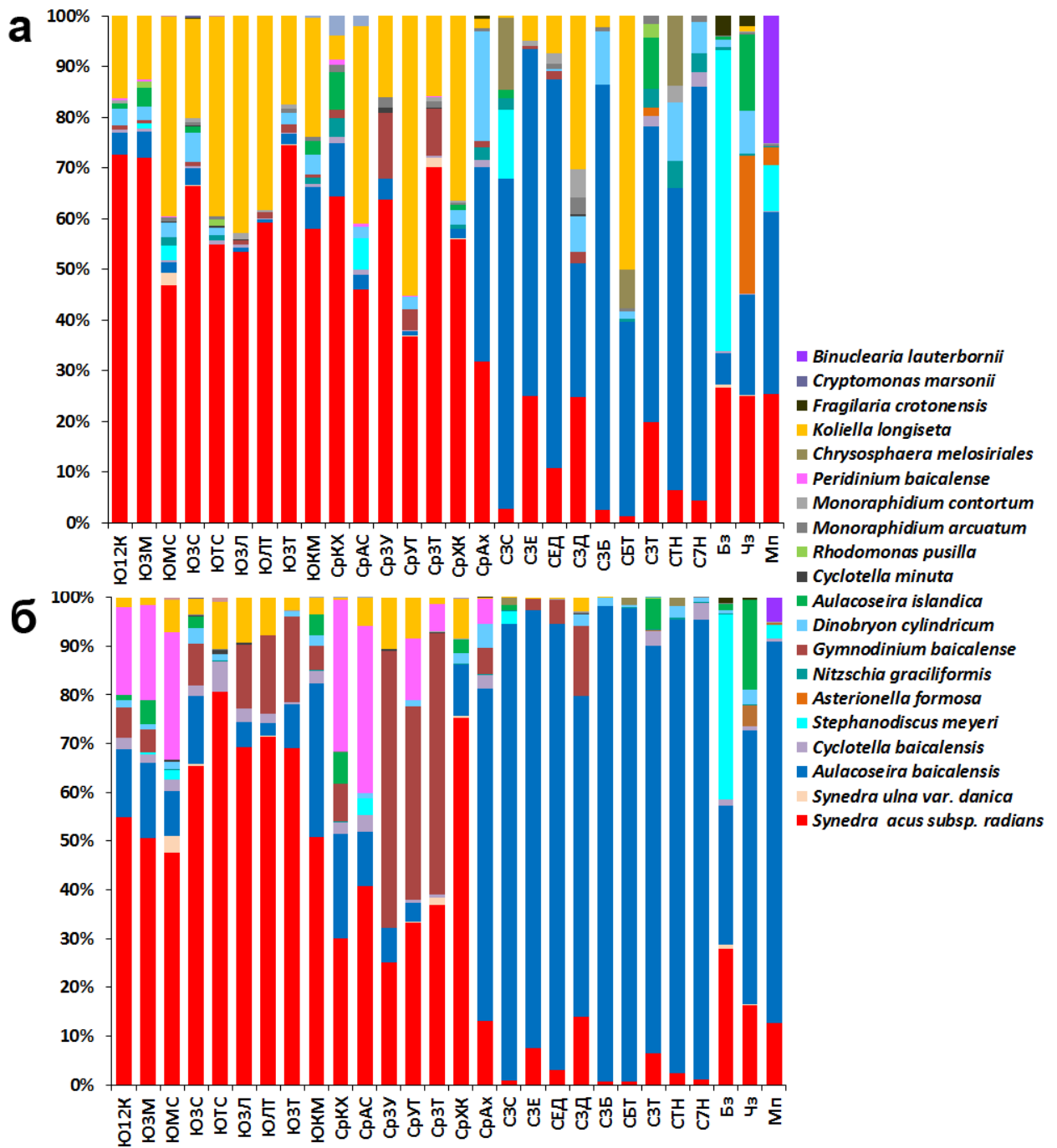


Рис. 10. Соотношение численности (а) и биомассы (б) видов фитопланктона в эпилимнионе озера Байкал в 2012 г.

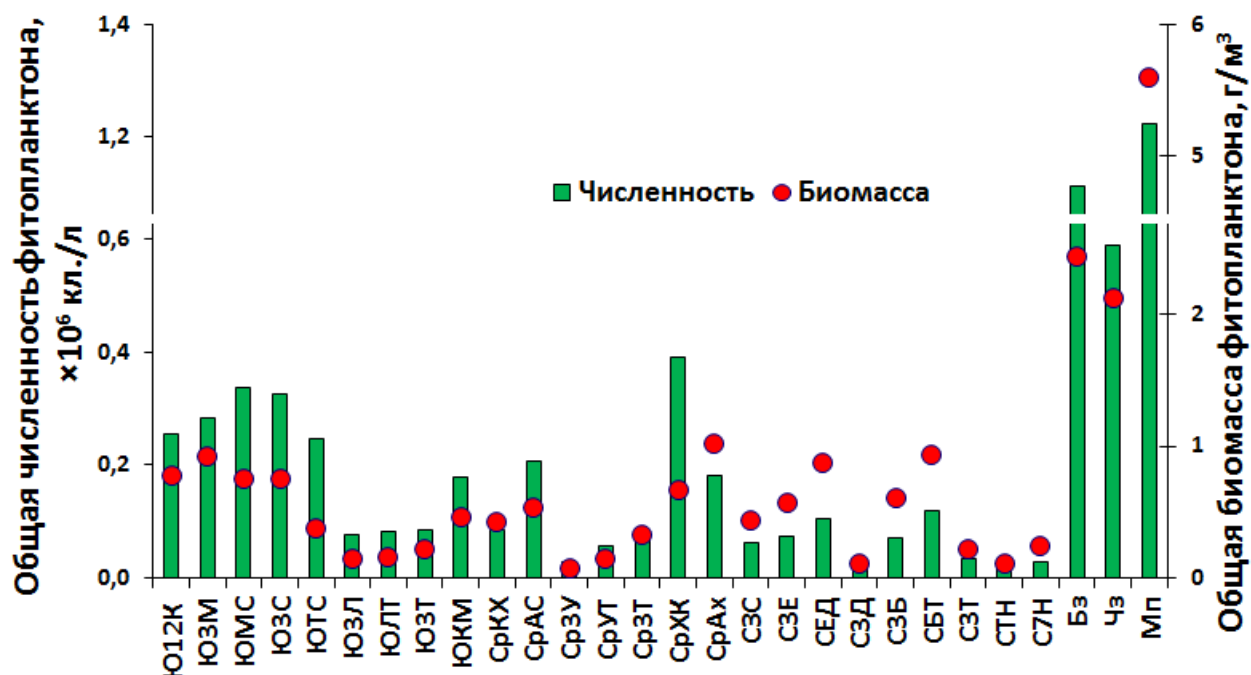


Рис. 11. Общие численность и биомасса фитопланктона в эпилимнионе озера Байкал в 2012 г.

В 2013 г. в южной котловине на станциях 12 км от Култука (Ю12К), 3 км от Маритуя (Ю3М), в северной котловине и Чивыркуйском заливе (Чз) доминирует *Nitzschia graciliformis*, на станциях 3 км от Солзана (Ю3С), Толстый-Снежная (ЮТС) и в средней котловине – *Monoraphidium griffithi*, на станции Красный Яр – Харауз (СрКХ) – *St. meyeri*, на станции Анга – Сухая (СрАС) – *S. acus* subsp. *radians*, в Баргузинском заливе (Бз) – *M. arcuatum*, проливе Малое Море (Мп) – *Binuclearia lauterbornii* и *M. arcuatum* (рис. 12 а). Вклад различных видов в биомассу фитопланктона в трех котловинах озера отличается (рис. 12 б). Общая численность фитопланктона варьирует от $0,02 \times 10^6$ кл./л до $0,34 \times 10^6$ кл./л, общая биомасса фитопланктона – от 21 мг/м^3 до $0,86 \text{ г/м}^3$. Общие численность и биомасса фитопланктона в заливах, проливе и котловинах озера имеют сходные значения (рис. 13).

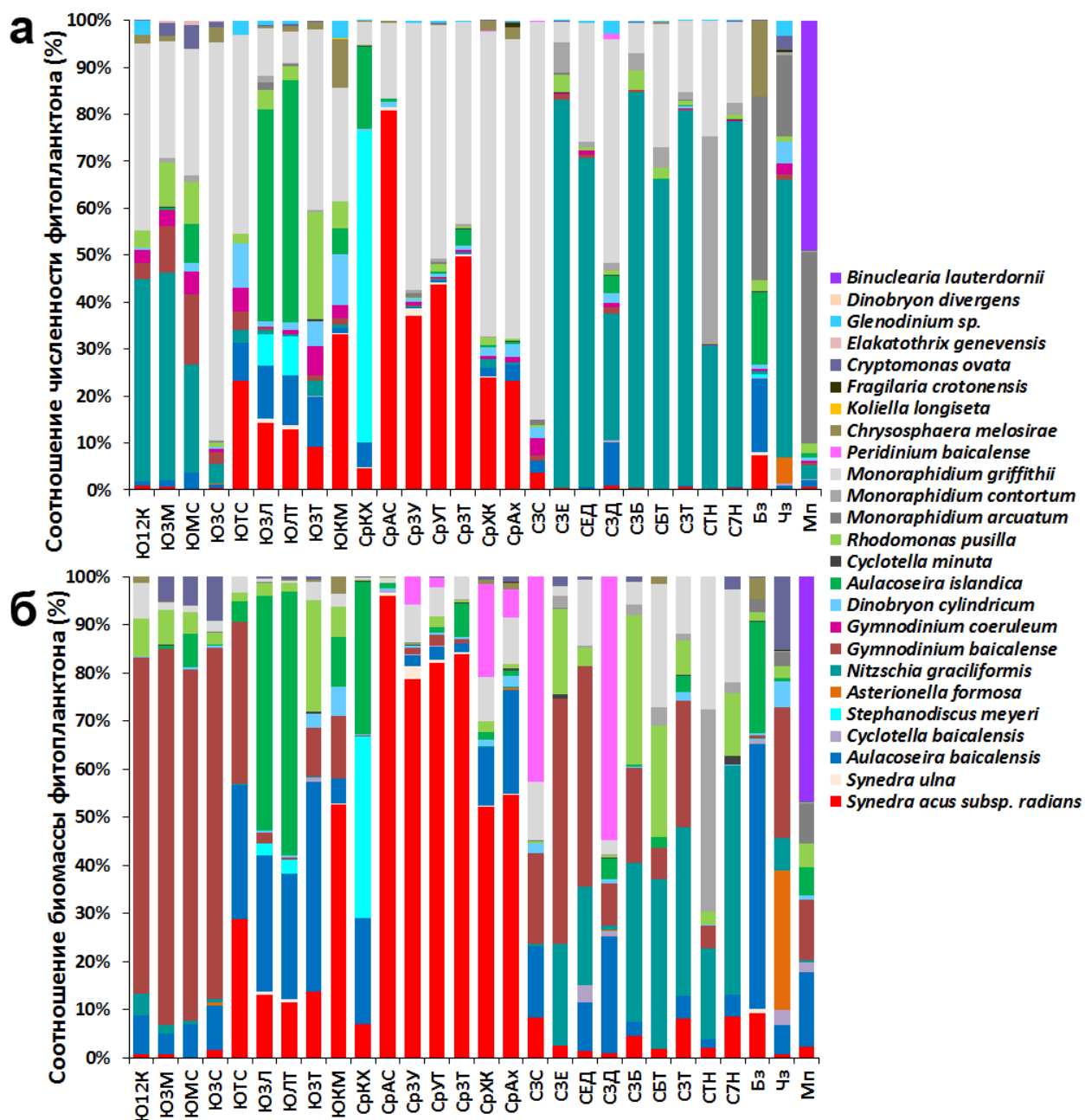


Рис. 12. Соотношение численности (а) и биомассы (б) видов фитопланктона в эпилимнионе озера Байкал в 2013 г.

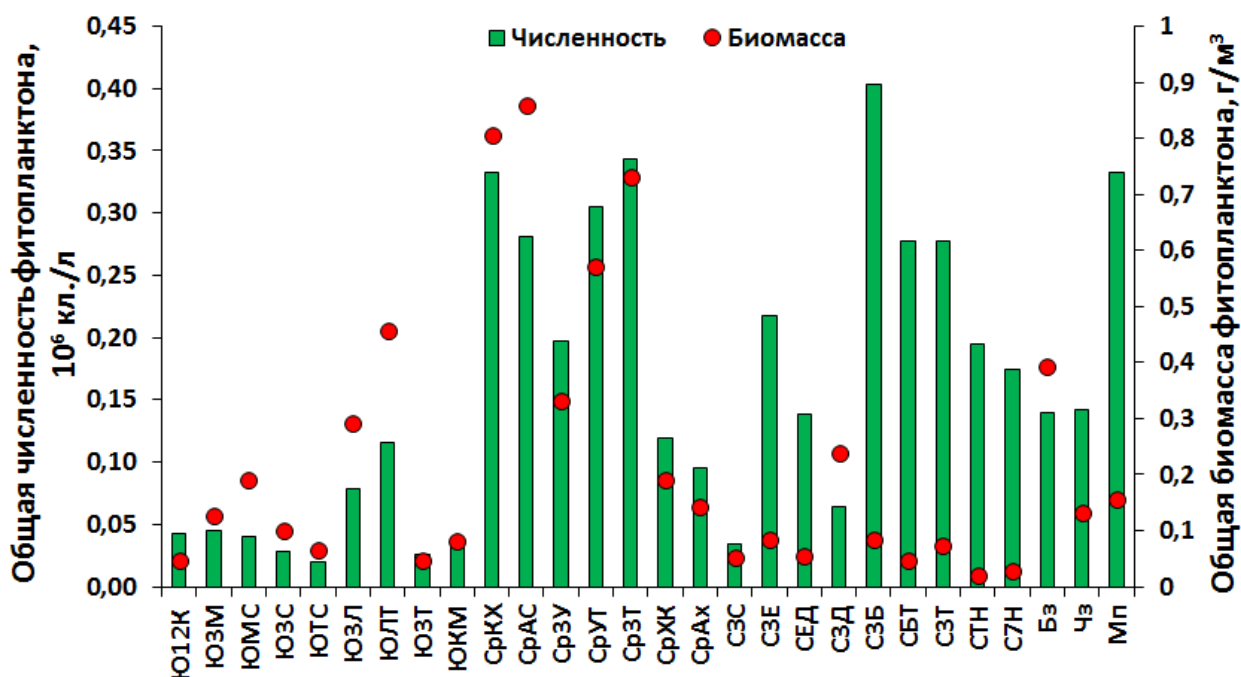


Рис. 13. Общие численность и биомасса фитопланктона в эпилимнионе озера Байкал в 2013 г.

Таким образом, в весенне-летний период 2011–2013 гг. в эпилимнионе озера численность фитопланктона имеет неравномерное распределение, доминирующие виды фитопланктона в различных районах озера Байкал отличаются, что согласуется с данными по многолетней динамике весеннего фитопланктона в озере Байкал [47, 193].

3.2. Характеристика бактериальных сообществ в эпилимнионе озера Байкал

Бактерии водной толщи озера Байкал выполняют важную роль в процессах деструкции органического вещества авто- и аллохтонного происхождения. Исследование общей численности бактерий и их пространственного распределения в Байкале важны для понимания роли бактериальных сообществ в экосистеме озера. Анализ численности культивируемых гетеротрофных бактерий позволяет выяснить вклад определенных физиологических групп бактерий в составе микробных сообществ озера [23, 30, 42, 43].

В исследуемый период 2011 г. в верхнем слое воды (0 м) озера Байкал общая численность бактерий (ОЧБ) варьирует от $0,4 \times 10^6$ кл./мл до $1,2 \times 10^6$ кл./мл (рис. 14). На нескольких станциях южной (Ю3М, Ю3Л, Ю3Т), средней (СрХК) и северной (С3Б, СБТ, СТН, С7Н) котловин численность достигает 1×10^6 кл./мл и более. Существенных различий ОЧБ по котловинам не наблюдается (см. рис. 14).

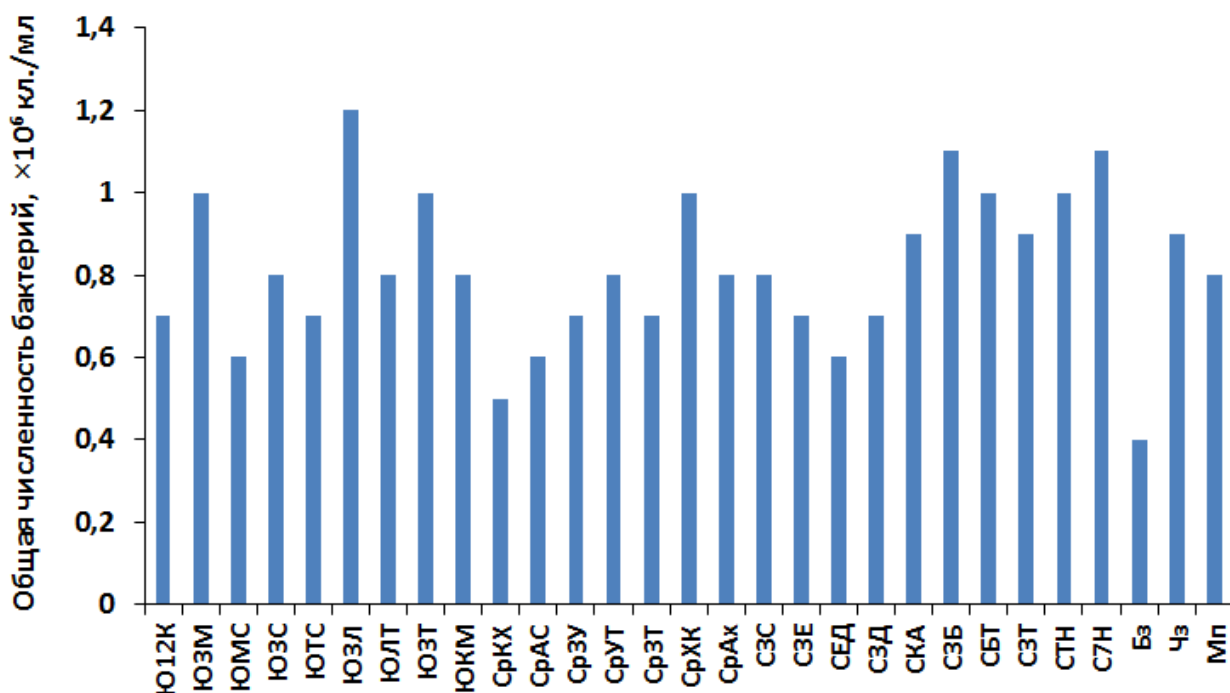


Рис. 14. ОЧБ в верхнем слое воды озера Байкал в 2011 г.

В 2012 г. на большинстве станций озера Байкал в верхнем слое воды (0 м) численность бактерий составляет от $0,2 \times 10^6$ кл./мл до $1,4 \times 10^6$ кл./мл, в слое воды 0-25 м – от $0,2 \times 10^6$ кл./мл до $1,5 \times 10^6$ кл./мл (рис. 15). На нескольких станциях южной (Ю12К, Ю3М, ЮМС) и северной (СЗЕ, СЕД, СЗБ, СБТ) котловин численность достигает 1×10^6 кл./мл и выше. Максимальная численность бактерий отмечена в Чивыркуйском заливе (Чз) (свыше 2×10^6 кл./мл) (см. рис. 15), в котором была повышенная температура воды ($8,3$ °С), в сравнении с другими станциями (см. рис. 3).

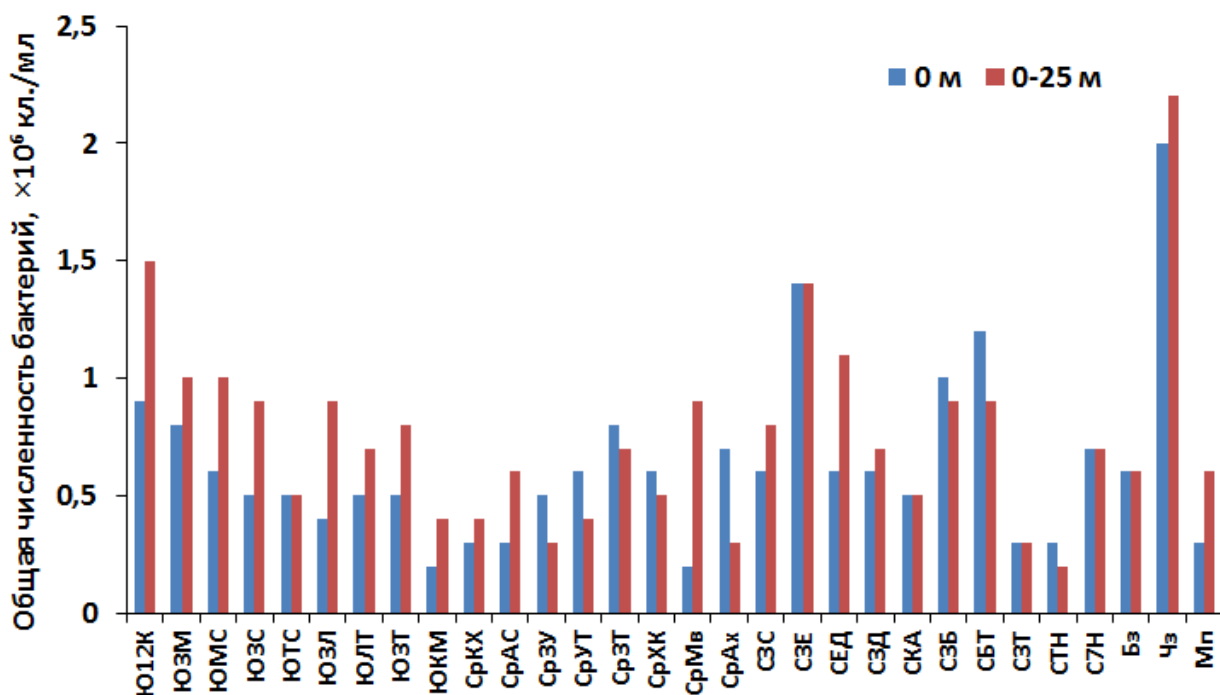


Рис. 15. ОЧБ в верхнем слое воды (0 м) и в слое 0-25 м озера Байкал в 2012 г.

Коэффициент корреляции между численностью фитопланктона и численностью бактерий по всем станциям озера составляет 0,5, следовательно, только на половине станций при увеличении численности фитопланктона увеличивается численность бактерий, в остальных случаях этого не наблюдается.

Факторами, которые могут влиять на численность бактерий в фотическом слое водных экосистем, являются наличие растворенного органического углерода, температура, рН, содержание кислорода, свет (bottom-up control). Численность бактерий изменяется при потреблении бактерий гетеротрофными простейшими и при заражении бактериофагами, вызывающими лизис бактериальных клеток (top-down control) [137, 210]. Как известно, при развитии фитопланктона происходит увеличение численности бактерий [229], однако, по данным настоящего исследования, только на половине станций численность бактерий коррелирует с численностью фитопланктона. Общая численность бактерий, выявленная нами в котловинах озера в исследуемый период, когда развивается комплекс весеннего фитопланктона с доминированием диатомей, достигает $1,5 \times 10^6$

кл./мл, что является невысокими значениями, в сравнении численностью бактерий в летний период – до $4,6 \times 10^6$ кл./мл, когда развиваются цианобактерии [6].

Культивирование бактерий на питательных средах позволяет выявить определенные физиологические группы бактерий и исследовать их метаболический потенциал [39, 42, 44]. В весенне-летний период 2011-2013 гг. культивируемые органотрофные бактерии в различных районах озера и по вертикали исследуемого слоя воды (0-25 м) распределены неравномерно (прил. 2). В 2011 г. на нескольких станциях южной (ЮЗТ, ЮКМ) и средней (СрКХ, СрАС, СрМв, СрАх) котловин численность органотрофов на среде ДА достигает 300 КОЕ/мл и выше (рис. 16).

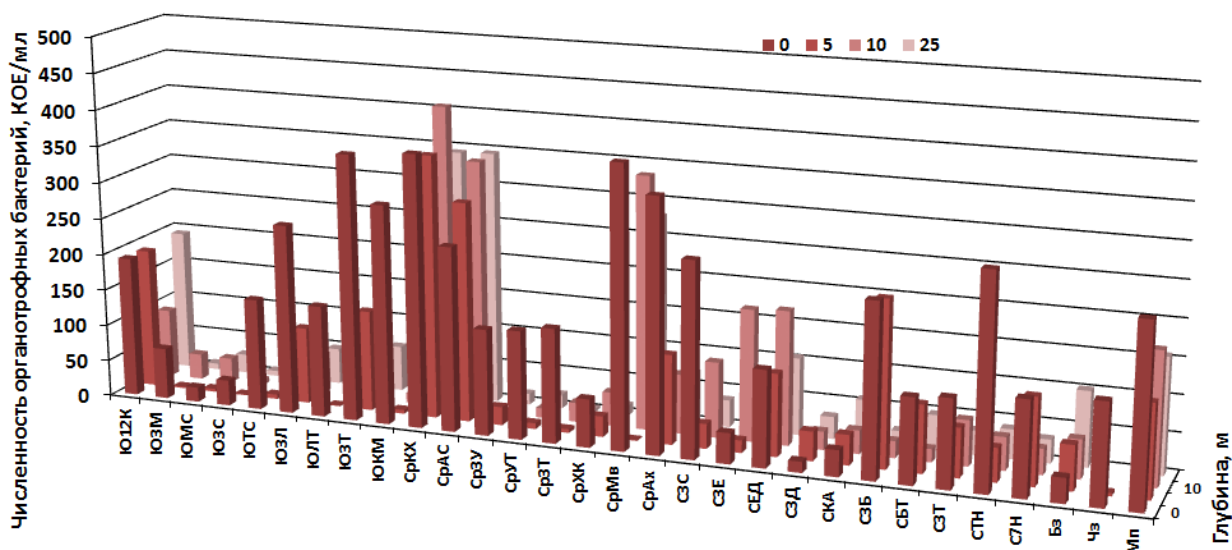


Рис. 16. Численность органотрофных бактерий, культивируемых на среде ДА, в пробах эпилимниона озера Байкал в 2011 г.

Численность органотрофов на среде РПА/10 достигает 482 КОЕ/мл на станции ЮКМ и 402 КОЕ/мл на станции СЕД (рис. 17). Наибольшая численность органотрофов выявлена в поверхностном слое воды озера (см. рис. 16, 17). Высокая численность органотрофных бактерий может быть связана с увеличением легкоусвояемого органического вещества вследствие отмирания фитопланктона. Как отмечено ранее, наибольшие численность и

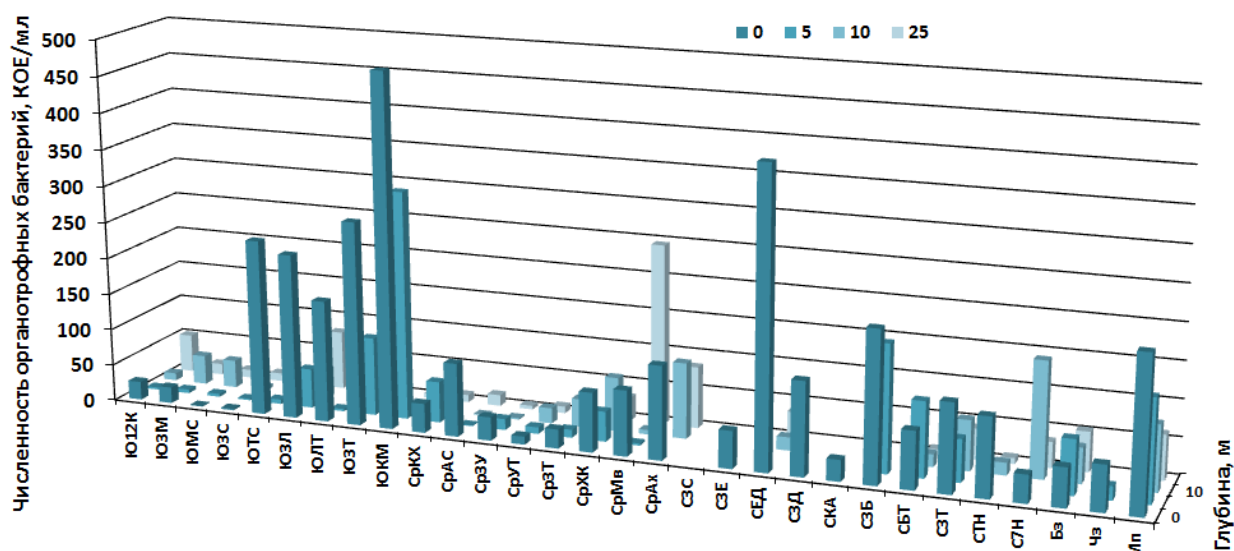


Рис. 17. Численность органотрофных бактерий, культивируемых на среде РПА/10, в пробах эпилимниона озера Байкал в 2011 г.

биомасса фитопланктона выявлены в южной и средней котловинах (см. **рис. 9**), где наибольший вклад вносит диатомея *S. acus* subsp. *radians* (см. **рис. 8**).

В 2012 г. численность органотрофов на среде ДА на нескольких станциях средней (СрМв, СрАх) и северной (СЗЕ, СКА, СЗБ, СТН) котловин и в Малом Море (Мп) составляет свыше 500 КОЕ/мл. Максимум численности органотрофов отмечен на станции северной котловины – СКА (3200 КОЕ/мл) (**рис. 18**). Численность органотрофов на среде РПА/10 достигает свыше 500 КОЕ/мл на станциях СрЗТ (средняя котловина), СЗС, СЗЕ, С7Н (северная), свыше 1000 КОЕ/мл – на станциях СрАх (средняя), СКА, СЗБ, СБТ, СЗТ, СТН (северная) и Мп (Малое Море) (**рис. 19**). Наибольшая численность органотрофов отмечена на глубинах 10-20 м (см. **рис. 18, 19**). Биомасса фитопланктона на некоторых станциях северной котловины сопоставима с южной и средней (см. **рис. 11**), но доминирующие виды фитопланктона различаются (см. **рис. 10**). В южной и средней котловинах доминирует *S. acus* subsp. *radians*, а в северной котловине и Малом Море – вид диатомей *A. baicalensis* (см. **рис. 10**), что может быть причиной высокой численности органотрофных бактерий.

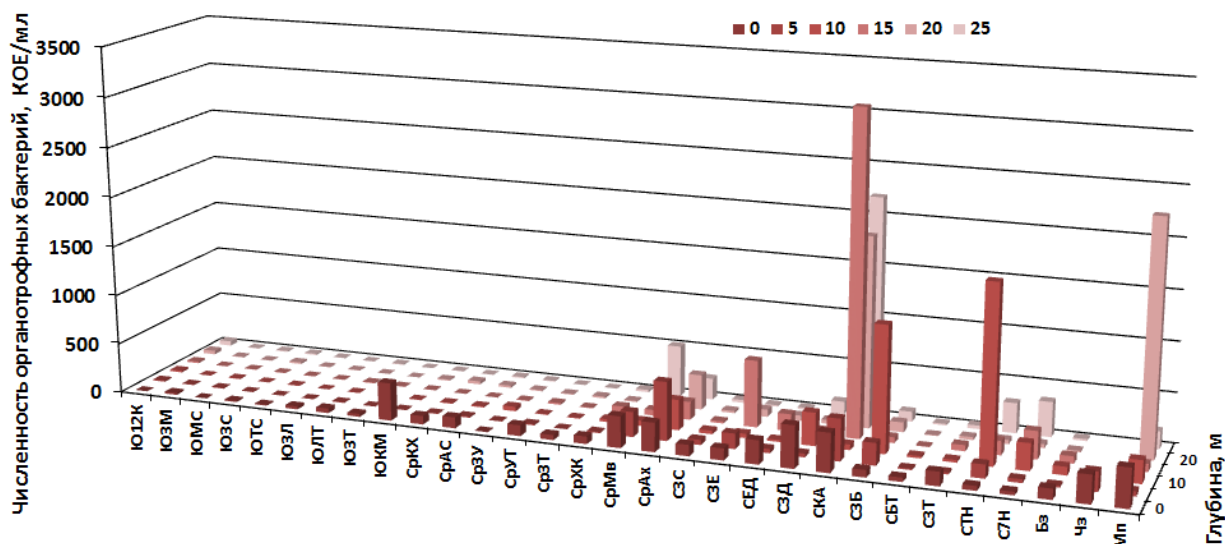


Рис. 18. Численность органотрофных бактерий, культивируемых на среде ДА, в пробах эпилимниона озера Байкал в 2012 г.

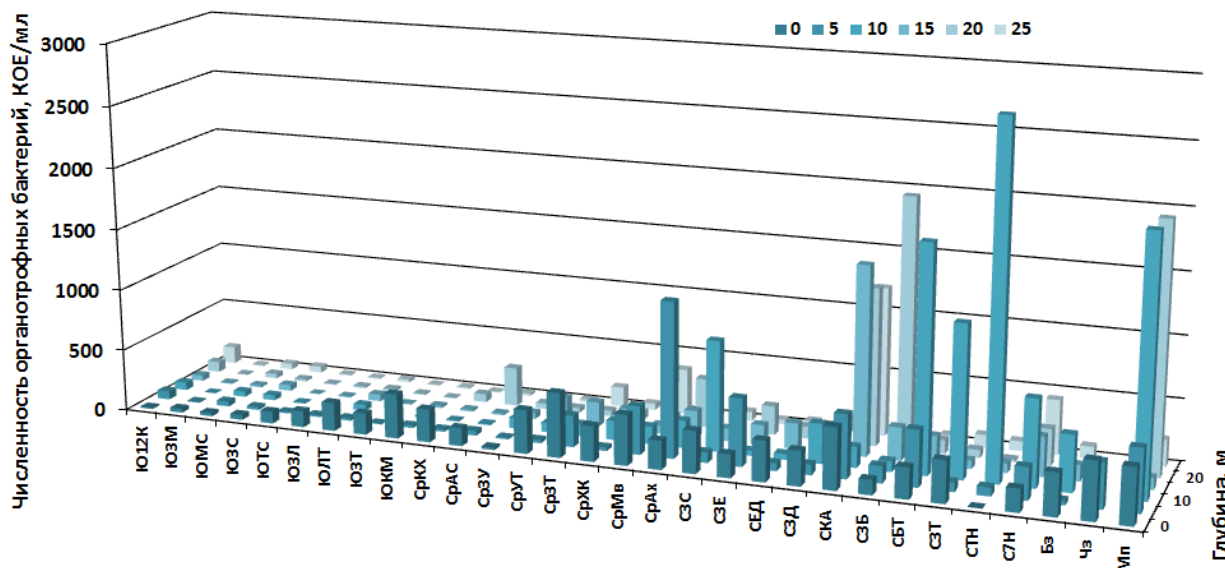


Рис. 19. Численность органотрофных бактерий, культивируемых на среде РПА/10, в пробах эпилимниона озера Байкал в 2012 г.

Наибольшая численность органотрофных бактерий отмечена на глубинах 10-20 м (см. **рис. 18, 19**). Биомасса фитопланктона на некоторых станциях северной котловины сопоставима с южной и средней (см. **рис. 11**), но видовой состав фитопланктона существенно различается (см. **рис. 10**). В отличие от южной и средней котловин, где доминирует *S. acus* subsp. *radians*, в северной котловине и Малом Море доминирует вид диатомей *A. baicalensis*

(см. **рис. 10**), что может быть возможной причиной высокой численности органотрофных бактерий.

В 2013 г. численность органотрофов на одной станции средней котловины (СрМв) и большинстве станций северной котловины и в Малом Море (Мп) составляет 400 КОЕ/мл и выше (**рис. 20, 21**).

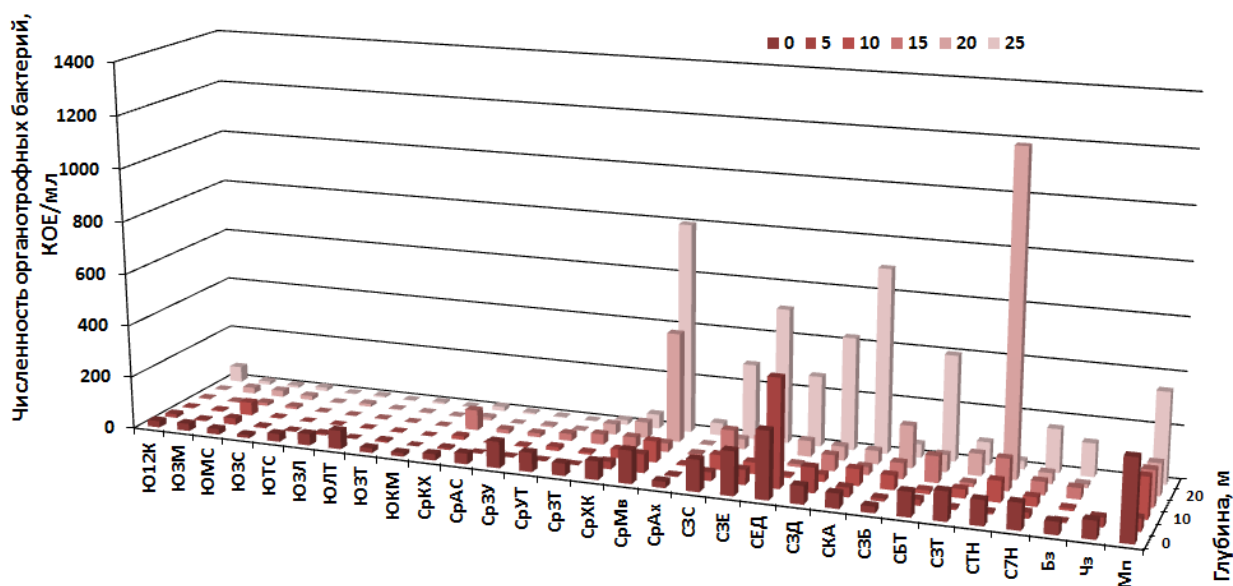


Рис. 20. Численность органотрофных бактерий, культивируемых на среде ДА, в пробах эпилимниона озера Байкал в 2013 г.

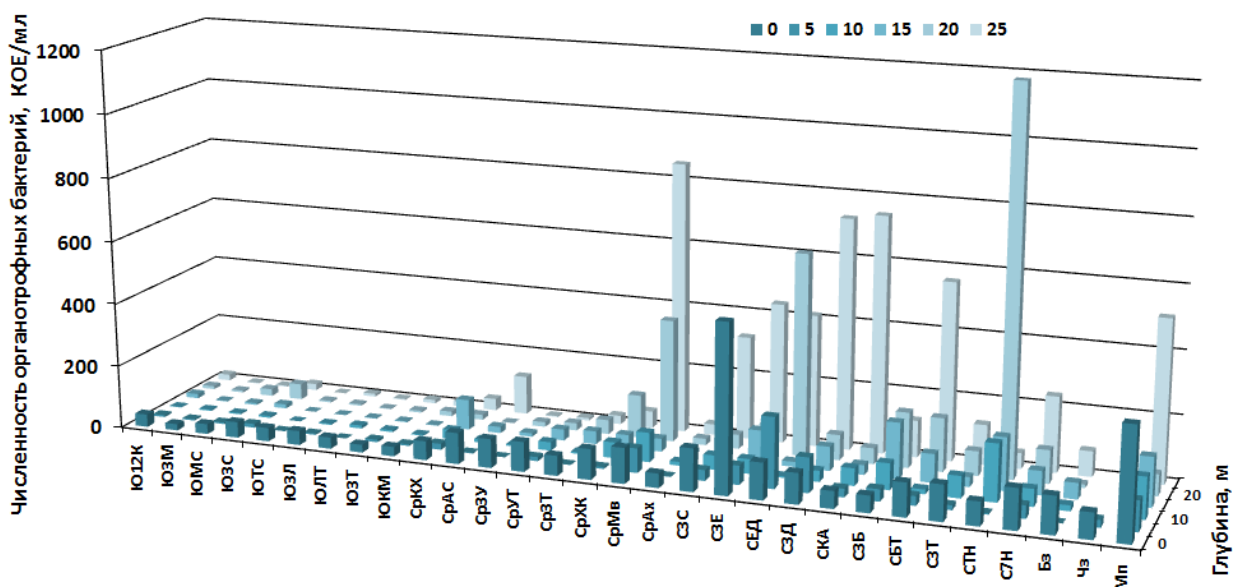


Рис. 21. Численность органотрофных бактерий, культивируемых на среде РПА/10, в пробах эпилимниона озера Байкал в 2013 г.

Максимальная численность органотрофов отмечена на станции северной котловины СТН – 1200 КОЕ/мл. Наибольшая численность органотрофов в северной котловине отмечена на глубине 25 м (см. **рис. 20, 21**).

Численность фитопланктона в северной котловине сопоставима со средней котловиной, однако биомасса ниже (см. **рис. 13**). В видовом составе фитопланктона в северной котловине в отличие от южной и средней доминирует вид диатомей *N. graciliformis* (см. **рис. 12**).

Культивирование органотрофных бактерий на средах РПА/10 и ДА показало, что численность органотрофных бактерий на 3-4 порядка ниже, чем ОЧМ, что согласуется с данными, полученными ранее другими исследователями по эуфотической зоне озера Байкал [6, 226]. Различия в численности органотрофов, культивируемых на средах РПА/10 и ДА, были в пределах одного порядка, в некоторых случаях различались на два, и единично – на три. Как правило, численность органотрофов на ДА ниже, чем на РПА/10, значительно реже наоборот. Культивирование бактерий на среде ДА, в которой единственным источником углерода является гидролизат диатомовых водорослей, и на среде РПА/10 позволило провести наиболее полную оценку численности органотрофных бактерий в период развития фитопланктона.

Таким образом, установлено, что межгодовая (2011-2013 гг.) динамика развития органотрофных бактерий в эпилимнионе озера отличается в различных районах Байкала. Органотрофы в исследуемом слое воды по вертикали и пространственно распределены неравномерно. Наибольшая численность органотрофов в 2011 г. обнаружена в южной и средней котловинах Байкала в период массового развития диатомей *S. acus* subsp. *radians*, в 2012 г. – на некоторых станциях средней, в северной котловине и в Малом Море, где доминировал вид диатомей *A. baicalensis*, в 2013 г. – в северной котловине, в которой в составе фитопланктона доминировал вид диатомей *N. graciliformis*.

ГЛАВА 4. Структура и разнообразие сообществ бактерий и одноклеточных эукариот эпилимниона озера Байкал по данным анализа фрагментов генов 16S рРНК и 18S рРНК

4.1. Разнообразие бактериальных сообществ

Исследование разнообразия бактериальных сообществ позволяет выяснить роль определенных таксономических групп бактерий в биогеохимических процессах и функционировании водных экосистем. В озере Байкал ранее были исследованы культивируемые представители бактериальных сообществ [30, 42, 44] и доминирующие некультивируемые [6, 21, 134]. С помощью пиросеквенирования фрагментов генов 16S рРНК исследованы разнообразие, видовое богатство, доминирующие и минорные таксоны бактерий в литоральной зоне озера Байкал, что существенно расширило представления о бактериальных сообществах озера [45]. В настоящей работе использован метод пиросеквенирования для анализа разнообразия, богатства и структуры бактериальных сообществ в фотическом слое пелагической зоны озера Байкал в период развития фитопланктона.

В результате пиросеквенирования ампликонов V3–V4 региона генов 16S рРНК для 30 образцов (для проб, отобранных в 2012 г.) было получено 107996 последовательностей, средняя длина которых составляла 420 п. н. После выравнивания, пре-кластеризации, удаления химерных последовательностей было получено 87951 последовательность, из которых 44958 последовательностей (51,1 %) принадлежат к домену Bacteria, 33 (0,04 %) – к домену Archaea, 42960 (48,8 %) – к хлоропластам эукариот. Последовательности хлоропластов были удалены и затем анализировали последовательности, принадлежащие только доменам Bacteria и Archaea, для которых количество прочтений в образцах составляло 195-14408, в среднем – 1500. Для всех образцов выявлено 867 операционных таксономических единиц (ОТЕ) для генетической дистанции 0,03. Синглетонам (ОТЕ, представленным единичной последовательностью) принадлежит 399 ОТЕ.

Оценены видовое богатство (количество ОТЕ, индексы ACE, Chao1) и разнообразие (индекс Шеннона) в эпилимнионе озера Байкал (табл. 2).

Таблица 2

Богатство и разнообразие бактериальных сообществ эпилимниона озера Байкал в 2012 г.

Образцы	Количество прочтений	ОТЕ _{0,03}	ACE	Chao1	Shannon
Ю12К	463	70	148	129	3,15
Ю3М	794	110	252	187	3,47
ЮМС	699	95	200	149	3,58
Ю3С	512	76	105	95	3,44
ЮТС	590	103	215	177	3,66
Ю3Л	887	135	261	196	3,75
ЮЛТ	827	137	216	205	3,86
Ю3Т	748	118	245	183	3,74
ЮКМ	613	127	351	243	3,90
СрКХ	591	127	392	320	3,59
СрАС	14408	439	703	625	4,00
Ср3У	1733	183	668	464	3,53
СрУТ	1170	107	136	129	3,27
Ср3Т	705	90	188	129	3,30
СрХК	1473	122	170	151	3,02
СрМв	919	99	174	131	3,51
СрАх	1391	136	206	207	3,53
С3С	1256	115	245	243	3,54
С3Е	1112	83	276	298	2,85
СЕД	482	51	109	72	2,07
С3Д	1081	93	119	111	3,48
СКА	1050	104	146	139	3,53
С3Б	4759	265	704	486	3,89
СБТ	1086	97	225	176	3,31
С3Т	843	142	305	251	3,93
СТН	195	60	192	123	3,20
С7Н	1479	185	349	352	4,22
Бз	709	101	269	178	3,15
Чз	1487	173	491	374	3,81
Мп	929	85	114	117	3,44

В бактериальных сообществах эпилимниона озера Байкал количество ОТЕ варьирует в пределах 51-265, в образце СрКХ достигая 439; индекс разнообразия Шеннона – 2,07-4,22. Полное видовое богатство в

бактериальных сообществах характеризуют непараметрические индексы ACE и Chao1, значения которых варьируют в пределах 105-704 и 72-625 соответственно (см. табл. 2). Выявленное нами видовое богатство и разнообразие в эпилимнионе открытого Байкала ниже, чем в литоральной зоне озера, где количество ОТЕ составляет 752, ACE – 2380, Chao1 – 1474, Shannon – 4,67 [45].

4.2. Структура бактериальных сообществ

В эпилимнионе озера Байкал выявлено 20 филумов домена Bacteria. Представители филумов *Actinobacteria* (31,4 % от общего количества последовательностей во всех образцах), *Bacteroidetes* (21 %), *Verrucomicrobia* (18,3 %), *Proteobacteria* (12,1 %), *Acidobacteria* (9,7 %), *Cyanobacteria* (3,1 %) вносят основной вклад в состав бактериальных сообществ по количеству последовательностей (95,6 %) и представлены во всех образцах в различных соотношениях (рис. 22) [35]. Неклассифицированные Bacteria составляют 2,6 % от общего количества последовательностей. Филум *Proteobacteria* представлен классами *Betaproteobacteria* (6,6 %), *Alphaproteobacteria* (4 %), *Gammaaproteobacteria* (0,9 %), *Deltaproteobacteria* (0,1 %). На рисунках 23, 24 представлены 54 наиболее крупных бактериальных ОТЕ. Максимальная доля прочтений представителей филума *Actinobacteria* отмечена в сообществе южной котловины Ю12К (57 %) (см. рис. 22). *Actinobacteria* представлен порядками *Acidimicrobiales* (род *Illumatobacter*), *Actinomycetales*, неклассифицированными *Actinobacteria* и *Acidimicrobineae* (см. рис. 23). Наибольшая доля прочтений *Bacteroidetes* выявлена в сообществе Чивыркуйского залива (Чз) (46 %) (см. рис. 22). *Bacteroidetes* представлен семействами *Flavobacteriaceae* (род *Flavobacterium*), *Cryomorphaceae* (род *Fluviicola*), *Chitinophagaceae* (род *Sediminibacterium*), *Cyclobacteriaceae* (род *Algoriphagus*) и *Cytophagaceae* (см. рис. 23). Максимальный вклад прочтений *Verrucomicrobia* отмечен в сообществе СЕД (59 %) (см. рис. 22).

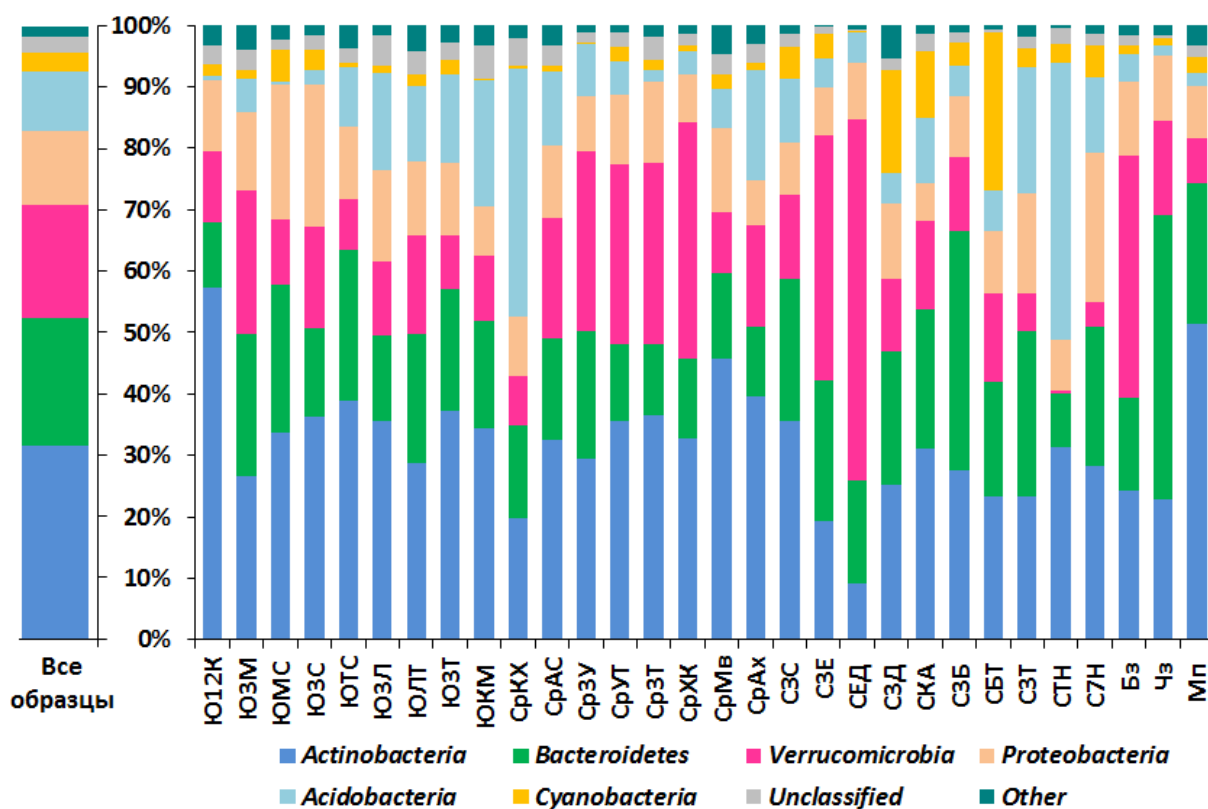


Рис. 22. Состав доминирующих филумов домена Bacteria в эпилимнионе озера Байкал в 2012 г. по данным анализа последовательностей фрагментов генов 16S рНК.

Verrucomicrobia представлены в основном классом *Spartobacteria*, и в меньшей степени классом *Subdivision3* и порядком *Verrucomicrobiales* (род *Luteolibacter*) (см. **рис. 24**). Наибольшее количество прочтений *Acidobacteria* выявлено в сообществе СТН (45 %) (см. **рис. 22**). *Acidobacteria* представлены порядком Gr6 и неклассифицированными *Acidobacteria* (см. **рис. 24**). *Betaproteobacteria* вносят наибольший вклад в Ю3С (18 %). *Betaproteobacteria* представлены семействами *Comamonadaceae* (рода *Limnohabitans*, *Albidiferax*), *Burkholderiaceae* (род *Polynucleobacter*), *Alcaligenaceae*, и неклассифицированными *Betaproteobacteria* (см. **рис. 24**). Наибольшая доля прочтений *Alphaproteobacteria* выявлена в С7Н (8 %). *Alphaproteobacteria* представлены семействами *Rhodobacteraceae* (род *Rhodobacter*), *Sphingomonadaceae* (род *Sphingorhabdus*), *Acetobacteraceae*, порядком *Rhizobiales* и группа SAR11 (род *Pelagibacter*) (см. **рис. 24**).

Южная котловина (Ю)								Средняя котловина (Ср)						Северная котловина (С)							Заливы			ОТЕ, % идентичности						
12К	3М	МС	ЗС	ТС	ЗЛ	ЛТ	ЗТ	КМ	КХ	АС	ЗУ	УТ	ЗТ	ХК	Мв	Ах	ЗС	ЗЕ	ЕД	ЗД	КА	ЗБ	БТ		ЗТ	ТН	7Н	Бз	Чз	Мп
79	65	49	69	72	118	56	94	38	19	1008	74	148	53	122	122	151	49	49	7	85	26	256	78	74	19	72	57	27	62	1 Actinobacteria;Acidimicrobidae;Acidimicrobiaceae;Illumatobacter 99,76%
72	54	34	35	37	65	32	40	37	19	822	38	75	36	105	78	92	42	28	7	42	30	183	31	21	11	39	23	26	40	2 Actinobacteria;Acidimicrobidae;Acidimicrobiaceae;Illumatobacter 99,76%
54	29	66	18	58	38	73	52	58	22	1411	199	62	59	89	83	121	175	49	17	28	111	360	72	46	7	121	37	130	165	4 Actinobacteria 99,53%
13	13	22	10	15	16	28	6	25	18	430	71	30	17	37	30	36	58	20	2	23	42	120	20	18	11	38	11	37	82	10 Bacteria 99,76%
6	4	0	3	6	9	6	7	8	2	86	16	10	8	12	7	19	10	9	2	1	13	14	13	3	4	9	1	8	11	11 Actinobacteria;Actinobacteridae;Actinomycetales 96,45%
3	11	7	9	6	14	10	18	8	8	169	10	14	16	20	12	22	19	8	2	21	25	54	13	7	1	15	7	1	15	19 Actinobacteria;Acidimicrobidae;Acidimicrobiaceae;Illumatobacter 96,42%
7	2	5	2	2	5	2	2	0	3	64	26	6	1	3	4	7	9	5	0	6	6	54	0	0	2	39	2	20	7	24 Actinobacteria;Actinobacteridae;unclassified_Actinomycetales 99,76%
5	9	17	12	5	13	6	12	4	2	86	17	30	12	27	39	6	2	12	2	15	4	44	3	4	1	22	14	24	14	25 Actinobacteria;Acidimicrobidae;Acidimicrobiaceae;Illumatobacter 94,29%
7	4	7	1	3	7	8	3	6	6	28	9	2	2	4	3	14	7	2	0	3	2	17	0	1	1	7	0	7	17	29 Actinobacteria;Actinobacteridae;Actinomycetales 99,29%
1	2	1	2	0	1	2	2	0	0	57	5	7	6	7	5	6	3	1	1	0	5	22	0	0	0	3	3	3	1	33 Actinobacteria;Acidimicrobidae;Acidimicrobiaceae;Illumatobacter 95,7%
2	2	9	3	0	1	2	2	3	1	28	5	3	4	8	3	4	7	6	0	1	7	31	0	0	0	4	2	2	7	53 Actinobacteria;Actinobacteridae;unclassified_Actinomycetales 93,85%
2	7	4	6	7	10	1	14	3	3	65	12	14	11	12	10	6	10	8	0	21	10	38	2	3	0	11	5	7	8	56 Actinobacteria;Acidimicrobidae;Acidimicrobiaceae;Illumatobacter 95%
0	2	7	10	6	3	2	12	4	0	101	13	3	11	8	9	11	12	6	0	4	5	58	6	4	1	12	3	29	19	75 Actinobacteria;Actinobacteridae;unclassified_Actinomycetales 99,53%
0	1	1	1	1	6	3	4	9	3	46	0	4	9	12	5	19	14	3	1	2	4	6	0	3	0	1	2	0	11	81 Actinobacteria;Acidimicrobidae;Acidimicrobinae;Acidimicrobinae 91,45%
0	2	3	1	0	0	0	5	1	1	32	1	2	1	3	2	0	14	7	0	10	11	20	7	8	0	11	0	1	5	92 Actinobacteria;Actinobacteridae;Actinomycetales 99,76%
8	21	28	1	3	24	31	15	16	15	50	44	2	1	55	3	37	5	0	2	5	5	66	25	21	0	13	10	12	77	7 Bacteroidetes;Flavobacteriia;Flavobacteriaceae;Flavobacterium 97,03%
10	16	14	5	33	16	17	16	15	23	220	47	18	6	19	15	23	43	18	11	17	39	375	17	24	3	35	12	124	23	8 Bacteroidetes;Flavobacteriia;Flavobacteriaceae;Flavobacterium 99,54%
4	29	31	18	25	18	34	37	17	12	540	9	34	19	27	29	22	75	100	3	110	60	84	37	26	3	34	17	19	35	13 Bacteroidetes;Flavobacteriia;Cryomorphaceae 93,61%
3	21	8	2	25	11	29	12	2	0	239	3	16	16	25	14	19	22	15	2	18	10	24	9	7	1	5	15	7	5	14 Bacteroidetes;Sphingobacteriia;Chitinophagaceae 94,52%
6	21	12	18	7	5	25	13	13	6	291	20	21	8	9	18	15	19	29	4	23	29	135	25	5	0	26	10	79	19	20 Bacteroidetes;Sphingobacteriia;Chitinophagaceae;Sediminibacterium 99,54%
3	2	5	0	3	1	3	4	5	1	49	14	0	0	2	1	2	14	3	5	1	4	72	1	7	0	12	4	15	3	22 Bacteroidetes;Flavobacteriia;Flavobacteriaceae;Flavobacterium 98,17%
1	3	2	4	1	0	1	2	1	0	54	11	3	3	7	2	9	1	1	0	0	1	3	1	1	0	3	4	5	9	37 Bacteroidetes;Flavobacteriia;Cryomorphaceae 96,12%
1	1	1	0	0	0	2	0	4	0	77	3	0	6	4	0	2	0	0	0	3	2	24	3	0	0	2	5	6	4	45 Bacteroidetes;Flavobacteriia;Cryomorphaceae;Fluviicola 98,4%
2	8	18	1	6	8	3	6	5	4	91	13	10	9	8	9	6	5	19	1	14	2	141	5	5	0	43	4	43	9	62 Bacteroidetes;Cytophagia;Cytophagaceae 99,31%
0	14	10	6	13	18	3	13	8	11	102	17	7	2	2	10	2	9	5	1	8	5	67	10	7	1	4	4	23	10	74 Bacteroidetes;Cytophagia;Cyclobacteriaceae;Algoriphagus 99,09%
0	14	13	6	5	3	3	9	1	3	146	53	4	0	4	4	5	36	37	31	17	31	307	27	42	3	37	1	119	2	77 Bacteroidetes;Flavobacteriia;Flavobacteriaceae;Flavobacterium 98,86%
0	3	1	1	6	3	3	2	1	2	64	45	3	1	2	1	2	28	12	18	5	25	176	18	30	2	27	8	58	3	80 Bacteroidetes;Flavobacteriia;Flavobacteriaceae;Flavobacterium 98,4%
0	4	2	0	0	2	3	1	1	0	35	1	5	0	6	5	1	3	9	2	0	6	2	2	2	0	6	1	3	2	89 Bacteroidetes;Sphingobacteriia;Chitinophagaceae 95,66%

Рис. 23. Тепловая карта, показывающая количество последовательностей 16S рРНК, принадлежащих ОТЕ *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*, в образцах эпилимниона озера Байкал в 2012 г. Градации цветов от красного к белому соответствуют количеству последовательностей от максимального к минимальному.

Южная котловина (Ю)									Средняя котловина (Ср)							Северная котловина (С)							Заливы			ОТЕ, % идентичности				
12К	ЗМ	МС	ЗС	ТС	ЗЛ	ЛТ	ЗТ	КМ	КХ	АС	ЗУ	УТ	ЗТ	ХК	Мв	Ах	ЗС	ЗЕ	ЕД	ЗД	КА	ЗБ	БТ	ЗТ	ТН		7Н	Бз	Чз	Мп
46	177	68	66	35	80	95	40	33	6	1690	385	280	172	517	81	167	136	409	276	103	127	472	138	38	0	21	243	180	25	3 Verrucomicrobia;Spartobacteria; 96,91%
1	6	0	6	10	18	21	13	15	30	761	87	45	30	30	8	57	23	24	0	16	13	62	10	6	1	25	27	12	39	32 Verrucomicrobia;Subdivision3; 90,27%
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	114	1	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	3	0	71 Verrucomicrobia;Verrucomicrobiae;Verrucomicrobiaceae;Luteolibacter 96,16%
7	14	26	18	6	10	3	14	3	1	118	2	17	6	10	32	2	8	20	2	50	4	31	19	4	0	22	5	5	12	9 Alphaproteobacteria;Rhodobacteraceae;Rhodobacter 98,8%
3	2	4	0	5	3	5	1	0	3	53	14	3	4	10	3	9	2	5	2	3	1	66	5	0	0	13	6	27	5	18 Alphaproteobacteria;Sphingomonadaceae;Sphingorhabdus 98,8%
1	1	0	1	5	8	11	6	1	3	89	3	0	0	0	1	1	1	1	1	3	0	1	2	5	1	6	1	0	0	59 Alphaproteobacteria;Acetobacteraceae; 95,93%
1	0	0	0	3	1	5	5	3	1	86	2	3	2	1	2	7	3	0	0	5	3	7	2	4	0	6	1	3	6	65 Alphaproteobacteria;SAR11 clade;Candidatus Pelagibacter 99,52%
0	1	2	0	2	5	5	7	1	0	92	1	3	0	1	0	4	1	1	1	2	1	2	2	1	0	7	3	0	1	73 Alphaproteobacteria;Acetobacteraceae 96,17%
0	1	3	0	3	6	6	1	7	6	75	4	2	0	2	2	13	14	0	2	4	7	10	1	6	0	6	1	0	0	76 Alphaproteobacteria;Rhizobiales 99,04%
18	39	53	40	23	27	20	23	10	2	368	38	50	42	39	30	16	7	22	11	37	7	139	28	22	1	87	13	49	18	5 Betaproteobacteria;Comamonadaceae;Limnohabitans 99,77%
9	11	39	30	3	13	9	13	1	3	208	13	15	12	16	21	3	3	11	5	6	3	18	6	13	1	9	14	7	13	12 Betaproteobacteria;Comamonadaceae 98,65%
8	3	4	3	1	6	6	0	4	7	93	1	5	9	2	9	13	1	4	0	1	4	29	5	4	2	8	7	3	10	15 Betaproteobacteria 99,55%
2	7	5	8	1	3	1	0	1	0	54	4	2	4	5	2	1	2	5	10	2	1	27	4	29	0	8	10	2	4	36 Betaproteobacteria;Comamonadaceae;Albidiferax 99,1%
0	0	2	2	1	0	0	0	0	1	64	1	0	0	0	0	3	7	1	0	1	1	4	4	2	0	7	2	2	1	82 Betaproteobacteria;Alcaligenaceae;unclassified_Alcaligenaceae 99,55%
0	3	1	0	2	1	1	1	4	1	23	10	2	2	3	4	4	5	3	2	1	2	20	10	6	1	38	2	10	5	100 Betaproteobacteria;Burkholderiaceae;Polynucleobacter 99,77%
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	11	32	0	4	1	21	8	2	1	2	0	0	9	0	449 Gammaproteobacteria;Moraxellaceae;Acinetobacter 99,77%
1	1	0	2	2	6	8	7	19	13	96	10	3	0	5	0	4	4	1	0	2	5	8	5	11	4	13	0	1	0	58 Acidobacteria;Gp6 98,19%
1	36	1	8	39	102	58	80	67	165	1077	105	51	7	44	53	190	116	52	22	52	90	174	50	106	53	102	21	22	17	61 Acidobacteria;Gp6 96,63%
0	1	0	0	0	3	1	2	10	21	113	8	4	2	1	2	12	4	2	1	0	2	8	7	11	5	5	1	1	0	72 Acidobacteria 97,07%
0	0	0	0	2	8	5	6	7	10	75	6	1	0	0	0	8	0	0	0	0	3	9	2	11	9	9	3	0	0	90 Acidobacteria;Gp6 97,29%
1	1	4	7	1	2	4	0	0	0	9	0	2	3	0	2	0	3	8	0	14	2	21	7	3	1	5	0	1	2	30 Cyanobacteria;Family II;GpIIa/ Synechococcus 99,76%
4	5	6	7	0	2	1	6	0	0	15	1	7	0	4	4	3	14	11	0	50	26	68	105	12	2	37	0	4	0	40 Cyanobacteria;Family II;GpIIa/ Microcystis 99,52%
4	7	27	2	3	6	11	12	2	3	115	0	20	9	8	17	15	49	25	1	118	84	97	168	10	3	36	9	9	21	42 Cyanobacteria;Family II;GpIIa/ Synechococcus 99,52%
12	5	2	2	9	4	3	3	3	0	78	0	2	2	2	18	4	1	1	1	15	2	3	0	0	1	3	0	0	7	6 Planctomycetes;Phycisphaerae;Phycisphaeraceae;Phycisphaera 88,78%
0	18	4	0	0	3	1	1	8	0	60	1	1	2	0	9	5	1	0	0	8	1	5	0	0	0	0	3	2	5	78 Bacteria 87,86%
1	2	1	7	3	2	2	2	5	2	72	9	5	14	3	10	4	8	1	0	3	13	26	1	2	1	7	0	2	5	39 Bacteria;unclassified 82,19%

Рис. 24. Тепловая карта, показывающая количество последовательностей 16S рНК, принадлежащих ОТЕ *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Cyanobacteria* и *Planctomycetes*, в образцах эпилимниона озера Байкал в 2012 г. Градации цветов от красного к белому соответствуют количеству последовательностей от максимального к минимальному.

Прочтения *Gammaproteobacteria* составляют до 3,5 % и выявлены не во всех образцах. *Gammaproteobacteria* представлены семейством *Moraxellaceae* (род *Acinetobacter*) (см. **рис. 24**). Прочтения *Cyanobacteria* вносят наибольший вклад в образце СБТ (26 %) (см. **рис. 22**) и представлены родами *Synechococcus* и *Microcystis* (см. **рис. 24**).

Последовательности, принадлежащие филумам *Planctomycetes*, TM7, *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes*, *Armatimonadetes*, *Spirochaetes*, BRC1, WS3, SR1, OD1, *Nitrospira*, *Deinococcus-Thermus*, *Chlamydiae*, составляют 1,8 % от общего количества последовательностей во всех образцах. Минорные таксоны вносят незначительный вклад в бактериальные сообщества, однако увеличивают их богатство. Больше всего редких таксонов отмечено в сообществах Чз, СрАС, СрАх, СЗБ, С7Н (**рис. 25**), для которых выявлены и наибольшие значения богатства и разнообразия в сравнении с другими сообществами (см. **табл. 2**).

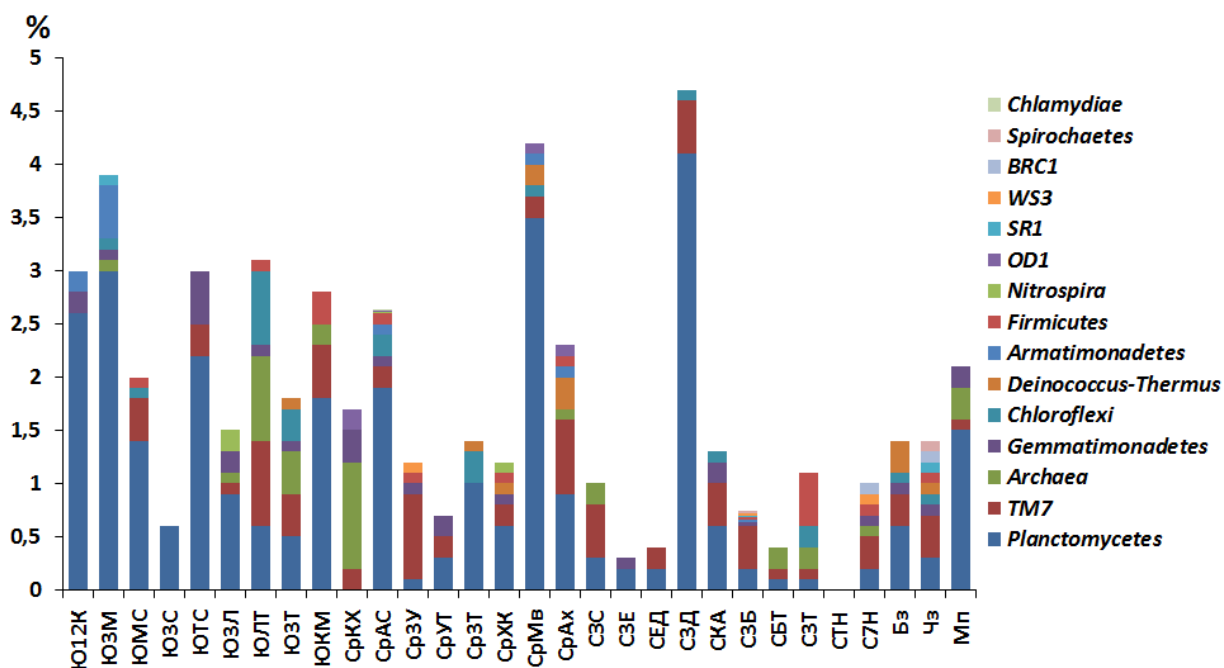


Рис. 25. Состав минорных таксонов домена Bacteria и Archaea в эпилимнионе озера Байкал в 2012 г. по данным анализа последовательностей фрагментов генов 16S рРНК.

В результате пиросеквенирования ампликонов V3 региона генов 16S рРНК для 4 образцов для проб, отобранных в 2013 г., получены

последовательности средней длиной 240 п. н. В бактериальных сообществах эпилимниона выявлено 16 филумов домена Bacteria. Представители филумов *Actinobacteria* (30,1 % от общего количества последовательностей во всех образцах), *Verrucomicrobia* (16,2 %), *Proteobacteria* (6,7 %), *Bacteroidetes* (4,2 %), *Acidobacteria* (2,7 %) составляют 59,9 % по количеству последовательностей и представлены во всех образцах в различных соотношениях (рис. 26). Неклассифицированные Bacteria составляют 37,4 % от общего количества последовательностей. Последовательности, принадлежащие филумам *Planctomycetes*, TM7, *Cyanobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Armatimonadetes*, *Aminicenantes*, BRC1, *Chloroflexi*, *Deinococcus-Thermus*, *Firmicutes* и *Latescibacteria*, составляют 0,3 % от общего количества последовательностей во всех образцах.

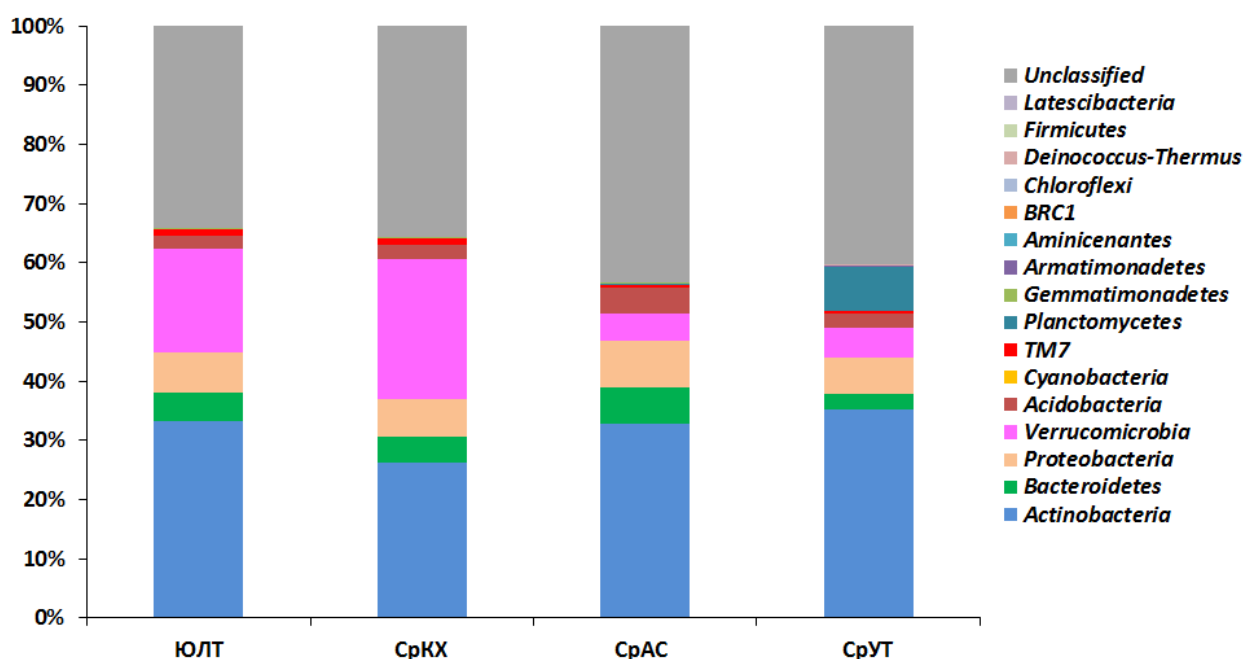


Рис. 26. Состав филумов домена Bacteria в эпилимнионе озера Байкал в 2013 г. по данным анализа последовательностей фрагментов генов 16S рРНК.

Таким образом, в настоящем исследовании представители филумов *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia* и *Proteobacteria* вносят наибольший вклад в бактериальных сообществах эпилимниона озера Байкал в течение развития фитопланктона в весенне-летний период. Повсеместная встречаемость представителей этих таксонов в эпилимнионе озера Байкал

может быть связана с их адаптацией к этой экологической нише и наличием субстратов, используемых в качестве источников углерода и энергии для их метаболизма. *Actinobacteria* широко распространены в пресных озерах [182], в том числе олиготрофных [147], и составляют более 50 % численности бактерий в верхних слоях воды озер [134]. Доминирование *Actinobacteria* в водоемах может быть связано с их резистентностью к ультрафиолету солнечных лучей [238]. В геноме представителей асI линии *Actinobacteria*, изолированных из четырех озер, выявлены гены, вовлеченные в потребление углеводов, что подтверждает важную роль этих бактерий в цикле углерода в водных экосистемах [133]. Пресноводные *Actinobacteria* имеют небольшие размеры ($<0,05 \text{ мкм}^3$), что может служить им защитой от поедания гетеротрофными флагеллятами [154]. *Actinobacteria* доминируют в эпилимнионе олигомезотрофного альпийского озера Пибургер на протяжении всего года и имеют весенний пик развития, совпадающий с пиком гетеротрофных флагеллят, и осенний в течение цветения диатомеи *Asterionella formosa* [209].

Численность *Flavobacteria* была выше в течение прибрежного развития диатомей в Северном море [229] и в течение цветения фитопланктона в преальпийском озере Цюрих (Швейцария), чем до цветения, что доказывает стимулирование развития этих бактерий экзометаболитами фитопланктона [249]. *Flavobacteria* многочисленны в водных экосистемах в период высокой первичной продукции [245], ассоциированы с фитопланктоном и участвуют в расщеплении полисахаридов [162, 229].

Verrucomicrobia (21-55 %) и *Actinobacteria* доминировали в составе микробных сообществ эуфотической зоны ультраолиготрофного озера Крейтер (Орегон, США), где по биомассе преобладали Bacillariophyta, в некоторых случаях Chlorophyta, Chriysophyta, Dinophyta [234, 235]. Представителем класса *Verrucomicrobiae* является вид культивируемых бактерий *Luteolibacter algae*, который изолировали с красной водоросли. *L. algae* – хемоорганотроф, окисляющий моно- и дисахариды [246].

Spartobacteria, принадлежащие *Verrucomicrobia*, составляли более 10 % прочтений в образцах слабосоленых вод Балтийского моря в течение лета, что показано с помощью пиросеквенирования ампликонов 16S рРНК [142]. В геноме *Spartobacteria baltica* выявлены гены, кодирующие гликозид гидролазы, расщепляющие комплексные углеводы [143].

В настоящем исследовании наибольшее количество прочтений *Betaproteobacteria* принадлежит роду *Limnohabitans*, выявлен род *Polynucleobacter*. *Limnohabitans* и *Polynucleobacter* являются доминирующими родами в классе *Betaproteobacteria* в эпилимнионе 72 различных пресноводных местообитаний. Эти бактерии способны использовать в качестве субстрата углеводы, продуцируемые водорослями [155]. При сокультивировании штаммов *Limnohabitans* с аксеничными культурами *Chryptomonas* sp., *Chlamydomonas noctigama* Korschikov, и *Pediastrum boryanum* (Turpin) Meneghini и с их экзометаболитами, происходило увеличение роста бактерий [222]. *Acidobacteria* в настоящем исследовании выявлены на всех станциях озера Байкал и представлены Gr6. Максимальные доли *Acidobacteria* выявлены на станциях напротив дельты Селенги и реки Тья, что, вероятно, связано с привнесением этих бактерий из рек. *Acidobacteria* является одной из доминирующих групп микробных сообществ почв, ризосферы [153, 169] и глубоководных морских экосистем [194]. *Acidobacteria* составляли 6,9 % в составе микробного сообщества придонного слоя осадка, содержащего створки диатомей, в южной котловине озера Байкал и представлены были Gr6 [248].

4.3. Сравнительный анализ бактериальных сообществ

При сравнении бактериальных сообществ с помощью метода главных компонент и UPGMA дендрограмм с использованием индекса Брея-Кертиса показано, что большинство бактериальных сообществ эпилимниона озера Байкал группируются вместе, за исключением четырех сообществ (СЗБ, СрАС, СрКХ, СТН) (рис. 27).

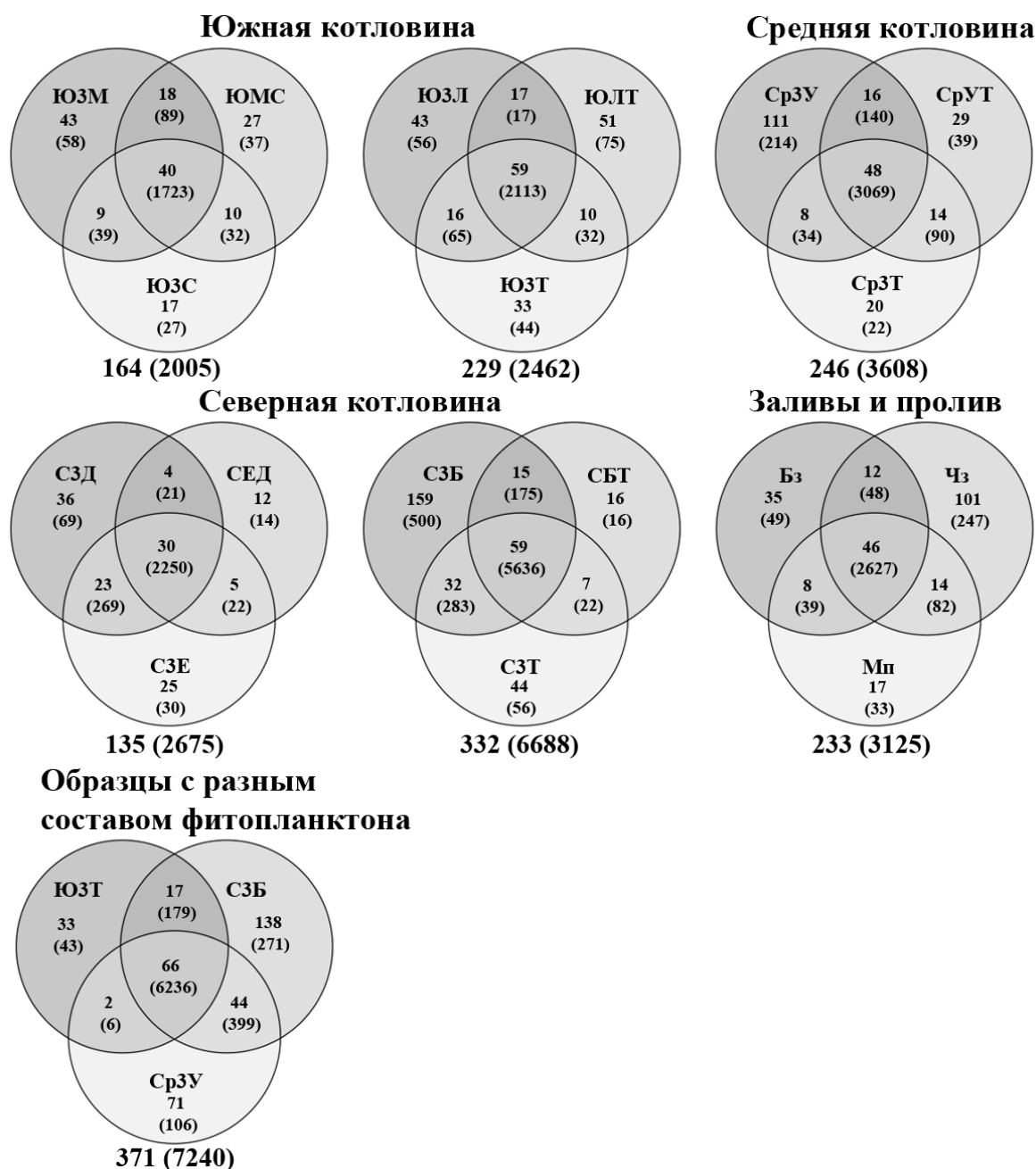


Рис. 28. Диаграммы Венна, построенные для ОТЕ 0,03 из бактериальных сообществ эпилимниона озера Байкал. Цифрами обозначено количество ОТЕ, цифрами в скобках обозначено количество относящихся к ним последовательностей.

Для анализа выбраны образцы из станций центральных разрезов трех котловин, заливов и пролива. Количество общих ОТЕ в большинстве образцов выше, чем уникальных. И общим ОТЕ принадлежит наибольшее количество последовательностей. В образцах, различающихся по составу фитопланктона, общим ОТЕ принадлежит большее количество

последовательностей, чем уникальным ОТЕ, что свидетельствует о сходстве бактериальных сообществ вне зависимости от различий в составе фитопланктона (см. **рис. 28**). Наличие обильных общих ОТЕ в сообществах бактерий из районов озера, пространственно расположенных далеко друг от друга, свидетельствует о существовании единого микробного метасообщества в эпилимнионе озера Байкал. Термин «метасообщество» описывает ряд локальных сообществ, связанных множеством потенциально взаимодействующих видов [171, 175]. В формировании микробного метасообщества в эпилимнионе озера Байкал может участвовать межкотловинный горизонтальный водообмен, основной вклад в который вносят ветровые и дрейфовые течения. Под действием течений воды из одной котловины могут проникать в виде отдельных струй на большие расстояния в соседние котловины [62].

4.4. Разнообразие сообществ одноклеточных эукариот

Различные группы организмов в составе сообществ одноклеточных эукариот пелагиалаи Байкала исследуют, как правило, с помощью световой микроскопии [41, 193]. В настоящее время успехи в выявлении глобального биоразнообразия эукариот связаны с применением технологий массового параллельного секвенирования и биоинформатики [89]. Использование пиросеквенирования фрагментов генов 18S рРНК позволит существенно расширить представления о разнообразии и составе сообществ одноклеточных эукариот эпилимниона озера Байкал.

В результате пиросеквенирования ампликонов V3 регионов генов 18S рРНК получены последовательности со средней длиной 180 п. н. После выравнивания, пре-кластеризации, удаления химерных последовательностей для 30 образцов было получено 420772 последовательности, принадлежащих Eukaryota, из которых затем удалили последовательности Metazoa. В итоге общее количество последовательностей составило 260064, представленное 2442 ОТЕ для генетической дистанции 0,03, из которых 1438 ОТЕ

принадлежит синглетонам. Количество ОТЕ и разнообразие было наибольшим в сообществах средней (178–406; 2,94–3,60) и северной (49–427; 2,49–3,84) котловин, чем в южной (102–315; 2,16–3,37) (табл. 3).

Таблица 3

Богатство и разнообразие сообществ одноклеточных эукариот эпилимниона озера Байкал в 2012 г.

Образцы	Количество прочтений	ОТЕ _{0,03}	ACE	Chao1	Shannon
Ю12К	10324	247	1869	844	2,58
Ю3М	3472	139	348	221	3,22
ЮМС	14890	310	1528	758	2,99
Ю3С	7946	178	740	411	2,16
ЮТС	14720	315	1533	816	3,37
Ю3Л	1496	102	279	170	2,94
ЮЛТ	9086	252	1034	555	3,19
Ю3Т	11145	271	1714	710	3,28
ЮКМ	3975	173	603	416	3,26
СрКХ	2983	186	577	372	3,38
СрАС	4101	178	461	370	3,18
Ср3У	6786	305	963	738	2,94
СрУТ	5610	214	742	461	3,25
Ср3Т	12930	269	918	522	3,04
СрХК	7897	234	727	450	3,34
СрМв	27045	406	1123	824	3,55
СрАх	8743	277	855	596	3,60
С3С	7732	231	737	473	3,37
С3Е	10845	232	1144	718	3,34
СЕД	464	62	110	89	3,14
С3Д	13276	213	643	455	2,49
СКА	2139	91	188	136	2,68
С3Б	12666	330	891	569	3,22
СБТ	10248	214	768	475	3,23
С3Т	8402	210	630	425	2,75
СТН	360	49	94	79	2,91
С7Н	11026	427	1484	990	3,84
Бз	12659	312	1262	668	3,21
Чз	12508	371	1109	742	2,92
Мп	4591	175	530	373	3,39

В образце из Малого моря (Мп) было наименьшее богатство (175) и наибольшее разнообразие (3,39), в сравнении с Чивыркуйским (Чз) (371, 2,92) и Баргузинским (Бз) (312; 3,21) заливами (см. табл. 3). Индексы ACE и

Выявленные царства представлены типами Dinophyta (24,1 % от общего количества последовательностей во всех образцах), Ochrophyta (классы Chrysophyceae (9,9 %), Eustigmatophyceae (2,6 %), Dictyochophyceae (1,8 %), Synurophyceae (0,4 %)), Chlorophyta (9,2 %), Ciliophora (8,3 %), Cryptophyta (5,7 %), Haptophyta (4 %), Cercozoa (2,8 %), Bacillariophyta (1,3 %), Katablepharidophyta (0,7 %), Choanozoa (0,6 %), Tracheophyta (0,3 %), Bigyra (0,1 %) (см. **рис. 29**).

Вклад последовательностей Dinophyta в различных сообществах озера варьирует от 7,9 % (С7Н) до 39,8 % (Ю3Л), а в сообществах из южной котловины Ю12К (51,3 %) и Чивыркуйского залива (Чз) составляет 51,3 % и 46,5 % соответственно (см. **рис. 29**). Chlorophyta вносят наибольший вклад в сообществах северной котловины (8,2-39,3 %), чем в средней и южной (1,3-11,6 %) (см. **рис. 29**). Максимум Chlorophyta отмечается для сообщества со станции северной котловины С3Д (39,3 %) (см. **рис. 29**), на которой температура верхних слоев воды (5,15 °С) выше, чем на других станциях открытого Байкала, за исключением одной станции средней котловины Ср3Т (5,42 °С) (см. **рис. 3**).

Вклад Haptophyta в большинстве сообществ варьирует в пределах 0,4-4,9 %, кроме одного сообщества южной котловины Ю3М (12,2 %), Чивыркуйского залива (Чз) (11,6 %), и трех северной котловины С3Е (8,9 %), С3Б (12,85 %), С3Т (20,1 %). Соотношение Chrysophyceae варьирует от 3,6 % (СрУТ) до 17,2 % (ЮТС), а в сообществе северной котловины С7Н достигает 24,2 %. Соотношение Ciliophora в сообществах котловин озера и заливов варьирует в диапазоне от 1,1 % (С3Т) до 17,6 % (СрУТ), а для Малого моря (Мп) достигает 24,5 %. Вклад Cryptophyta в основном от 1,6 % (Ю3С) до 10,2 % (Ю3М, ЮЛТ), но в сообществе северной котловины С3Т достигает 16,6 % (см. **рис. 29**).

Соотношение Eustigmatophyceae в различных сообществах варьирует от 0,2 % (Чз) до 6,7 % (СЕД); Dictyochophyceae – от 0,2 % (Ю12К) до 5,1 % (СрМв); Cercozoa – от 0,2 % (Ю3С) до 9,4 % (СБТ, СТН). Вклад

последовательностей Bacillariophyta достигает 6,9 % (СрАх), Synurophyceae – 1,4 % (СЗЕ), Katablepharidophyta – 2,7 % (Мп), Choanozoa – 2,1 % (СЗС), Tracheophyta – 1,4 % (СрМв), Bigyra – 0,6 % (Чз) (см. **рис. 29**). Наибольший вклад представителей царства Fungi отмечается в сообществах южной котловины ЮЗС (44,5 %), ЮМС (26,4 %), ЮЗТ (18,8 %), Ю12К (15,3 %), ЮТС (14,6 %) и одного сообщества северной – СКА (21,7 %), а наименьший – в сообществах средней котловины (0,2-4,2 %). В различных образцах доля неклассифицированных последовательностей варьирует от 3,7 % (ЮЗС) до 44,7 % (СрЗТ) (см. **рис. 29**). Распределение и количество последовательностей 53 наиболее крупных классифицированных ОТЕ представлены на **рисунках 30, 31**.

По данным пиросеквенирования вклад последовательностей Bacillariophyta в различных сообществах озера не превышает 6,9 % (см. **рис. 29**) однако по данным световой микроскопии в 2012 г. диатомеи доминируют во всех котловинах по численности и биомассе среди других групп фитопланктона (см. **рис. 10**). Предполагаемой причиной небольшого вклада последовательностей Bacillariophyta в различных образцах может быть низкое количество выделенной из природных проб ДНК диатомей, вследствие наличия у них кремнистых клеточных стенок, при недостаточном разрушении которых, большая часть ДНК осталась неэкстрагированной. В то же время другие представители эукариот, выявленные в настоящей работе не имеют таких прочных клеточных стенок, как у диатомей, и их представленность по количеству последовательностей в различных образцах высокая (см. **рис. 29**). Кроме того, чтобы наиболее полно выявить разнообразие микроорганизмов, необходимо подобрать праймеры для определенных групп одноклеточных эукариот и выбрать один или несколько регионов гена 18S рРНК наиболее подходящих для идентификации целевых групп микроорганизмов [89, 157, 183, 224].

Южная котловина (Ю)									Средняя котловина (Ср)							Северная котловина (С)							Заливы			ОТЕ, % индентичности				
12К	3М	МС	ЗС	ТС	ЗЛ	ЛТ	ЗТ	КМ	КХ	АС	ЗУ	УТ	ЗТ	ХК	Мв	Ах	ЗС	ЗЕ	ЕД	ЗД	КА	ЗБ	БТ	ЗТ	ТН		7Н	Бз	Чз	Мп
1149	328	2463	580	2176	488	1835	1792	636	553	518	2311	1251	1340	1115	3654	1020	949	666	94	1386	45	2482	510	216	12	178	1890	3907	288	1 Dinophyta; Dinophyceae;Gymnodiniaceae;Gyrodinium 100%
4131	278	1936	2129	1061	103	1158	695	433	432	225	310	433	693	332	1875	927	844	1078	40	354	318	1586	456	1157	26	686	448	1851	299	2 Dinophyta; Dinophyceae 100%
11	1	24	10	18	2	11	22	6	13	9	6	15	9	12	21	7	9	3	3	5	2	14	2	3	1	6	22	36	4	63 Dinophyta; Dinophyceae;Gymnodiniaceae;Gyrodinium 99%
8	6	12	0	14	3	12	18	6	6	5	16	7	8	3	21	14	7	7	0	3	2	6	3	1	0	0	20	18	4	69 Dinophyta; Dinophyceae;Gymnodiniaceae;Gyrodinium 98%
178	7	227	93	151	30	254	326	180	196	86	27	619	469	289	2109	527	122	295	9	75	16	107	577	20	29	54	203	8	902	9 Ciliophora;Spirotrichea;Stichotrichia;Sporadotrichida;Halteria 100%
326	84	292	37	83	0	0	16	1	0	59	592	324	1063	792	1189	182	187	90	9	20	0	22	0	2	0	1	1099	68	190	12 Ciliophora;Oligohymenophorea;Peniculida;Stokesia 98%
61	6	45	39	112	4	44	166	14	14	2	7	3	11	14	332	73	356	928	1	619	2	55	44	17	0	29	51	78	15	19 Ciliophora;Spirotrichea;Choreotrichia;Tintinnida;Tintinnidium 100%
12	1	10	1	341	52	179	166	142	112	4	32	11	3	2	2	32	10	13	2	50	6	99	28	1	0	21	9	149	0	31 Ciliophora;Spirotrichea;Choreotrichia;Tintinnida;Tintinnopsis 99%
21	10	17	1	19	0	8	9	0	6	5	11	13	35	39	80	0	13	67	0	21	2	21	17	13	0	29	27	15	14	54 Ciliophora;Spirotrichea;Oligotrichia;Strombidium 98%
35	0	33	15	38	0	4	7	3	30	1	29	11	29	34	12	21	2	9	2	0	0	0	1	5	1	1	144	5	6	56 Ciliophora;Oligohymenophorea;Scuticociliatia;Histiohalantium 99%
0	1	0	0	67	0	0	113	0	0	0	3	3	0	0	0	0	98	0	0	0	137	0	44	0	0	3	0	0	0	57 Ciliophora;Litostomatea;Haptoria;Haptorida;Cyclotrichium 98%
0	29	5	0	10	0	0	2	0	0	5	12	3	4	16	4	0	1	10	0	0	0	40	13	33	0	23	15	61	0	64 Ciliophora;Spirotrichea;Oligotrichia;Strombidiidae 100%
11	0	5	4	85	0	1	3	2	2	1	26	1	19	8	3	5	2	0	0	0	0	0	0	1	0	1	18	0	0	71 Ciliophora;Litostomatea;Haptoria;Haptorida;Didinium 98%
70	168	271	17	909	73	488	162	158	28	40	22	73	189	233	566	467	878	891	8	5015	391	1202	2305	916	64	777	97	134	43	3 Chlorophyta;Trebouxiophyceae;Microthamniales;Koliella 100%
147	123	84	48	264	43	185	94	66	16	41	16	30	100	123	647	211	106	168	14	160	18	118	61	142	0	214	222	98	59	17 Chlorophyta;Chlorophyceae;Chlamydomonas 100%
30	24	90	29	357	12	22	252	11	5	5	3	6	55	58	308	74	4	16	8	29	18	113	109	32	8	32	34	12	11	25 Chlorophyta;Trebouxiophyceae 100%
28	31	60	2	149	28	85	69	38	1	2	8	13	51	54	121	74	4	32	8	4	0	0	0	17	1	59	70	0	15	39 Chlorophyta;Chlorophyceae;Chlamydomonas 100%
15	1	14	10	31	2	14	16	6	10	4	3	25	22	23	279	180	37	19	0	13	4	5	10	5	2	12	19	0	64	43 Chlorophyta;Chlorophyceae;Scenedesmeaceae;Didymocystis 98%
0	1	26	0	1	2	15	11	1	22	1	7	0	23	77	378	64	45	8	0	2	8	3	5	15	1	8	6	1	2	46 Embryophyta;Tracheophyta;Magnoliophyta 99%
283	275	1003	236	1102	54	367	924	137	78	132	228	102	426	319	1156	295	446	590	36	1139	358	484	546	1169	36	1846	748	370	110	4 Chrysophyceae;Chromulinales;Chromulinaceae;Spumella 100%
221	177	618	130	1393	107	792	718	483	203	422	53	92	58	34	456	214	213	297	36	281	26	602	197	306	1	812	359	679	377	7 Chrysophyceae 100%
117	17	24	95	85	4	8	100	13	11	13	2	1	9	4	37	20	93	150	2	39	10	9	33	25	2	64	3	5	0	40 Synurophyceae;Synurales;Synuraceae;Chrysosphaerella 100%
6	0	18	5	42	9	50	38	20	51	25	16	6	4	5	120	6	3	0	2	3	0	8	0	1	2	16	23	9	1	55 Chrysophyceae 100%
185	54	381	68	152	13	143	91	41	15	144	100	120	634	288	2173	390	116	138	31	136	22	97	387	87	5	142	148	25	321	13 Eustigmatophyceae;Monodopsidaceae;Nannochloropsis 99%
141	6	109	23	519	12	64	39	201	97	24	36	76	142	208	194	599	29	26	4	24	3	5	2	4	0	10	472	31	10	20 Bacillariophyta;Fragilariophyceae;Synedra 100%
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	154	0	2	0	1	0	113	0	65 Bacillariophyta;Coscinodiscophyceae;Urosolenia 98%

Рис. 30. Тепловая карта, показывающая количество последовательностей 18S рНК, принадлежащих ОТЕ Dinophyta, Ciliophora, Chlorophyta, Embryophyta, Chrysophyceae, Synurophyceae, Eustigmatophyceae и Bacillariophyta в образцах эпилимниона озера Байкал в 2012 г. Градации цветов от красного к белому соответствуют количеству последовательностей от максимального к минимальному.

Южная котловина (Ю)										Средняя котловина (Ср)							Северная котловина (С)									Заливы			ОТЕ, % индентичности			
12К	3М	МС	ЗС	ТС	ЗЛ	ЛТ	ЗТ	КМ		КХ	АС	ЗУ	УТ	ЗТ	ХК	Мв	Ах		ЗС	ЗЕ	ЕД	ЗД	КА	ЗБ	БТ	ЗТ	ТН	7Н		Бз	Чз	Мп
13	20	100	13	59	3	40	75	16		6	13	10	17	77	57	1168	98		130	420	1	214	4	184	77	31	0	97	26	47	41	21 Dictyochophyceae;Pedinellales;Apedinella 98%
10	49	23	10	20	5	15	20	0		4	22	12	16	31	16	117	29		143	97	2	47	2	75	135	60	0	56	47	148	40	34 Dictyochophyceae;Pedinellales;Apedinella 99%
1	0	4	1	2	0	2	2	4		2	6	3	7	5	2	101	6		2	24	0	36	0	56	5	0	1	42	2	18	15	59 Dictyochophyceae;Pedinellales;Apedinella 98%
0	0	0	0	1	0	0	0	0		0	1	2	2	4	1	63	0		1	2	0	0	2	79	21	0	0	7	5	80	0	66 Bigyra;Bicosoecia 99%
140	164	241	67	739	70	697	409	142		78	105	66	93	156	111	636	353		75	110	20	148	45	136	375	1216	9	494	112	61	165	11 Cryptophyta;Geminigeraceae;Teleaulax 99%
83	129	51	38	129	12	73	233	35		19	12	14	88	114	29	519	86		113	231	4	38	7	3	3	34	0	19	54	0	14	22 Cryptophyta;Cryptomonadaceae;Cryptomonas 99%
8	34	85	7	270	7	138	154	18		17	32	5	18	33	31	348	164		31	36	0	52	16	32	161	88	3	16	37	1	84	24 Cryptophyta;Chroomonadaceae;Chroomonas 99%
5	1	16	5	61	2	90	28	32		7	6	9	95	11	5	79	116		35	29	0	51	10	260	202	25	8	166	1	272	124	26 Katablepharidophyta;Katablepharidaceae 100%
0	2	57	5	1	1	2	11	0		0	7	7	25	168	165	425	42		9	10	0	3	0	42	33	2	0	5	147	20	8	35 Cryptophyta 98%
0	21	0	1	2	0	0	2	0		2	0	14	0	2	0	5	1		19	43	0	1	0	336	0	3	0	439	0	237	0	36 Cryptophyta;Cryptomonadaceae;Cryptomonas 100%
0	2	28	8	3	0	2	10	1		0	12	6	37	46	56	213	6		7	9	0	4	0	22	19	0	1	5	198	27	4	47 Cryptophyta 99%
8	3	17	1	32	1	20	19	7		6	4	8	3	6	4	22	19		1	1	0	5	3	5	8	55	1	65	5	4	12	61 Cryptophyta 99%
21	356	141	44	80	10	47	62	26		26	105	98	19	119	43	1010	175		314	910	7	277	11	1600	327	1601	0	417	35	1444	120	8 Haptophyceae;Prymnesiales;Chrysochromulina 100%
17	69	39	7	91	9	80	80	30		9	4	8	20	39	14	83	41		12	57	6	12	7	27	41	84	5	121	39	5	31	38 Haptophyceae 100%
1404	20	3502	3286	928	1	3	1464	13		2	0	14	0	7	2	140	3		168	225	41	44	384	16	472	70	3	48	27	0	7	6 Fungi 99%
59	0	148	79	28	0	0	59	2		1	0	25	0	0	0	5	0		3	16	0	1	11	0	17	3	0	9	0	0	0	58 Fungi 99%
51	2	102	19	1018	8	13	467	5		8	12	8	4	4	12	20	137		53	21	7	36	3	2	15	0	0	25	4	3	1	23 Fungi 98%
0	18	8	0	68	2	39	11	14		1	2	0	3	25	24	17	30		152	234	0	501	24	68	243	2	1	143	9	8	2	28 Fungi;Chytridiomycota;Chytridiomycetes;Rhizophydiales 100%
0	6	12	7	46	7	254	23	36		36	15	7	2	96	20	174	196		55	7	2	36	24	11	102	94	1	212	14	8	26	30 Fungi;Basidiomycota;Tremellomycetes;Cryptococcus 100%
54	0	165	147	44	0	1	62	2		0	0	0	0	0	0	5	0		10	16	3	2	14	0	30	1	0	1	0	0	0	53 Fungi 99%
8	2	0	0	14	9	48	4	18		34	0	15	0	0	0	0	1		0	1	0	0	0	56	0	0	0	46	26	62	0	62 Fungi;Chytridiomycota;Chytridiomycetes;Rhizophydiales 99%
1	6	0	0	1	0	2	0	0		0	3	17	0	0	0	5	0		5	5	0	33	5	21	65	2	0	4	27	12	0	70 Fungi;Chytridiomycota;Chytridiomycetes;Spizellomycetaceae 99%
43	31	86	11	193	41	272	85	160		42	21	13	121	192	178	347	75		366	602	3	196	14	102	714	28	25	359	493	19	51	14 Rhizaria;Cercozoa 98%
0	2	16	1	3	0	0	2	3		3	16	20	7	42	21	224	44		6	9	0	0	2	105	140	4	3	58	50	79	7	42 Rhizaria;Cercozoa 99%
11	8	15	3	33	10	83	15	29		55	3	16	60	10	7	35	49		1	6	1	7	0	60	9	6	3	92	47	63	57	45 Rhizaria;Cercozoa;Thaumatomonadida;Thaumatomastigidae 99%
13	2	26	4	47	1	8	20	3		0	0	0	34	24	9	134	59		3	12	0	9	2	34	100	1	3	29	2	9	59	49 Rhizaria;Cercozoa 99%
114	5	184	76	6	0	0	25	0		0	15	13	88	156	127	406	3		165	133	2	6	0	17	0	0	0	1	113	28	16	27 Choanozoa;Choanoflagellata;Codonosigaceae;Sphaeroeca 99%

Рис. 31. Тепловая карта, показывающая количество последовательностей 18S рРНК, принадлежащих ОТЕ Dictyochophyceae, Bigyra, Cryptophyta, Katablepharidophyta, Haptophyceae, Fungi, Rhizaria и Choanozoa в образцах эпилимниона озера Байкал в 2012 г. Градации цветов от красного к белому соответствуют количеству последовательностей от максимального к минимальному.

4.6. Сравнительный анализ сообществ одноклеточных эукариот

При сравнении сообществ одноклеточных эукариот на разных станциях эпилимниона озера Байкал с помощью метода главных компонент и UPGMA дендрограмм с использованием индекса Брея-Кертиса установлено, что сообщества образуют несколько отдельных групп (рис. 32).

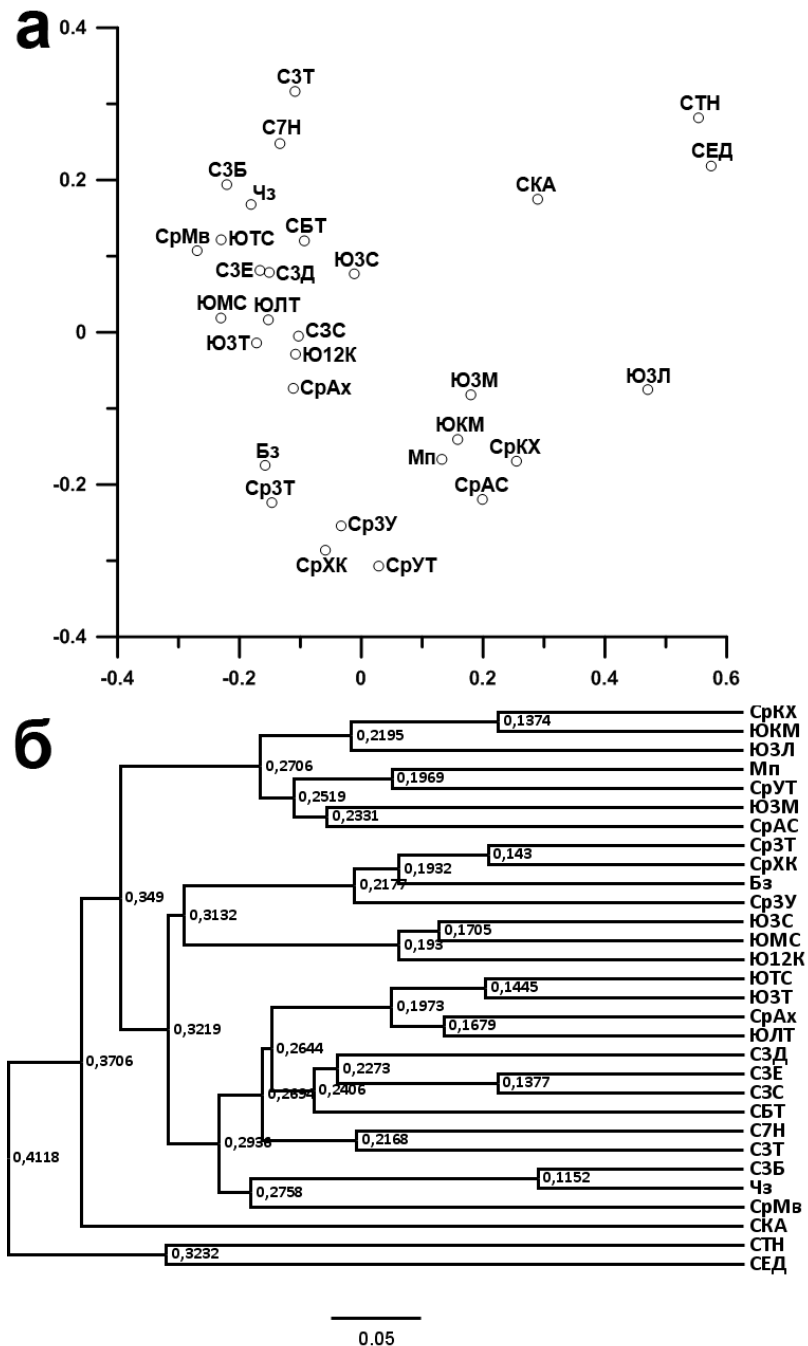


Рис. 32. Сравнение сообществ одноклеточных эукариот эпилимниона озера Байкал с помощью МГК (а) и UPGMA дендрограммы (б), построенных по ОТЕ 0,03 на основании индекса сходства Брея-Кертиса.

Таким образом, с помощью пиросеквенирования фрагментов генов 16S рРНК и 18S рРНК определен состав сообществ микроорганизмов в эпилимнионе озера Байкал. Микроорганизмы, входящие в состав трофической сети пелагиали водных экосистем, в зависимости от размеров подразделяют на фемтопланктон (0,02-0,2 μm), пикопланктон (0,2-2 μm), нанопланктон (2-20 μm) и микропланктон (20-200 μm) [178].

Представители фемтопланктона – вирусы – не рассматриваются в нашей работе, однако они играют важную роль в формировании структуры и функционировании пищевой сети водных экосистем [244] и потенциально могут влиять на структуру бактериальных и эукариотических сообществ озера Байкал.

Автотрофный пикопланктон в озере представлен *Cyanobacteria* (*Synechococcus*, *Microcystis*) (см. **рис. 24**), наибольший вклад по количеству прочтений они вносят на некоторых станциях северной котловины (СЗД, СКА, СБТ), чем в южной и средней (см. **рис. 22**). Основными представителями автотрофного пикопланктона Байкала являются *Synechocystis limnetica* [192] и *Synechococcus* spp. [86]. *Cyanobacteria* имеют высокую численность при низкой биомассе микрофитопланктона в пелагиали озера весной и летом с максимальными пиками развития в северной котловине [192].

Гетеротрофный пикопланктон представлен *Bacteria*, среди которых основной вклад по количеству прочтений вносят *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria* (см. **рис. 22**). Бактерии потребляют органический углерод, продуцируемый фитопланктоном, а также другими организмами, населяющими водную толщу, и служат пищей для гетеротрофных флагеллят и простейших [97].

Представителями автотрофного нанопланктона были *Chlorophyta* (*Chlamydomonas*, *Didymocystis*), *Eustigmatophyceae* (*Nannochloropsis*), *Synurophyceae* (*Chrysophaerella*), *Dictyochophyceae* (*Apedinella*), *Cryptophyta* (*Chroomonas*, *Teleaulax*), *Haptophyceae* (*Chrysochromulina*) (см. **рис. 30, 31**).

Nannochloropsis был выявлен на всех станциях озера Байкал. *Nannochloropsis limnetica* идентифицирован ранее по 18S рРНК среди штаммов эустигматофитовых водорослей, изолированных из озера Байкал. Эустигматофитовые достигают максимального развития в середине июля-августе, однако встречаются и в другие сезоны года [121]. По данным многолетних исследований, *Chrysochromulina parva* Lackey является доминирующим представителем летнего фитопланктона в июле-сентябре в прибрежной зоне Южного Байкала [151].

Представителями гетеротрофного нанопланктона или гетеротрофными нанофлагеллятами (ГНФ), выявленными в настоящем исследовании, являются Chrysophyceae (*Spumella*), Katablepharidophyta (*Katablepharidaceae*), Cercozoa (*Thaumatostigidae*), Choanoflagellida (*Sphaeroeca*) и Vicosoecida (см. рис. 30, 31). Выявленные нами с помощью анализа фрагментов генов 18S рРНК таксоны ГНФ, ранее были отмечены в планктоне Байкала с помощью микроскопии [59]. Кроме того, в Байкале проводился учет численности ГНФ [226]. В морских и пресноводных пелагических сообществах ГНФ доминирующей группой являются гетероконты и их вклад в среднюю биомассу ГНФ составляет 20-50 % (в основном, хризомонады и бикосоециды), затем следуют хоанофлагелляты (5-40 %) и катаблефариды (10->25 %) [90].

К автотрофному микропланктону, которому принадлежит основная часть биомассы фитопланктона, относятся выявленные нами с помощью световой микроскопии диатомеи *S. acus* subsp. *radians*, *A. baicalensis*, *St. meyeri*, *A. islandica*, однако по 18S рРНК определены только рода *Synedra* и *Urosolenia*. Наибольшее количество последовательностей 18S рРНК среди Chlorophyta принадлежит роду *Koliella*. *K. longiseta* выявлена с помощью световой микроскопии в южной и средней котловинах.

К микропланктону с типом питания, который может быть автотрофным, миксотрофным и гетеротрофным, можно отнести выявленные с помощью световой микроскопии *Dinophyta G. baicalense* и *P. baicalense*,

которые являются часто встречающимися представителями планктона в зимне-весенний период [47]. По 18S рРНК определены род *Gyrodinium* и некультивируемые *Dinophyceae*, выявленные во всех исследуемых районах озера (см. **рис. 30**). Род *Gymnodinium* развивается в озере в подледный период [40]. Представители рода *Gyrodinium* были выявлены в пробах воды из трещин во льду в Южном Байкале и идентифицированы с помощью специфичных праймеров на фрагмент гена 18S рРНК [1].

К гетеротрофному микропланктону или протозоопланктону относятся представители Ciliophora (*Halteria*, *Stokesia*, *Tintinnidium*, *Tintinnopsis*, *Strombidium*, *Histiobalantium*, *Cyclotrichium*, *Didinium*, и неклассифицированные *Strombidiidae*) (см. **рис. 30**). По количеству последовательностей *Halteria* преобладали среди байкальских Ciliophora. *Halteria* доминирует в сообществах цилиат в пресноводных экосистемах с различным трофическим статусом, эффективно потребляет жертв крупного размера (от 0,4 до 5 мкм), имеет высокую скорость роста, меньше подвержена поеданию метазоопланктоном, чем другие пелагические цилиаты [221]. Высокая численность *Halteria* и *Strombidium* отмечена в озере Бурже (Франция) в начале лета, в период высокой численности гетеротрофных нанофлагеллят, водорослей, бактерий. *Halteria* и *Strombidium* являются важными консументами бактерий в пресноводных экосистемах [104]. Подкласс Oligotrichia является одной из доминирующих групп Ciliophora в Байкале. *Strombidium* выявляется с помощью микроскопии в пелагиали Байкала круглогодично, в том числе в марте-июне, когда массово развиваются диатомовые, динофитовые, криптофитовые водоросли. Сезонная динамика и биомасса планктонных инфузорий коррелирует с динамикой развития фитопланктона, и в продуктивные годы инфузории могут составлять до 40-80 % биомассы весеннего зоопланктона в слое 0-50 м [54, 184].

Выявленные нами Fungi входят в состав микопланктона и представлены Chytridiomycota (*Rhizophydiales*, *Spizellomycetaceae*),

Basidiomycota (*Cryptococcus*), неклассифицированными Fungi (см. рис. 31). Известно, что Fungi, паразитирующие на фитопланктоне, в основном, принадлежат Chytridiomycota (хитридии) [159]. Хитридий сложно отличить от многих флагеллят, например, сидячих хоанофлагеллят и бикосоцид, которые являются консументами бактерий, вследствие небольших размеров и отсутствия существенных морфологических отличий. Трофической стратегией хитридий является паразитизм и сапротрофия. Представители Chytridiomycota имеют прикрепленные к хозяину вегетативные спорангии и свободноплавающие инфицирующие стадии (зооспоры со жгутиками) [223]. Хитридия *Zygorhizidium planktonicum* может развиваться в культуре диатомеи *Asterionella formosa*. Зооспоры хитридий являются источником питания для представителей зоопланктона *Daphnia* [159]. *Z. planktonicum* – эпибионтный паразит пресноводных диатомей *Synedra acus* и *S. ulna*, ранее был изолирован из озера Ланиер (США, Джорджия) [112]. В олиготрофном озере Павин (Франция) весеннее развитие *Asterionella* and *Synedra* ингибировал хитридий *Rhizophidium planktonicum*. В озере Аудат (Франция) размножение *Rhizophidium fragilariae* приводило к завершению развития диатомеи *Fragilaria* [196]. Хитридии, выявленные нами, потенциально могут паразитировать на весеннем фитопланктоне, и их зооспоры могут служить пищей для зоопланктона. Следовательно, мы выявили представителей ранее не исследованного трофического звена в озере Байкал с помощью анализа фрагментов генов 18S рРНК.

Таким образом, проведенный в нашей работе анализ структуры сообществ бактерий и одноклеточных эукариот эпилимниона озера Байкал выявил разнообразие и таксономический состав микроорганизмов, входящих в состав трофической сети озера, что способствует пониманию функционирования его экосистемы. Выявлено единое микробное метасообщество в эпилимнионе озера Байкал на основании сходства бактериальных сообществ. Метасообщество микроорганизмов может способствовать сохранению стабильности экосистемы озера Байкал.

ГЛАВА 5. Численность и разнообразие бактерий, ассоциированных с микроводорослями из озера Байкал

5.1. Альго-бактериальные ассоциации в эпилимнионе озера Байкал

Ранее было показано, что численность бактерий увеличивается на завершающих стадиях массового развития фитопланктона в пресных [207] и морских экосистемах [229]. В ходе развития фитопланктона наблюдается сукцессия бактериальных групп, которые приспособлены к потреблению определенных органических веществ [97, 229].

В настоящем исследовании с помощью эпифлуоресцентной микроскопии проведен анализ альго-бактериальных ассоциаций в пробах из эпилимниона озера Байкал. В пробах выявлены ассоциации бактерий и таких представителей фитопланктона как диатомовые водоросли (*Synedra acus* subsp. *radians*, *Synedra ulna*, *Nitzschia graciliformis*, *Aulacoseira islandica*, *Aulacoseira baicalensis*, *Stephanodiscus meyeri*, *Fragillaria crotonensis*, *Asterionella formosa*) (рис. 33), зеленые (*Monoraphidium arcuatum*, *Monoraphidium grifiti*, *Koliella longiseta*), хризофитовые (*Dinobryon cylindricum*) и криптофитовые (*Chryptomonas* sp.) (прил. 3, 4). Количество бактерий, ассоциированных с клетками различных микроводорослей, как правило, составляет $10^2 - 10^3$ на 1 мл пробы, то есть на четыре или три порядка ниже, чем общая численность бактерий (10^6) в пробах воды. При увеличении численности микроводорослей, увеличивается численность колонизирующих их бактерий (см. прил. 3, 4). Известно, что динамика фитопланктона более тесно коррелирует с численностью прикрепленных, чем свободноживущих бактерий, что подтверждает существование специфичных взаимодействий фитопланктона и ассоциированных с ним бактерий [206].

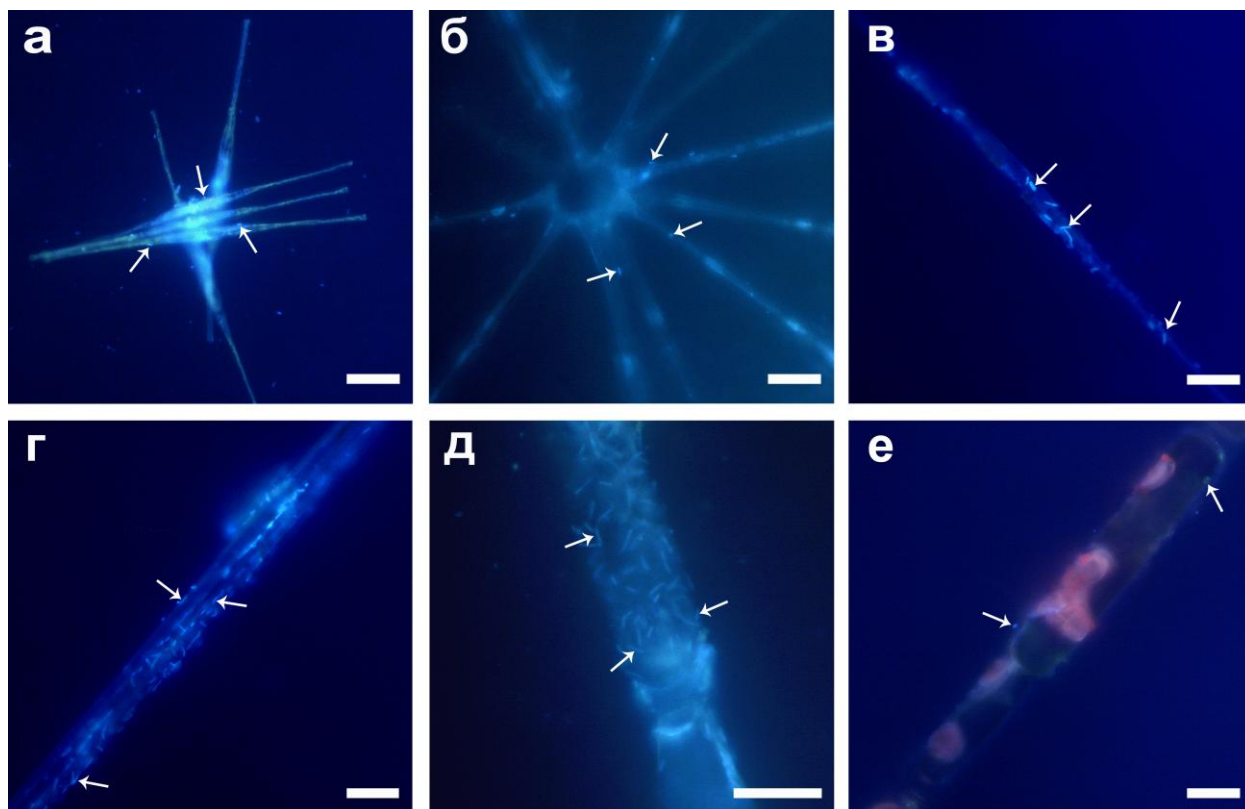


Рис. 33. Природные ассоциации диатомей и бактерий. а – *N. graciliformis* (3 км от Танхой); б – *A. formosa* (Чивыркуйский залив); в – *S. acus* (3 км от Солзана); г - *S. acus* (Маритуй-Солзан); д – *A. baicalensis* (Малое Море); е – *A. baicalensis* (3 км от Елохина); стрелками указаны бактерии. Эпифлуоресцентная микроскопия. Масштаб: 10 мкм.

С помощью СЭМ были выявлены состав и морфологические особенности природных ассоциаций диатомей и бактерий. Клеточные стенки таких диатомей, как *A. baicalensis*, *A. islandica*, *S. acus*, *St. meyeri*, *F. crotonensis* колонизируют бактерии в форме палочек, кокков, диплококков, нитевидных бактерий, и палочковидных бактерий со жгутиком (**рис. 34**). Бактерии располагаются по всей поверхности клеток *Aulacoseira* (**рис. 34 д, е**) и *Synedra* (**рис. 34 а**) или образуют скопления в местах соединения клеток диатомей (**рис. 34 ж, з**). Бактерии могут быть связаны с клетками диатомей непосредственно, прикрепляясь к ним и с помощью слизистых тяжей (**рис. 34 б**). В некоторых случаях бактерии образуют конгломераты, соединяющие несколько клеток диатомей, в частности, *S. acus* subsp. *radians* в агрегаты (**рис. 34 в**).

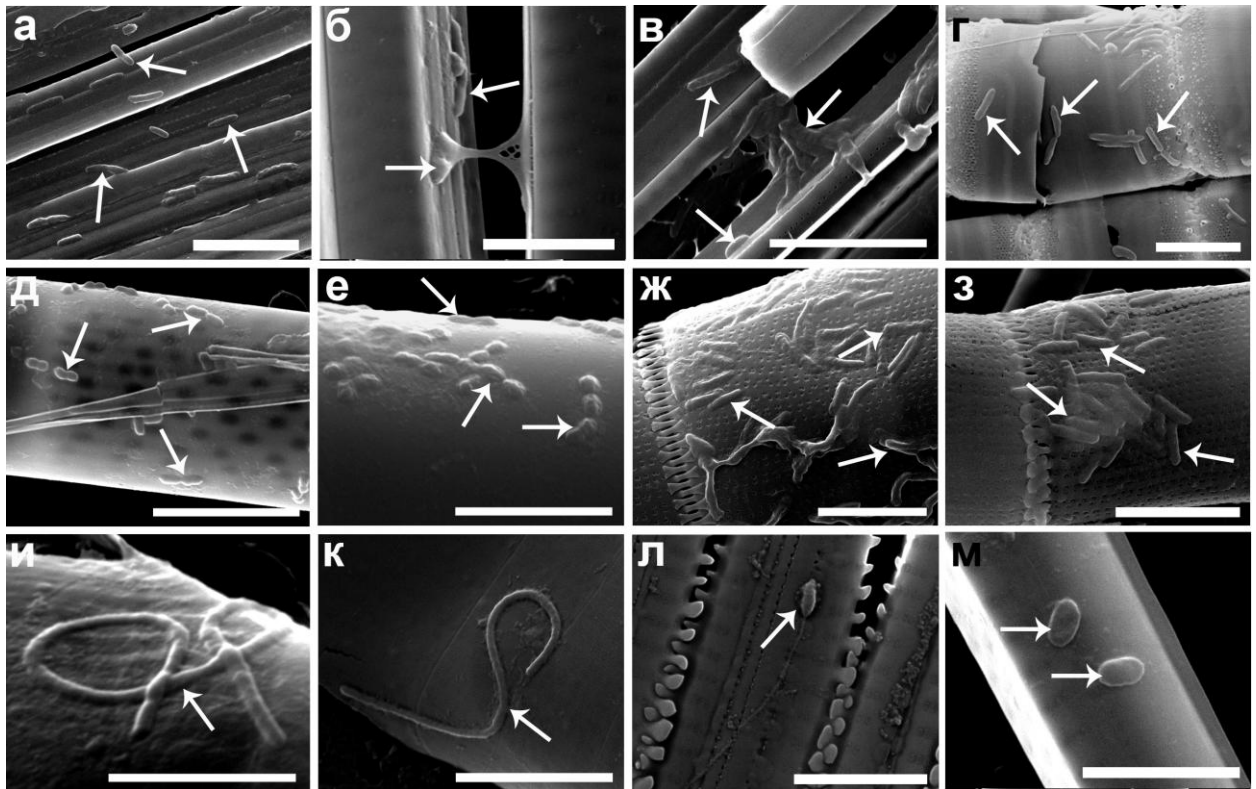


Рис. 34. Природные ассоциации диатомей и бактерий. а, б, в, м - *S. acus* subsp. *radians*; г – *St. meyeri*; д, е, з, и, к - *A. baicalensis*; ж - *A. islandica*; л – *F. crotonensis*; стрелками указаны бактерии. СЭМ. Масштаб: а, в, г, е-з, к – 5 мкм; б, и, м – 3 мкм; д – 10 мкм.

Таким образом, показано, что бактерии различной морфологии колонизируют клеточные стенки диатомей, что связано с наличием фикосферы, окружающей клетки фитопланктона и содержащей их внеклеточные экзометаболиты, которые потребляют бактерии [70]. Бактерии могут инициировать формирование агрегатов с клетками диатомовых водорослей, в результате агрегаты осаждаются вглубь водной толщи [131]. С помощью различных ферментов бактерии гидролизуют органический матрикс погибших и живых диатомей, что приводит к растворению кремнистых клеточных стенок, что является важным процессом в круговороте углерода и кремния [87, 88].

5.2. Таксономическое разнообразие бактерий в культурах диатомовых водорослей

Как известно, бактерии развиваются в культурах диатомей в отсутствие дополнительных источников углерода. При сокультивировании с бактериями диатомеи увеличивают продукцию внеклеточных полисахаридов [94]. Показана зависимость диатомей от бактериальных метаболитов, например, витаминов [106]. Гетеротрофным бактериям, в свою очередь, необходимы диатомеи как продуценты органических веществ [202].

В настоящем исследовании для анализа альго-бактериальных ассоциаций на основе диатомовых водорослей из озера Байкал, диатомеи изолировали из весеннего фитопланктона озера в 2010-2014 гг. Единичные клетки диатомей с помощью микропипетки переносили в отдельную лунку 96-луночного планшета (Linbro Biomedicals, INC, Дания), содержащую 200 мкл DM среды. Клетки выращивали в миниинкубаторе при 10 °C и освещении 16 мкЭ/м²с с чередованием дня и ночи 12:12 по ранее опубликованной методике [208]. После того, как количество клеток *S. acus* subsp. *radians* в лунке достигало 10³, моноклональную культуру переносили в 100 мл колбы Эйленмейера для дальнейшего роста.

Получены 7 моноклональных культур диатомей, изолированных из различных районов Байкала: *S. acus* subsp. *radians* – Южный Байкал (Листвянка – Танхой), Средний Байкал (бухта Песчаная); *S. ulna* – Средний Байкал (Малое Море); *Stephanodiscus meyeri* – Средний Байкал (Красный Яр – Харауз); *Nitzschia graciliformis* – Южный Байкал (Листвянка – Танхой); *Asterionella formosa* и *Fragilaria crotonensis* – Средний Байкал (Чивыркуйский залив).

В 10-суточных культурах диатомей проведен учет численности диатомей и бактерий. В культуре *S. acus* subsp. *radians* (Листвянка-Танхой) при количестве клеток диатомей 3,3×10³ кл./мл численность бактерий составляет 0,9×10⁶ кл./мл; в культуре *S. acus* subsp. *radians* (бухта Песчаная) численность диатомей – 2,4×10³ кл./мл, бактерий – 0,9×10⁶ кл./мл; в культуре

A. formosa численность диатомей – $3,0 \times 10^3$ кл./мл, бактерий – $1,0 \times 10^6$ кл./мл; в культуре *F. crotonensis* численность диатомей – $2,9 \times 10^3$ кл./мл; бактерий – $1,2 \times 10^6$ кл./мл. В культурах выявлены палочковидные и овоидные бактерии, которые располагаются на клетках диатомей (рис. 35).

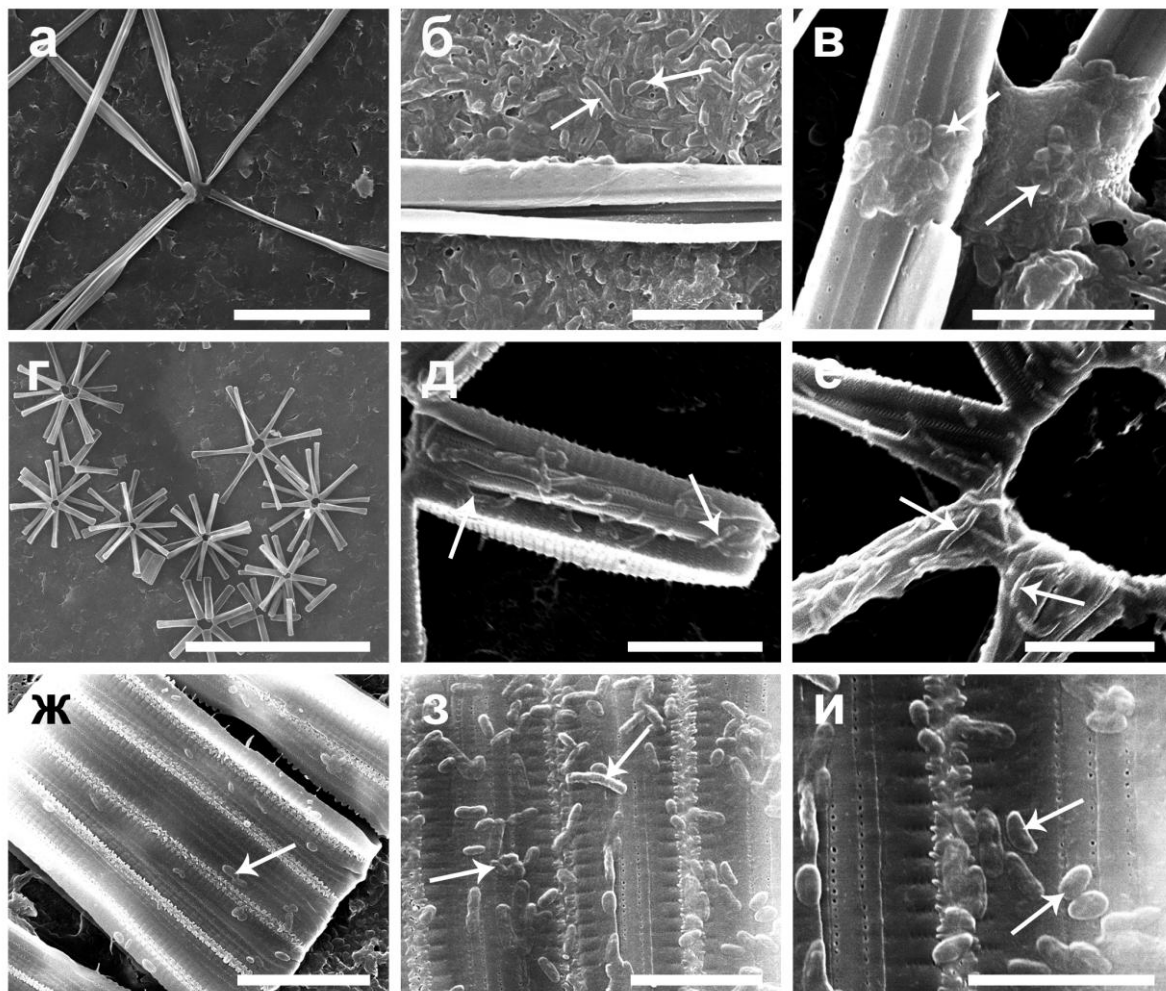


Рис. 35. Ассоциации диатомей и бактерий в лабораторных культурах. **а, б, в** – *S. acus* subsp. *radians*; **г, д, е** – *A. formosa*; **ж, з, и** – *F. crotonensis*. Стрелками указаны бактерии. СЭМ. Масштаб: **а** – 50 мкм; **б, д, е, з** – 5 мкм; **в, и** – 4 мкм; **г** – 100 мкм; **ж** – 10 мкм.

В результате филогенетического анализа в культурах диатомей выявлены представители филумов *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*. В культурах *A. formosa* и *F. crotonensis* выявлены последовательности, принадлежащие представителям рода *Flavobacterium*, в культурах *A. formosa* и *S. acus* subsp. *radians* – *Pseudomonas*. Кроме того, в культуре *A. formosa* выявлены последовательности представителей родов

Hydrogenophaga, *Nocardioides*, *Methylophilus*, в культуре *F. crotonensis* – *Pedobacter*, *Janthinobacterium*. В культуре *S. acus* subsp. *radians* выявлены только последовательности рода *Pseudomonas* (рис. 36).

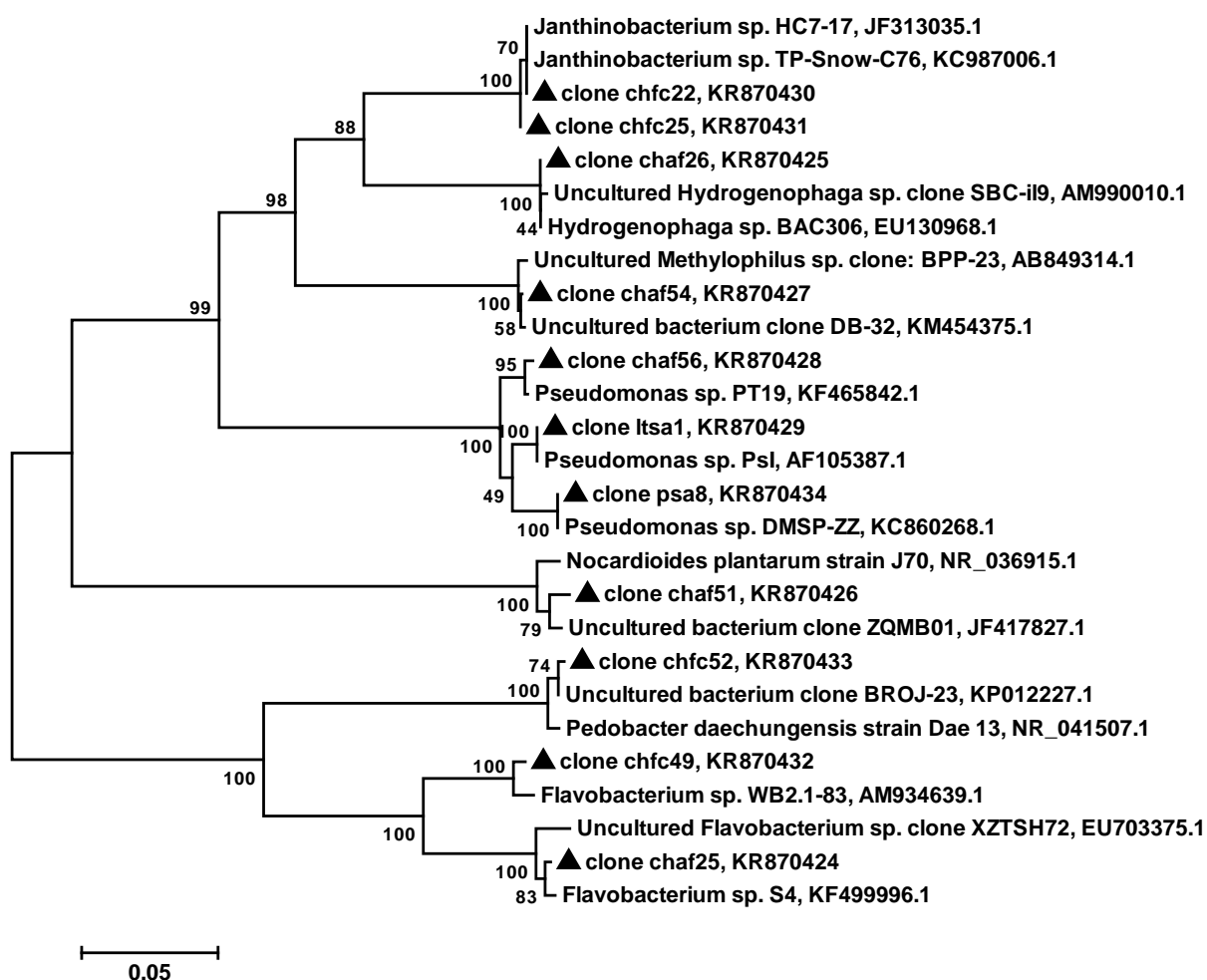


Рис. 36. Филогенетическое дерево нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК бактерий из культур диатомовых водорослей *S. acus* subsp. *radians* (ltsa, psa), *A. formosa* (chaf) и *F. crotonensis* (chfc), и сходных с ними последовательностей из базы данных NCBI. Последовательности, выявленные в настоящей работе, выделены треугольниками.

Ближайшие гомологи полученных нуклеотидных последовательностей, обнаружены в пресных водоемах, в почвах, на поверхности растений и в составе биопленок на осадках и камнях. Количество полученных фило типов бактерий (см. рис. 36) существенно ниже, чем в естественных условиях в течение развития фитопланктона (см. рис. 23, 24). Некоторые фило типы бактерий, выявленные в культурах различных диатомей были уникальными, другие – общими (см. рис. 36). Полученные нами последовательности были

отнесены к трем филумам *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, которые ранее так же были выявлены в культурах морских [136, 214, 211, 212] и пресноводных диатомей [25, 94].

ГЛАВА 6. Получение аксеничной культуры диатомей *Synedra acus* subsp. *radians* и ее миксотрофное культивирование

6.1. Получение аксеничной культуры диатомей

Synedra acus subsp. *radians*

Из представленных выше данных следует, что *S. acus* subsp. *radians*, в условиях природного обитания в озере Байкал ассоциирована с бактериями, которые развиваются при культивировании диатомей в лабораторных условиях, достигая численности $5,4 \times 10^6$ кл./мл. Аксеничные (безбактериальные) культуры различных видов морских и пресноводных диатомей необходимы для исследований альго-бактериальных взаимодействий и характеристики внеклеточного полисахаридного матрикса диатомей [80, 98], для сравнительной геномики и протеомики диатомей [75, 166, 213, 216] и изучения механизмов транспорта кремния [20, 144, 231].

Для получения аксеничных культур используют физические и химические методы разделения диатомей и бактерий, обработку антибиотиками, изолирование отдельных клеток диатомей для культивирования моноклонов [93, 95, 108, 158, 164]. Сложности в ходе работы возникают вследствие следующих факторов: полисахариды, секретируемые диатомеями, способствуют развитию бактерий; бактерии в культурах диатомей имеют низкую восприимчивость к антибиотикам; у диатомей после очистки от бактерий снижается выживаемость. Для получения аксеничной культуры *S. acus* subsp. *radians* были использованы несколько известных методов, но ни один из них в отдельности не дал удовлетворительного результата. При посеве *S. acus* subsp. *radians* на твердую среду DM с 1 % содержанием агара клетки водоросли не делились и теряли жизнеспособность, что не позволило нам использовать предложенные методики изоляции отдельных клеток с твердых сред, содержащих различные антибиотики, как было предложено ранее для разрушения альго-бактериальных ассоциаций [95]. Культуру *S. acus* subsp. *radians* мы

обрабатывали ультразвуком с амплитудой воздействия 40 % с интервалами по 0,5 с в течение 30 с, 1 мин, 2 мин, 4 мин при помощи зонда ультразвукового аппарата УРСК-7Н-22 (ОАО «Ульяновское Приборостроительное ПО», Россия). При ультразвуковой обработке удалось разбить имеющиеся в культуре *S. acus* subsp. *radians* крупные бактериальные агрегаты. Однако единичные бактерии оставались на поверхности клеток диатомей, а сами водоросли повреждались, что не позволило нам использовать ультразвук для очистки диатомей.

В результате был разработан протокол получения аксеничной культуры *S. acus* subsp. *radians*, который сочетает ряд последовательных обработок для удаления бактерий, ассоциированных с клетками диатомей (рис. 37) [218].

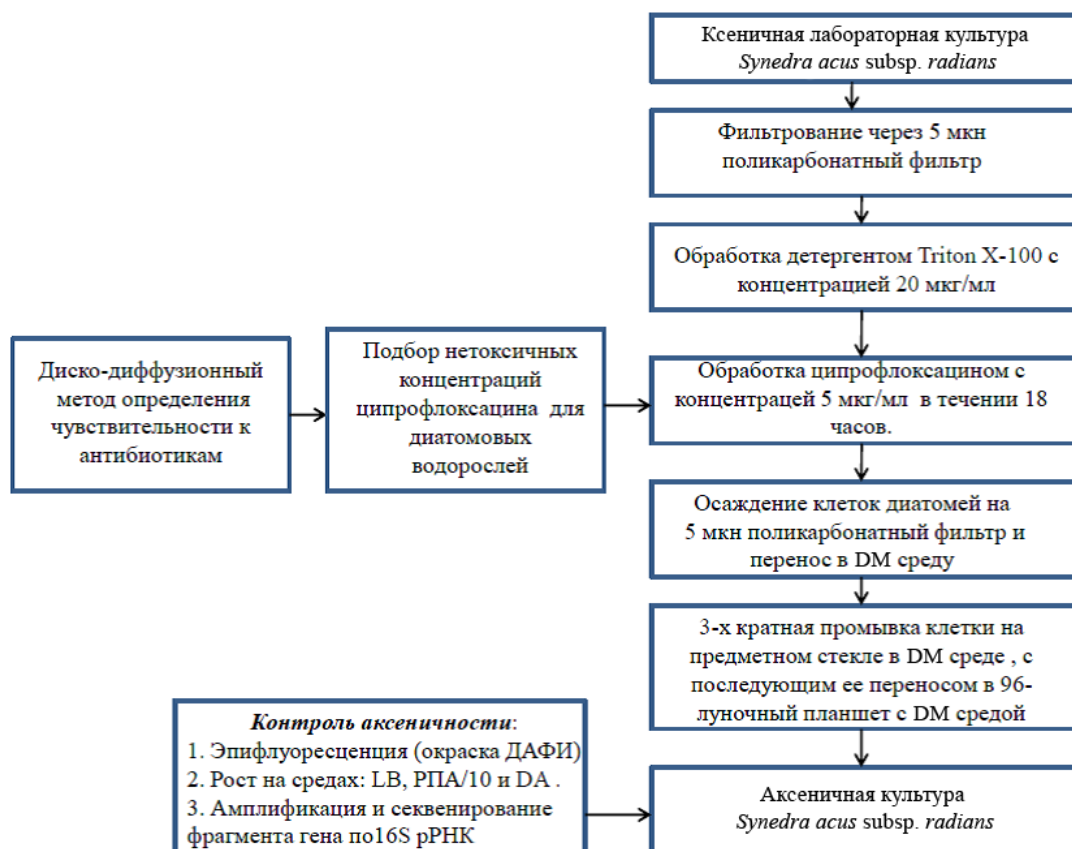


Рис. 37. Схема получения аксеничной культуры пресноводной диатомовой водоросли *Synedra acus* subsp. *radians* из оз. Байкал.

Культуру *S. acus* subsp. *radians* (рис. 38 а) фильтровали через поликарбонатный мембранный фильтр (Millipore, Ирландия) с диаметром пор 5 мкм с помощью вакуумной установки (Sartorius, Германия).

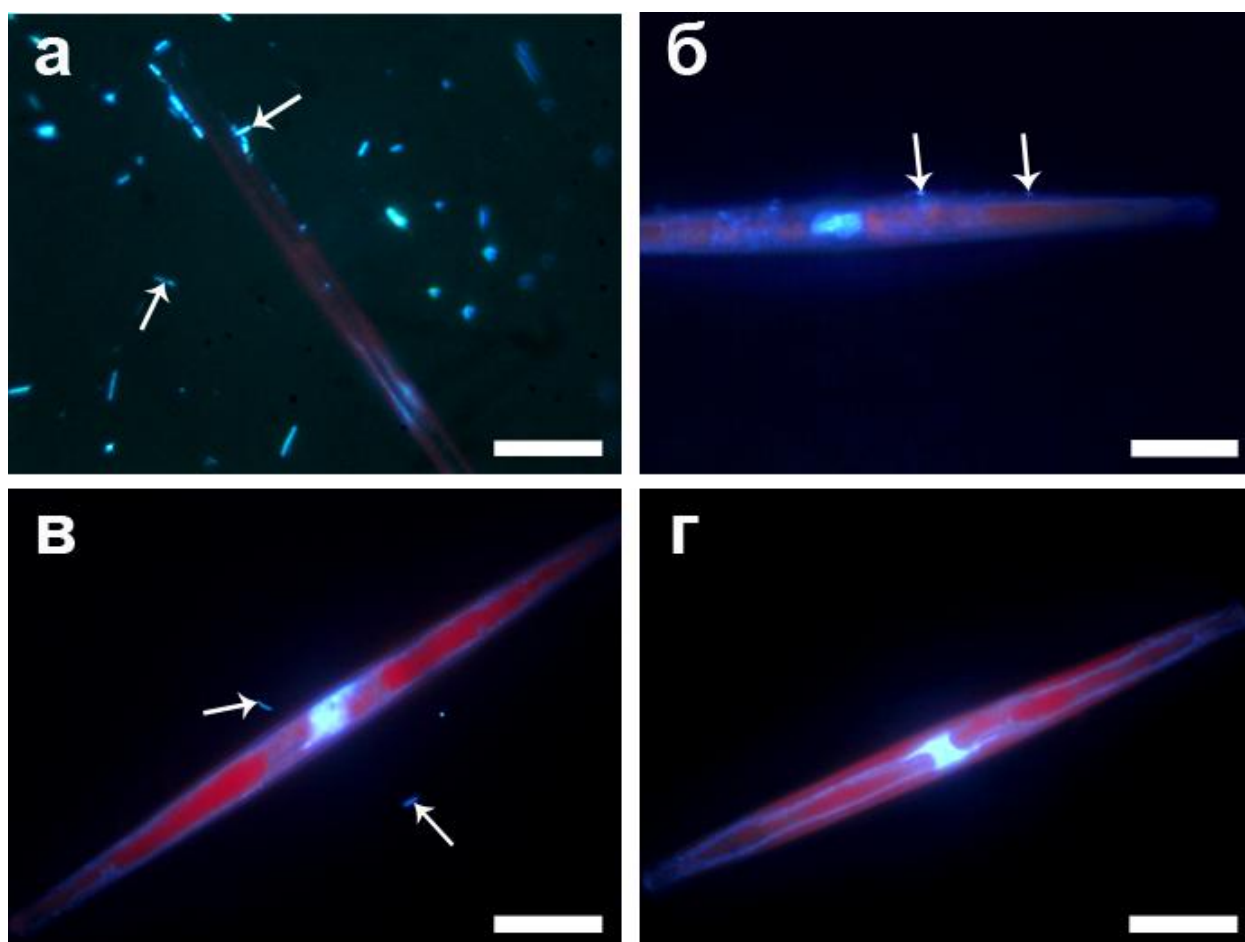


Рис. 38. Эпифлуоресцентная микроскопия диатомей *S. acus* subsp. *radians*, окрашенной ДАФИ на разных стадиях получения аксеничной культуры. **а** – исходная проба; **б** – после фильтрования; **в** – после обработки Triton X-100; **г** – аксеничная культура. Стрелками показаны бактерии. Масштаб – 20 мкм.

Клетки диатомей, осажденные по поверхности фильтра, многократно промывали стерильной средой DM. Таким образом, снизили численность бактерий в культуре и удалили бактерии, не прикрепленные к клеткам диатомей (**рис. 38 б**). На следующем этапе к культуре *S.acus* subsp. *radians* в среде DM добавляли детергент Triton X-100 (Fluka, США) до конечной концентрации 2 мкг/мл, 20 мкг/мл, 0,2 мг/мл, 2 мг/мл, встряхивали в колбе в течение 30 с при комнатной температуре, затем клетки сразу осаждали на фильтр с диаметром пор 5 мкм, пятикратно промывали стерильной средой DM объемом 100 мл, непрерывно пипетируя клетки, осаждающиеся на фильтре. Наилучший результат разделения клеток был получен в пробе культуры, содержащей 20 мкг/мл Triton X-100. При микроскопии препаратов,

окрашенных ДАФИ, наблюдали, что после обработки детергентом происходит разрушение крупных бактериальных агрегатов (более 5 мкм) и удаление бактерий с поверхности клеток водорослей (рис. 38 в). Для удаления оставшихся в культуре бактерий было необходимо выбрать оптимально подходящий антибиотик. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтера [82]. Для определения чувствительности микроорганизмов использовали стандартный набор антибиотиков (НИЦФ, Россия): ципрофлоксацин (5 мкг), гентамицин (10 мкг и 120 мкг), спарфлоксацин (5 мкг), стрептомицин (30 мкг), амикацин (30 мкг), канамицин (30 мкг), полимиксин (300 ЕД), цефепим (30 мкг), цефтазидим (30 мкг), тетрациклин (30 мкг), налидиксовую кислоту (30 мкг), рифампицин (5 мкг), нистатин (80 ЕД), ванкомицин (30 мкг), клиндамицин (2 мкг), линкомицин (15 мкг), оксациллин (10 мкг), бензилпенициллин (10 ЕД), карбенициллин (100 мкг), ампициллин (10 мкг), амфотерицин В (40 мкг), фузидин (10 мкг), цефаклором (30 мкг), клотримазол (10 мкг). Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли по диаметру зоны подавления роста, если она была более 30 мм, то антибиотик считали эффективным, а бактерии – чувствительными. Для выбранных таким образом антибиотиков определяли минимальную подавляющую рост бактерий концентрацию методом предельных разведений с 10 мкг/мл, 5 мкг/мл, 2,5 мкг/мл, 1 мкг/мл антибиотика в среде. Эксперимент проводили в 96-луночной планшете, жизнеспособность клеток диатомей и подвижность бактерий наблюдали с помощью световой фазово-контрастной микроскопии (Axiovert 200, Zeiss, Германия). Выбор антибиотика определялся видом антибиотика, его концентрацией и временем воздействия. Из протестированных антибиотиков наибольшим бактерицидным эффектом обладали: ципрофлоксацин, гентамицин, спарфлоксацин и стрептомицин. Важно было выбрать концентрацию антибиотика и период инкубирования, за который бактерии погибали, а диатомей сохраняли жизнеспособность. В

многочисленных опытах нами было показано, что обработка культуры *S. acus* subsp. *radians* гентамицином, спарфлоксацином и стрептомицином в возрастающих концентрациях (1 мкг/мл, 2,5 мкг/мл, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл) приводила к гибели диатомей до того, как бактерии были эффективно удалены. При применении ципрофлоксацина с концентрацией 5 мкг/мл в течение 18 ч наблюдали стабильный бактерицидный эффект и сохранение жизнеспособности диатомей *S. acus* subsp. *radians*. После обработки ципрофлоксацином клетки *S. acus* subsp. *radians* осадили на фильтре, многократно промыли и перенесли в 100 мл колбы со средой DM.

Через 24 ч после обработки ципрофлоксацином 10 мкл культуры, содержащей до 10 клеток *S. acus* subsp. *radians*, помещали на стерильное предметное стекло. Микропипеткой с помощью светового микроскопа отбирали отдельные клетки диатомей в ламинарном боксе. Каждую клетку промывали последовательно на предметном стекле в трех каплях (10 мкл) стерильной среды DM, затем переносили в отдельную лунку 96-луночного планшета (LinbroBiomedicals, INC, Дания), содержащую 200 мкл DM среды. Клетки выращивали в миниинкубаторе при 10 °C и освещении 16 мкЭ/м²с с чередованием дня и ночи 12:12 [208]. За ростом моноклональных культур наблюдали с помощью инвертированного микроскопа ежедневно в течение 20 дней, выживаемость моноклонов составила 20 %. Рост аксеничной культуры поддерживали в 96-луночном планшете до концентрации 10³ клеток в одной лунке, затем чистые культуры переносили в 100 мл колбы Эрленмейера со средой DM. При эпифлуоресцентной микроскопии препаратов, окрашенных ДАФИ (рис. 38 г), и посева культуры на питательные среды LB, РПА/10 и DA бактерии не были выявлены. Из моноклональной культуры линии G9 выделена ДНК, амплифицирована с универсальными праймерами на 16S рРНК и трансформирована в *E. coli*. Анализ бактериальных клонов показал, что все гибридные плазмиды содержат фрагменты нуклеотидных последовательностей 16S рРНК клеточных органелл диатомей *S. acus* subsp. *radians*, ни одной бактериальной

последовательности не обнаружено. Лабораторную культуру *S. acus* subsp. *radians* считали аксеничной, если в ней не наблюдали бактерий при микроскопии, отсутствовал рост бактерий на питательных средах, и продукты ПЦР не содержали фрагментов гена 16S рРНК бактерий [218].

6.2. Миксотрофное культивирование аксеничной культуры диатомеи

Synedra acus* subsp. *radians

Диатомовые водоросли являются автотрофными микроводорослями, которые в определенных условиях могут использовать органические источники углерода в качестве питательных элементов [130, 163, 172, 174]. Данные соединения используются клеткой для запасания энергии и для дальнейшего роста в процессе метаболизма. Например, некоторые виды микроводорослей ассимилируют до 85 % глюкозы в виде запасных полисахаридов [228], однако такие виды как *Prymnesium paurum* N. Carter и *Dunaliella tertiolecta* Butcher, не способны ассимилировать глюкозу, даже при наличии ферментов, необходимых для ее метаболизма [180]. Глицерин может усваиваться из среды клетками некоторых видов микроводорослей, что приводит к увеличению скорости их роста [130] и инициированию биохимических и структурных изменений в клетке [173].

При достаточном количестве питательных веществ и благоприятных условий окружающей среды фитопланктон быстро развивается и в результате большая часть внутриклеточного углерода представлена в виде белка. В стрессовых условиях – при уменьшении концентрации питательных элементов в среде (кремния, фосфора, азота) [135, 198, 205] и недостатке освещенности [230] диатомеи начинают запасать резервные энергетические молекулы (липиды, хризоламинин). Микроводоросли синтезируют жирные кислоты, в основном, с целью последующего синтеза мембранных липидов. В стрессовых условиях липидный биосинтез изменяется и происходит образование триацилглицеридов и обогащение липидных тел непосредственно в цитоплазме [105]. Ранее было показано, что в процессе

культивирования диатомей происходит накопление клетками триацилглицеридов в результате изменения состава питательной среды и возраста культуры [145, 247]. Накопление триацилглицеридов сопровождается увеличением количества липидов и изменением состава (соотношения) жирных кислот [123, 187]. Поэтому изучение влияния стрессовых условий на развитие диатомей дает возможность оптимизировать биотехнологические условия культивирования с целью получения биомассы клеток с требуемым составом низкомолекулярных веществ, в частности жирных кислот. Информация об изменении состава жирных кислот в зависимости от внешних условий лежит в основе поиска новых экологических индикаторов изменения климата, связанных изменением температуры водных экосистем и с увеличением уровня трофности водоемов вследствие увеличивающейся деятельности человека. Значительный интерес к изучению влияния органических источников углерода на рост диатомей связан с исследованием последующих изменений в клетке, происходящих на физиологическом уровне. Достаточно детально рассмотрены различные факторы, влияющие на ультраструктуру морских и пресноводных диатомовых водорослей при их культивировании в автотрофных, миксотрофных и гетеротрофных условиях [83, 99, 174, 201, 220]. В тоже время нет данных о структурных изменениях, происходящих в цитоплазме клеток пресноводных диатомей, и их взаимосвязи с изменением состава жирных кислот в процессе миксотрофного культивирования.

В последние десятилетия в связи с глобальными изменениями климата происходит увеличение температуры поверхностных вод и интенсивности температурной стратификации в крупных озерах во всем мире. В летний период в озере Байкал выявлены изменения в распределении по глубинам важнейших групп фито- и зоопланктона и тенденция к увеличению численности диатомей ниже фотической зоны. Однако не известно, способны ли байкальские диатомей к использованию дополнительных источников энергии и углерода кроме света и CO₂ [141].

Для исследования возможности роста в миксотрофных условиях использована полученная, как описано выше, аксеничная культура *S. acus* subsp. *radians* [218]. При культивировании аксеничной *S. acus* subsp. *radians* в миксотрофных условиях показано, что максимальные концентрации органических источников углерода, при которых не снижается скорость деления клеток *S. acus* subsp. *radians*, составляет 40 мМ для глюкозы (рис. 39) и 80 мМ для глицерина (рис. 40). Для исследования влияния миксотрофных условий роста на ультраструктуру клеток и состав жирных кислот *S. acus* subsp. *radians*, проводили культивирование диатомеи при данных концентрациях глюкозы и глицерина. При окрашивании клеток *S. acus* subsp. *radians*, культивируемых при автотрофных и миксотрофных условиях роста, красителем нильским красным в клетках диатомеи выявляются липидные тела (рис. 41 а).

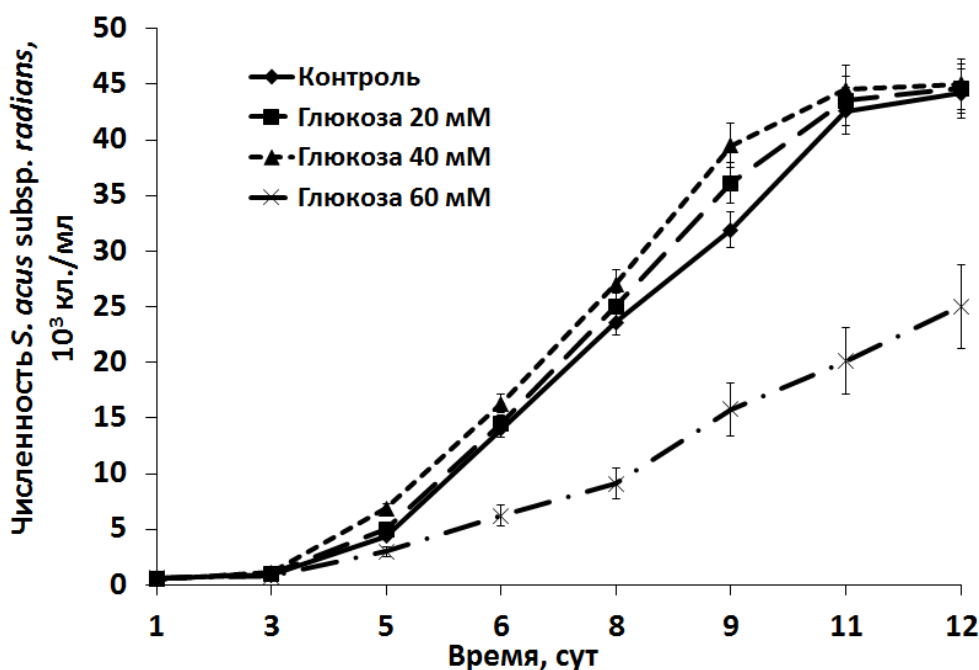


Рис. 39. Динамика численности *S. acus* subsp. *radians* при автотрофных (контроль) и миксотрофных условиях с добавлением глюкозы в различных концентрациях.

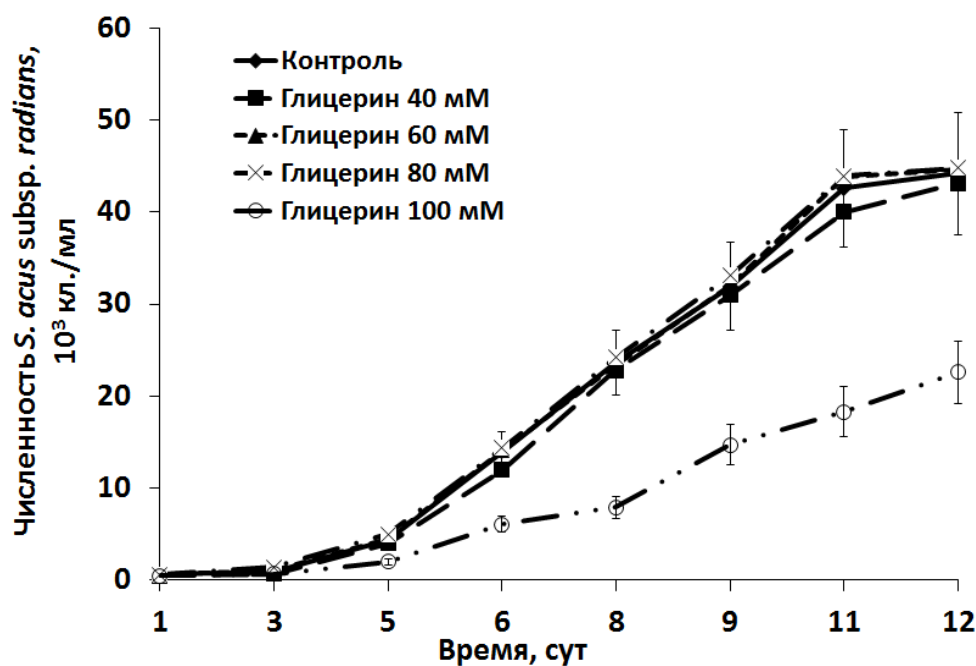


Рис. 40. Динамика численности *S. acus subsp. radians* при автотрофных (контроль) и миксотрофных условиях с добавлением глицерина в различных концентрациях.

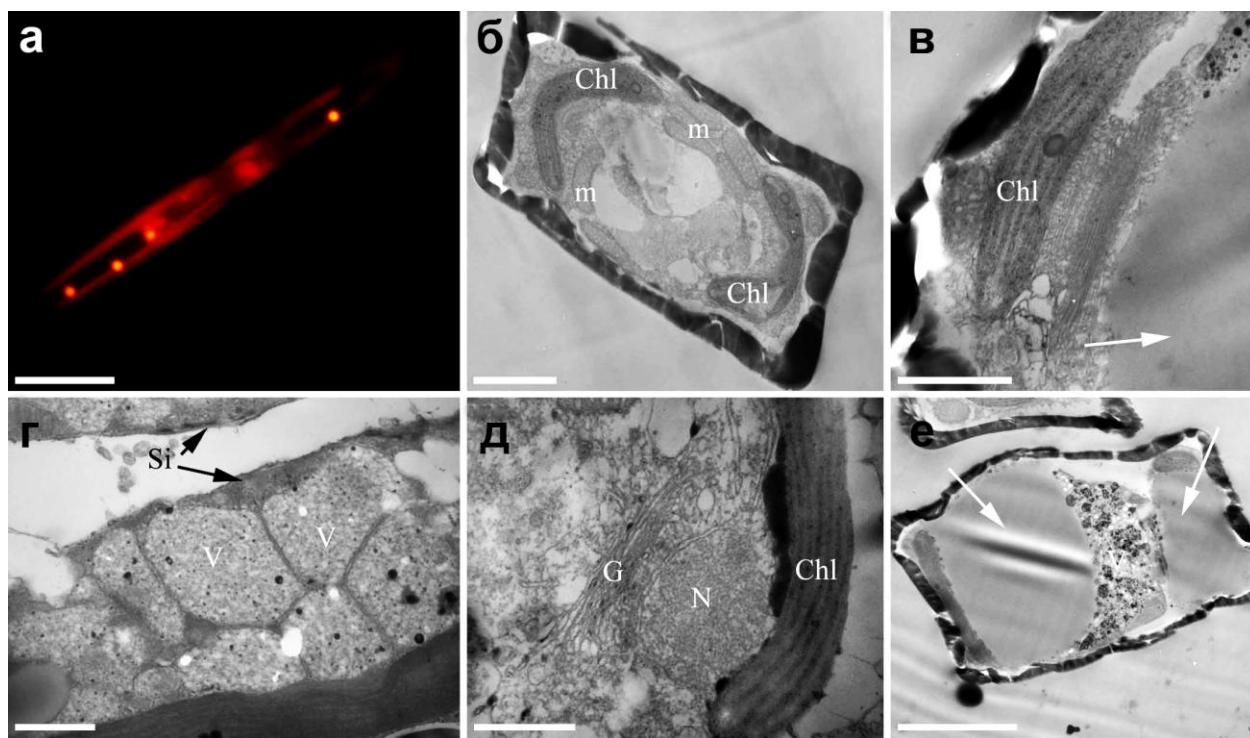


Рис. 41. Эпифлуоресцентная и трансмиссионная электронная микроскопия клеток *S. acus subsp. radians*. а – желтая флуоресценция липидных тел, окрашенных нильским красным и красная автофлуоресценция хлоропластов; б, д – ультраструктура клеток *S. acus subsp. radians* при автотрофных условиях роста; в, е – при миксотрофных условиях с глицерином; г – с глюкозой. Chl – хлоропласт, V – вакуоль с гранулами хризоламинина, m – митохондрия, N – ядро. Белыми стрелками показаны липидные тела. Масштаб: а – 10 мкм; в-д – 500 нм; б, е – 2 мкм.

Липидные тела в клетках диатомеи на стационарной фазе роста культуры крупнее, чем на экспоненциальной. С помощью ТЭМ в клетках *S. acus* subsp. *radians*, культивируемой с глицерином, выявлены крупные липидные тела (размером 2,5 мкм) на экспоненциальной фазе роста (**рис. 41 в**), что не наблюдается при автотрофных условиях и при культивировании с глюкозой. На стационарной фазе роста происходит существенное увеличение размеров липидных тел, сопровождающееся увеличением объема клеток диатомеи и деформацией клеточной стенки в зоне поясковых ободков (**рис. 41 е**). При культивировании с глюкозой в клетках *S. acus* subsp. *radians* выявлены вакуоли (0,5-0,7 мкм) с гетерогенным гранулярным и мелкозернистым содержимым (10-20 нм) (**рис. 41 г**), а также более электроноплотные гранулы (20-40 нм). Эти структуры не выявляются в клетках *S. acus* subsp. *radians*, культивируемых при автотрофных условиях (**рис. 41 б, д**) и с глицерином (**рис. 41 в, е**). Учитывая характерную неоднородность этих структур [227] можно предположить, что при культивировании с глюкозой в клетках *S. acus* subsp. *radians* происходит накопление полисахаридов (хризоламинарина).

С помощью газовой хроматографии провели анализ метиловых эфиров жирных кислот, полученных с помощью кислотного гидролиза липидных фракций *S. acus* subsp. *radians*. Выявлено, что качественный состав жирных кислот сохраняется в условиях автотрофного и миксотрофного культивирования. Основными жирными кислотами на стадии экспоненциального роста культуры диатомеи являются миристиновая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, гексадекатетраеновая, стеариновая и эйкозапентаеновая, а на стадии стационарного роста – миристиновая, пальмитиновая, пальмитолеиновая и эйкозапентаеновая кислоты (**табл. 4**). Подобный качественный состав жирных кислот типичен для гидролизатов липидов диатомовых водорослей [74, 160]. Соотношение жирных кислот в липидах клеток, культивируемых при автотрофных и миксотрофных условиях, существенно различается и зависит от фазы роста культуры (см.

табл. 4). На стадии экспоненциального роста при культивировании *S. acus* subsp. *radians* с глицерином (80 мМ) доминирующими жирными кислотами являются пальмитиновая и стеариновая кислоты, что может свидетельствовать о накоплении этих кислот в липидных телах триацилглицеридов. Судя по соотношению жирных кислот в гидролизатах липидов количество насыщенных кислот в клетках *S. acus* subsp. *radians* снижается на стационарной фазе роста в автотрофных и миксотрофных условиях с глицерином 80 мМ (см. **табл. 4**), но остается постоянным при культивировании с глюкозой 40 мМ. Количество мононенасыщенных жирных кислот в клетках *S. acus* subsp. *radians* увеличивается в 3 раза на стационарной фазе роста в автотрофных и миксотрофных условиях с глюкозой 40 мМ и глицерином 80 мМ. Количество полиненасыщенных жирных кислот в клетках *S. acus* subsp. *radians* снижается на стационарной фазе роста в автотрофных и миксотрофных с глюкозой 40 мМ и изменяется незначительно с 80 мМ глицерина. На стадии стационарного роста культуры *S. acus* subsp. *radians* происходит значительное увеличение содержания пальмитолеиновой кислоты – более чем на 40 %, по отношению к суммарному количеству жирных кислот (см. **табл. 4**). Данная жирная кислота является наиболее распространенной в составе липидов диатомей [115, 160, 188]. Все пластид-содержащие организмы осуществляют биосинтез жирных кислот при помощи ацилсинтазы II типа [236]. Определены полные циклы биосинтеза полиненасыщенных жирных кислот у морской диатомеи *Thalassiosira pseudonana* [75]. После транспорта из пластид жирные кислоты аккумулируются в цитоплазме клеткок диатомей в составе внутриклеточных липидов. Известно, что на стационарной фазе роста культуры диатомей возникает дефицит питательных веществ, в результате клетки диатомей начинают накапливать запасные соединения: липиды, неорганические соли, полисахариды. Также показано, что при добавлении в среду других источников углерода, диатомеи способны увеличивать свою биомассу за счет увеличения синтеза липидов [130, 237].

Таблица 4

Соотношение жирных кислот (% от общих жирных кислот) в биомассе *S. acus* subsp. *radians*, культивируемой в автотрофных и миксотрофных условиях с глюкозой 40 мМ и глицерином 80 мМ на экспоненциальной и стационарной фазах роста

Жирные кислоты	Автотрофные условия		Миксотрофные условия (40 мМ глюкозы)		Миксотрофные условия (80 мМ глицерина)	
	Экспоненц. фаза	Стац. фаза	Экспоненц. фаза	Стац. фаза	Экспоненц.фаза	Стац. фаза
C14:0	12,0	12,9	13,6	17,9	9,8	10,7
C16:0	16,4	10,8	11,4	11,3	24,7	13,4
C18:0	16,9	3,1	10,3	3,7	27,1	4,6
C16:1	10,6	44,2	13,9	44,6	10,8	41,2
C18:1	0,0	0,9	0,0	1,4	0,0	0,7
C22:1	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0
C16:2	5,3	2,7	6,2	1,9	3,8	3,5
C16:3	17,2	5,1	18,6	2,3	9,9	7,0
C18:3	0,0	2,3	0,0	2,4	0,0	1,8
C20:5	19,0	16,8	21,1	13,2	11,3	16,0
C22:6	2,6	1,2	3,8	1,3	2,6	1,1
Σ насыщенных жирных кислот (НЖК)	45,3	26,8	35,3	32,9	61,6	28,7
Σ мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК)	10,6	45,1	15,0	46,0	10,8	41,9
Σ полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК)	44,1	28,1	49,7	21,1	27,6	29,4
Соотношение ΣНЖК/Σ(МНЖК+ПНЖК)	0,8	0,3	0,5	0,5	1,6	0,4

Все пластид-содержащие организмы осуществляют биосинтез жирных кислот при помощи ацилсинтазы II типа [236]. Определены полные циклы биосинтеза полиненасыщенных жирных кислот у морской диатомеи *Thalassiosira pseudonana* [75]. После транспорта из пластид жирные кислоты аккумулируются в цитоплазме клеткок диатомей в составе внутриклеточных липидов. Известно, что на стационарной фазе роста культуры диатомей возникает дефицит питательных веществ, в результате клетки диатомей начинают накапливать запасные соединения: липиды, неорганические соли, полисахариды. Также показано, что при добавлении в среду других источников углерода, диатомеи способны увеличивать свою биомассу за счет увеличения синтеза липидов [130, 237]. Таким образом, можно предложить, что значительное увеличение содержания пальмитолеиновой кислоты к общему составу жирных кислот у диатомеи *S. acus* subsp. *radians* служит доказательством накопления данной кислоты в составе триацилглицеридов, в качестве запасного материала в липидных телах. Известно, что основными жирными кислотами, которые накапливаются в составе триацилглицеридов фотосинтезирующих клеток в качестве резервных веществ, являются пальмитиновая (C16:0), пальмитолеиновая (C16:1) [123] и стеариновая [191]. На экспоненциальной фазе роста *S. acus* subsp. *radians* на питательной среде с глицерином соотношение жирных кислот C16:0 и C18:0 в липидах выше, чем в липидах культуры в контрольном эксперименте и с добавлением глюкозы, что может свидетельствовать об увеличении содержания липидов в клетках *S. acus* subsp. *radians*. Эти биохимические данные подтверждаются данными трансмиссионной электронной микроскопии. На экспоненциальной фазе роста *S. acus* subsp. *radians* в присутствии глицерина выявлено увеличение размеров липидных тел в цитоплазме клетки по сравнению с контролем (см. **рис. 41 в**). Также на стационарной фазе роста *S. acus* subsp. *radians* наблюдается последующее увеличение липидных тел, приводящих к расширению объема клеток диатомей в области поясковых ободков (см. **рис. 41 е**) [219] .

При культивировании *S. acus* subsp. *radians* с глюкозой наблюдается образование гранул, похожих на полисахариды (см. **рис. 41 г**), которых мы не наблюдаем в контрольном эксперименте и при культивировании *S. acus* subsp. *radians* с глицерином. При помощи микроскопических и биохимических методов ранее было показано, что полисахаридом, который локализуется в вакуолях морских и пресноводных диатомей является β -1,3-глюкан (хризоламинарин) [65, 177, 227]. Данный β -глюкан метаболизируется клетками в темновой период и служит субстратом для получения энергии. Геномными исследованиями показано наличие генов, кодирующих β -1,3-глюканазы эндо- и экзодействия у морской диатомеи *T. pseudonana* [75], которые учувствуют в внутриклеточном гидролизе хризоламинарина этой диатомеи. Таким образом, можно предположить, что после поступления молекул глюкозы в цитоплазму диатомовой клетки *S. acus* subsp. *radians*, они включаются в клеточный метаболизм и постепенно запасаются клеткой в виде гранул хризоламинарина. Таким образом, способность росту диатомеи *S. acus* subsp. *radians* в присутствии органических соединений, а также их транспорт в клетку, могут свидетельствовать о высоком адаптационном потенциале данной водоросли, который способствуют доминированию *S. acus* subsp. *radians* в фитопланктоне озера Байкал в весенне-летний период. Кроме того, в определенных условиях возможна конкуренция диатомеи с бактериями за органические источники углерода.

ВЫВОДЫ

1. Впервые проведено комплексное исследование альго-бактериальных сообществ в различных районах эпилимниона озера Байкал в весенне-летний период с помощью методов пиросеквенирования ампликонов фрагментов генов рРНК, эпифлуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии.

2. С помощью пиросеквенирования V3–V4 региона фрагментов генов 16S рРНК выявлено 20 филумов домена Bacteria. В общем количестве последовательностей во всех образцах 95,6 % составляют 6 филумов: *Actinobacteria* (31,4 %); *Bacteroidetes* (21 %); *Verrucomicrobia* (18,3 %), *Proteobacteria* (12,1 %), *Acidobacteria* (9,7 %), *Cyanobacteria* (3,1 %). Последовательности, принадлежащие филумам *Planctomycetes*, TM7, *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes*, *Armatimonadetes*, *Spirochaetes*, BRC1, WS3, SR1, OD1, *Nitrospira*, *Deinococcus-Thermus*, *Chlamydiae* являются минорными.

2. С помощью пиросеквенирования V3 региона 18S рРНК выявлены представители царств Chromista (61,7 % от общего количества последовательностей во всех образцах), (9,5 %), Fungi (7,3 %), Protozoa (0,6 %), а также неклассифицированные Eukaryota (15,9 %). Определены типы Dinophyta (24,1 %); Ochrophyta: классы Chrysophyceae (9,9 %), Eustigmatophyceae (2,6 %), Dictyochophyceae (1,8 %), Synurophyceae (0,4 %); Chlorophyta (9,2 %), Ciliophora (8,3 %), Cryptophyta (5,7 %), Haptophyta (4 %), Cercozoa (2,8 %), Bacillariophyta (1,3 %), Katablepharidophyta (0,7 %), Choanozoa (0,6 %), Bigyra (0,1 %), Chytridiomycota (0,8 %), Basidiomycota (0,6 %).

3. Анализ операционных таксономических единиц с помощью диаграмм Венна и метода главных компонент на основании индекса Брея-Кертиса показывает, что состав доминирующих таксонов бактерий сходен в различных районах эпилимниона озера Байкал со сходными физико-химическими условиями, но различающимися доминирующими видами фитопланктона.

4. С помощью микроскопии в пробах из эпилимниона озера Байкал выявлены альго-бактериальные ассоциации на основе диатомовых, зеленых, хризофитовых и криптофитовых водорослей. С помощью секвенирования и анализа фрагментов генов 16S рРНК определен таксономический состав бактерий в культурах планктонных диатомовых водорослей: *Synedra acus* subsp. *radians* – представители рода *Pseudomonas*; *Asterionella formosa* – *Hydrogenophaga*, *Methylophilus*, *Pseudomonas*, *Nocardioides*, *Flavobacterium*; *Fragilaria crotonensis* – *Janthinobacterium*, *Pedobacter*, *Flavobacterium*.

5. Разработана методика получения аксеничной культуры диатомовой водоросли *S. acus* subsp. *radians*, которая включает фильтрование культуры, обработку детергентом и антибиотиком, получение моноклональной культуры.

6. Установлено, что аксеничная культура *S. acus* subsp. *radians* способна к миксотрофному росту в среде, содержащей глюкозу или глицерин, в результате происходит изменение профиля жирных кислот и ультраструктуры клеток диатомеи.

Благодарности. Автор выражает благодарность научному руководителю к.б.н. Ю. Р. Захаровой и д.б.н., проф. Е. В. Лихошвай за всестороннюю поддержку в работе, коллегам за помощь к.б.н. С. М. Шишлянникову в получении аксеничной культуры *S. acus* subsp. *radians* и ее миксотрофном культивировании, к.б.н. Ю. П. Галачянцу и М. В. Башенхаевой – в анализе данных пиросеквенирования, к.б.н. Д. П. Петровой – в освоении молекулярно-биологических методов, Н.А. Волокитиной – в культивировании диатомовых водорослей, к.б.н. И. В. Клименкову и к.б.н. Е. Д. Бедошвили – в трансмиссионной электронной микроскопии; за возможность использовать полученные комплексные материалы: д.б.н. Г. И. Поповской, к.б.н. М. В. Усольцевой, к.х.н. А. Г. Горшкову, к.г.н. В. М. Домышевой, к.г.н. М. В. Сакирко, Р. Ю. Гнатовскому и к.г.н. В. В. Блинову и всем сотрудникам отдела ультраструктуры клетки ЛИН СО РАН за поддержку при выполнении работ и участие в обсуждении результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анненкова Н. В. Идентификация представителей динофлагеллят озера Байкал на основе молекулярно-генетических данных / Н. В. Анненкова, О. И. Белых, Н. Н. Деникина, С. И. Беликов // Доклады Академии наук. – 2009. – Т. 426, № 4. – С. 559–562.
2. Антипова Н. Л. Материалы по сезонным и годовым колебаниям численности руководящих форм фитопланктона оз. Байкал / Н. Л. Антипова, М. М. Кожов // Тр. Иркут. ун-та. Сер. биол. – 1953. – Т. 7, № 1-2. – С. 63–68.
3. Антипова Н. Л. Сезонные и годовые колебания фитопланктона в оз. Байкал / Н. Л. Антипова // Тр. ЛИН СО АН СССР. – 1963. – Т. 2, № 22, ч. 2: Исследования по микрофлоре и зоопланктону Байкала. – С. 12–28.
4. Байкал. Атлас [Карты] / сост. и подг. к печ. РАН. Сиб. отд.. Межведомств. научн. совет по прогр. «Сибирь» в 1993 г.; предс. ред. коллегии, гл. ред., чл.-кор. РАН Г. И. Галазий – М.: ФСГК, 1993. – 160 с.
5. Батовская Л. О. Роль микроводорослей в регуляции содержания H_2O_2 в природных водах / Л. О. Батовская, Н. Б. Козлова, Е. В. Штамм, Ю. И. Скурлатов // Докл. АН СССР. – 1988. – Т. 301, № 6. – С. 1513–1517.
6. 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. – 2003а. – Т. 72, № 2. – С. 239–249.
7. Белькова Н.Л. Изучение состава водного бактериального сообщества озера Байкал методом гибридизации *in situ* / Н. Л. Белькова, В. В. Дрюккер, С. Х. Хонг, Т. С. Ан // Микробиология. – 2003б. – Т. 72, № 2. – С. 282–283.
8. Белых О. И. Руководство по определению биомассы видов планктона пелагиали оз. Байкал : метод. пособие / О. И. Белых, А. Ю. Бессудова, А. С. Гладких, А. Е. Кузьмина, Г. В. Помазкина, К. И. Поповская, Е. Г.

- Сороковикова, И. В. Тихонова, М. В. Усольцева, А. Д. Фирсова ; ред. Е. В. Лихошвай. – Иркутск: Изд-во ИГУ, 2011. – 51 с.
9. Бухарин О. В. Ассоциативный симбиоз / О. В. Бухарин, Е. С. Лобакова, Н. В. Немцева, С. В. Черкасов. – Екатеринбург: Уро РАН, 2007. – 264 с.
 10. Верболов В. И. Гидрометеорологический режим и тепловой баланс озера Байкал / В. И. Верболов, В. М. Сокольников, М. Н. Шимараев. – М.: Наука, 1965. – 373 с.
 11. Верховина В. А. Микробиальные процессы круговорота азота в Байкале. Микроорганизмы в экосистемах озер и водохранилищ. – Новосибирск: Наука, 1985. – С. 33–42.
 12. Вотинцев К. К. Гидрохимия озера Байкал / К. К. Вотинцев. – М.: Изд-во АН СССР, 1961. – 311 с.
 13. Вотинцев К. К. Круговорот органического вещества в озере Байкал / К. К. Вотинцев, А. И. Мещерякова, Г. И. Поповская. – Новосибирск: Наука, 1975. – 189 с.
 14. Галачьянц Ю. П. Определение нуклеотидной последовательности полного генома бесшовной пеннатной диатомеи *Synedra acus* subsp. *radians* из озера Байкал / Ю. П. Галачьянц, Ю. Р. Захарова, Д. П. Петрова, А. А. Морозов, И. А. Сидоров, А. М. Марченков, М. Д. Логачева, М. Л. Маркелов, К. В. Хабудаев, Е. В. Лихошвай, М. А. Грачев // ДАН. – 2015. – Т. 461, № 3. – С. 348–352.
 15. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
 16. Горбенко А. Ю. Абсолютный количественный учет бактерий в донных отложениях / А. Ю. Горбенко, А. Н. Дзюбан, И. Н. Крылова // Микробиология. – 1992. – Т. 61, № 6. – С. 1082–1086.
 17. Горленко М. В. Экология водных микроорганизмов / М. В. Горленко, Г. А. Дубинина, С. И. Кузнецов. – М.: Наука, 1977. – 289 с.
 18. ГОСТ 19179-73 Гидрология суши. Термины и определения. – М.: Государственный комитет СССР по стандартам, 1988. – 36 с.

19. Грачев М. А. О современном состоянии экологической системы озера Байкал / М. А. Грачев. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. – 156 с.
20. Грачев М. А. Элементы активного центра белков транспорта кремниевой кислоты в диатомовых водорослях / М. А. Грачев, Н. Н. Деникина, С. И. Беликов, Е. В. Лихошвай, М. В. Усольцева, И. В. Тихонова, Р. В. Адельшин, С. А. Клер, Т. А. Щербакова // Молекулярная биология. – 2002. – Т. 36, № 4. – С. 679–681.
21. Денисова Л. Я. Биоразнообразие водных бактерий на различных глубинах Южной котловины озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК / Л. Я. Денисова, Н. Л. Белькова, И. И. Тулохонов, Е. Ф. Зайчиков // Микробиология. – 1999. – Т. 68, № 3. – С. 475–483.
22. Домышева В. М. Пространственное распределение потоков углекислого газа, биогенных элементов и биомассы фитопланктона в пелагиали оз. Байкал в весенний период 2010-2012 гг. / В. М. Домышева, М. В. Усольцева, М. В. Сакирко, Д. А. Пестунов, М. Н. Шимараев, Г. И. Поповская, М. В. Панченко // Оптика атмосф. и океана. – 2014. – Т. 27, № 3. – С. 539–545.
23. Дрюккер В. В. Микробиологические исследования на Байкале. Путь познания Байкала / В. В. Дрюккер, А. И. Штевнева. Новосибирск: Наука, 1987. – С. 156–163.
24. Заворуев В. В. Пространственное распределение флуоресцентных характеристик фитопланктона в период формирования весенней гомотермии в оз. Байкал / В. В. Заворуев, В. М. Домышева, М. Н. Шимараев, М. В. Сакирко, Д. А. Пестунов, М. В. Панченко // Оптика атмосф. и океана. – 2008. – Т. 21, №5. – С. 377–380.
25. Захарова Ю. Р. Таксономическая характеристика микроорганизмов, ассоциированных с культивируемой диатомеей *Synedra acus* из озера Байкал / Ю. Р. Захарова, Р. В. Адельшин, В. В. Парфенова, Е. Д. Бедошвили, Е. В. Лихошвай // Микробиология. – 2010. – Т. 79, № 5. – С. 688–695.

26. Кожов М. М. Очерки по байкаловедению / М. М. Кожов. – Иркутск: Вост.-сиб. книжн. изд-во, 1972. – 256 с.
27. Кожова О. М. О распределении фитопланктона в оз. Байкал / О. М. Кожова // Бот. журн. – 1959. – Т. 44, № 6. – С. 808–811.
28. Кузнецов С. И. Микробиологическая характеристика вод и грунтов Байкала / С. И. Кузнецов // Тр. Байкальск. лимнол. ст. – 1957. – Т. 15.
29. Кузьмин Г. В. Фитопланктон, состав и обилие. В сб.: Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. – 1975.
30. Лаптева Н. А. Видовая характеристика гетеротрофных бактерий в озере Байкал / Н. А. Лаптева // Микробиология. – 1990. – Т. 59, № 3. – С. 499–506.
31. Макарова И. В. К некоторым вопросам методики вычисления биомассы фитопланктона / И. В. Макарова, Л. О. Пичкилы // Ботан. журнал. – 1970. – Т. 55, № 10. – С. 1488–1494.
32. Максимова Э. А. Вертикальное распределение микробиального планктона в течение 1969 г. в Южном Байкале / Э. А. Максимова, В. Н. Максимов // Микробиология. – 1972. – Т. 41. – С. 896–902.
33. Мейер К. И. Введение во флору водорослей озера Байкал / К. И. Мейер // Бюл. МОИП. Отд. биол. – 1930. – Т. 39, № 3-4. – С. 179–396.
34. Меньшикова Е. Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е. Б. Меньшикова, Н. К. Зенков // Успехи соврем. биологии. – 1993. – Т. 113, № 4. – С. 442–455.
35. 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.

36. Младова Т. А. Численность и биомасса бактериопланктона / Т. А. Младова // Лимнология придельтовых пространств Байкала. Л. – 1971а. – С. 185–195.
37. Младова Т. А. О качественном составе бактериопланктона / Т. А. Младова // Лимнология придельтовых пространств Байкала.-Тр. Лимнол. ин-та СО АН СССР. – 1971б. – Т. 12, № 32. – С. 193–201.
38. Нетрусов А. И. Экология микроорганизмов: Учеб. для студ. вузов / А. И. Нетрусов, Е. А. Бонч – Осмоловская, В. М. Горленко и др., Под ред. А. И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 272 с.
39. Нетрусов А. И. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др.; Под ред. А. И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
40. Оболкина Л. А. О находке криофильного сообщества в озере Байкал / Л. А. Оболкина, Н. А. Бондаренко, Л. Ф. Дорощенко, Л. А. Горбунова, О. А. Моложавая // ДАН. – 2000. – Т. 371, № 6. – С. 815–817.
41. Оболкина Л. А. Сезонная динамика инфузорий и микроводорослей в пелагиали Южного Байкала / Л. А. Оболкина, Н. В. Потапская, О. И. Белых, Г. И. Помазкина, В. В. Блинов, А. А. Жданов // Гидробиол. журнал. – 2012. – Т. 48, № 5. – С. 11–19.
42. Павлова О. Н. Особенности распространения бактерий рода *Pseudomonas* в озере Байкал / О. Н. Павлова, В. В. Дрюккер, Т. Я. Косторнова, И. Г. Никулина // Сибир. экол. журн. – 2003. – Т. 10, № 3. – С. 267–272.
43. Парфенова В. В. Видовой состав фосформобилизующих микроорганизмов, выделенных из воды и грунтов Байкала. Микроорганизмы в экосистемах озер и водохранилищ / В. В. Парфенова, Илялетдинов А. Н. – Новосибирск: Наука. – 1985. – С. 55–63.
44. Парфенова В. В. Изучение видового состава культивируемых гетеротрофных микроорганизмов оз. Байкал / 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.
45. 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.
46. Петрова Д. П. Аквапоринподобный белок диатомеи *Synedra acus* / Д. П. Петрова, К. В. Хабудаев, А. М. Марченков, Ю. П. Галачьянц, О. В. Калюжная, Ю. Р. Захарова, Е. В. Лихошвай, М. А. Грачев // ДАН. – 2013. – Т. 448, № 2. – С. 1–4.
47. Помазкина Г. В. Структура и динамика фитопланктона в Южном Байкале (Россия) / Г. В. Помазкина, О. И. Белых, В. М. Домышева, М. В. Сакирко, Р. Ю. Гнатовский // Альгология. – 2010. – Т. 20, № 1. – С. 56–72.
48. Поповская Г. И. Сезонные и годовые изменения фитопланктона в Чивыркуйском заливе Байкала / Г. И. Поповская // Гидробиол. журн. – 1973. – Т. 9, № 5 – С. 5–10.
49. Поповская Г. И. Динамика фитопланктона пелагиали // Биологическая продуктивность пелагиали Байкала и ее изменчивость. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1977. – С. 5–39.
50. Поповская Г. И. Фитопланктон Баргузинского залива. Озера Баргузинской долины / Г. И. Поповская. Новосибирск: Наука, 1986. – С. 86–95.
51. Поповская Г. И. Фитопланктон глубочайшего озера мира / Г. И. Поповская // Тр. ЗИН АН СССР. – 1987. – Т. 172. – С. 107–115.
52. Поповская Г. И. Изменения фитопланктона Малого моря / Г. И. Поповская // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. – 1989. – № 1. – С. 41–47.
53. Поповская Г.И. Диатомовые водоросли планктона озера Байкал: атлас-определитель / Г.И. Поповская, С.И. Генкал, Е.В. Лихошвай. – 2-е изд., перераб. и доп. – Новосибирск: Наука, 2011. – 192 с.
54. Потапская Н. В. Пространственное распределение планктонных инфузорий озера Байкал после вскрытия льда / Н. В. Потапская, Л. А.

- Оболкина, В. В. Блинов // Гидробиол. журн. – 2010. – Т. 46, № 5. – С. 43–53.
55. Романова А. П. Сезонная динамика бактериопланктона, его горизонтальное и вертикальное распределение в южной части Байкала / А. П. Романова // Изв. СО АН СССР. – 1958. – Т. 7. – С. 114–124.
56. Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши. Ч. 1 / под ред. Л. В. Боевой. – Ростов н/Д: НОК, 2009. – 1044 с.
57. Строганов Н. С. Практическое руководство по гидрохимии / Н. С. Строганов, Н. С. Бузинова. – М.: Изд-во Московского унив-та, 1980. – 196 с.
58. 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.
59. Тимошкин О. А. Атлас и определитель пелагиобионтов Байкала (с краткими очерками по их экологии) / О. А. Тимошкин, Г. Ф. Мазепова, Н. Л. Мельник, Л. А. Оболкина, А. И. Таничев, Н. А. Бондаренко, Т. И. Земская, Л. А. Кутикова, Г. И. Помазкова, В. Г. Сиделева, И. В. Аров, Н. Г. Шевелева, Э. Л. Афанасьева, И. В. Механикова, С. Г. Шубенкова, О. Т. Русинек, М. Ю. Бекман, Н. Ф. Логачева, В. Н. Александров, М. М. Подтяжкина, С. И. Питулько. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 1995. – 694 с.
60. Шимараев М. Н. К вопросу о стратификации и механизме конвекции в Байкале / М. Н. Шимараев, Н. Г. Гранин // ДАН СССР. – 1991. – Т. 321, № 2. – С. 381–385.
61. Шимараев М. Н. Гидрофизические процессы и распределение растворенного кремния в озере Байкал / М. Н. Шимараев, В. М. Домышев, Верболов В. И., Н. Г. Гранин, А. А. Жданов, Р. Ю. Гнатовский, В. В. Цехановский, Л. А. Горбунова, С. В. Семовский, И. В. Коровякова // Геология и геофизика. – 1999. – Т. 40, № 10. – С. 1502–1505.

62. Шимараев М. Н. О межкотловинном водообмене в Байкале / М. Н. Шимараев, Н. Г. Гранин, В. М. Домышева, А. А. Жданов, Л. П. Голобокова, Р. Ю. Гнатовский, В. В. Цехановский, В. В. Блинов // Водные ресурсы. – 2003. – Т. 30, № 6. – С. 678–681.
63. Яснитский В. Н. Фитопланктон Байкала / В. Н. Яснитский, А. П. Скабичевский // Тр. Байкальск. лимнол. станции АН СССР. – 1957. – Т. 15. – С. 212–261.
64. Acinas S. G. Fine-scale phylogenetic architecture of a complex bacterial community / S. G. Acinas, V. Klepac-Ceraj, D. E. Hunt, C. Pharino, I. Ceraj, D. L. Distel, M. F. Polz // Nature. – 2004. – V. 430. – P. 551–554.
65. Alekseeva S. A. Polysaccharides of diatoms occurring in Lake Baikal / S. A. Alekseeva, N. M. Shevchenko, M. I. Kusaykin, L. P. Ponomorenko, V. V. Isakov, Zvyagintseva, E. V. Likhoshvai // Prikl Biokhim Mikrobiol. – 2005. – V. 41, no. 2. – P. 185–191.
66. Alldredge A. L. Direct observations of the mass flocculation of diatom blooms: characteristics mass flocculation of diatom blooms: characteristics, settling velocities and formation of diatom aggregates / A. L. Alldredge, C. C. Gotschalk // Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers. – 1989. – V. 40. – P. 1131–1140.
67. Allen A. E. Evolution and metabolic significance of the urea cycle in photosynthetic diatoms / A. E. Allen, C. L. Dupont, M. Obornik, A. Horak, A. Nunes-Nesi, J. P. McCrow, H. Zheng, D. A. Johnson, H. Hu, A. R. Fernie, C. Bowler // Nature. – 2011, V. 473. – P. 203–207.
68. Amann R.I. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation / R. I. Amann, W. Ludwig, K.-H. Schleifer // Microbiological Reviews. – 1995, V. 59. – P. 143–169.
69. Amin S. A. Photolysis of iron-siderophore chelates promotes bacterial-algal mutualism / S. A. Amin, D. H. Green, M. C. Hart, F. C. Küpper, W. G. Sunda, C. J. Carrano // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2009. – V. 106, № 40. – P. 17071–17076.

70. Amin S. A. Interactions between diatoms and bacteria / S. A. Amin, M. S. Parker, E. V. Armbrust // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2012. – V. 76, № 3. – P. 667–684.
71. Amin S. A. Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria / S. A. Amin, L. R. Hmelo, H. M. van Tol, B. P. Durham, L. T. Carlson, K. R. Heal, R. L. Morales, C. T. Berthiaume, M. S. Parker, B. Djunaedi, A. E. Ingalls, M. R. Parsek, M. A. Moran, E. V. Armbrust // *Nature*. – 2015. – V. 522. – P. 98–101.
72. Andersson A. F. Pyrosequencing reveals contrasting seasonal dynamics of taxa within Baltic Sea bacterioplankton communities / A. F. Andersson, L. Riemann, S. Bertilsson // *The ISME Journal*. – 2010. – V. 4. – P. 171–181.
73. Annenkova N. V. Phylogenetic relations of the dinoflagellate *Gymnodinium baicalense* from Lake Baikal / N. V. Annenkova // *Cent. Eur. J. Biol.* – 2013. – V. 8, no. 4. – P. 366–373.
74. Arao T. Positional distribution of fatty acids in lipids of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* / T. Arao, A. Kawaguchi, M. Yamada // *Phytochemistry*. – 1987. – V. 26. – P. 2573–2576.
75. Armbrust E. V. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism / E. V. Armbrust, J. A. Berges, C. Bowler, B. R. Green, D. Martinez, N. H. Putnam, S. Zhou, A. E. Allen, K. E. Apt, M. Bechen, M. A. Brzezinski, B. K. Chael, A. Chiovitti, A. K. Davis, M. S. Demarest, J. C. Detter, T. Glavina, D. Goodstein, M. Z. Hadi, U. Hellsten, M. Hildebrand, B. D. Jenkins, J. Jurka, V. V. Kapitonov, N. Kröger, W. W. Y. Lau, T. W. Lane, F. W. Larimer, J. C. Lippmeier, S. Lucas, M. Medina, A. Montsant, M. Obornik, M. S. Parker, B. Palenik, G. J. Pazour, P. M. Richardson, T. A. Ryneerson, M. A. Saito, D. C. Schwartz, K. Thamatrakoln, K. Valentin, A. Vardi, F. P. Wilkerson, D. S. Rokhsar // *Science*. – 2004. – V. 306. – P. 79–86.
76. Armbrust E. V. The life of diatoms in the world's oceans / E. V. Armbrust // *Nature*. – 2009. – V. 459. – P. 185–192.

77. Azam F. The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea / F. Azam, T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyer-Reil, F. Thingstad // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 1983. – V. 10. – P. 257–263.
78. Azam F. Microbial Control of Oceanic Carbon Flux: The Plot thickens / F. Azam // Science. – 1998. – V. 280. – P. 694–696.
79. Bagatini I. L. Host-specificity and dynamics in bacterial communities associated with bloom-forming freshwater phytoplankton / I. L. Bagatini, A. Eiler, S. Bertilsson, D. Klaveness, L. P. Tassarolli, A. A. H. Vieira // PloS ONE. – 2014. – V. 9, № 1. – P. 1–13.
80. Bahulikar R. A. The complex extracellular polysaccharides of mainly chain-forming freshwater diatom species from epilithic biofilms / R. A. Bahulikar, P. G. Kroth // Journal of Phycology. – 2008. – V. 44. – P. 1465–1475.
81. Bashenkaeva M. V. Sub-ice microalgal and Bacterial Communities in freshwater Lake Baikal, Russia / M. V. Bashenkaeva, Y. R. Zakharova, D. P. Petrova, I. V. Khanaev, Y. P. Galachyants, Y. V. Likhoshway // Microb Ecol. – 2015. DOI 10.1007/s00248-015-0619-2.
82. Bauer A. W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method / A. W. Bauer, W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, M. Turck // Am. J. Clin. Pathol. – 1966. – V. 45. – P. 493–496.
83. Bayraktaroğlu E. Diatom *Thalassiosira weissflogii* in oligotrophic versus eutrophic culture: models and ultrastructure / E. Bayraktaroğlu, T. Legovic, Z. P. Velasquez, A. Cruzado // Ecol Model. – 2003. – V. 170. – P. 237–243.
84. Bell W. Chemotactic and growth responses of marine bacteria to algal extracellular products / W. Bell, R. Mitchell // Biol. Bull. – 1972. – V. 143, no. 2. – P. 265–277.
85. Belykh O. I. A eukaryotic alga from picoplanktonic of Lake Baikal: morphology, ultrastructure and rDNA sequence data / O. I. Belykh, E. A. Semenova, K. D. Kuznedelov, E. I. Zaika, N. E. Guselnikova // Hydrobiology. – 2000. – V. 435. – P. 83–90.

86. Belykh O. I. Autotrophic picoplankton in Lake Baikal: Abundance, dynamics, and distribution / O. I. Belykh, E. G. Sorokovikova // *Aquat Ecosyst Health*. – 2003. – V. 6. – P. 251–261.
87. Bidle K. D. Accelerated dissolution of diatom silica by marine bacterial assemblages / K. D. Bidle, F. Azam // *Nature*. – 1999. – V. 397. – P. 508–512.
88. Bidle K. D. Bacterial control of silicon regeneration from diatom detritus: Significance of bacterial ectohydrolases and species identity / K. D. Bidle, F. Azam // *Limnol Oceanogr*. – 2001. – P. 46. – P. 1606–1623.
89. Bik H. M. Sequencing our way towards understanding global eukaryotic biodiversity / H. M. Bik, D. L. Porazinska, S. Creer, J. G. Caporaso, R. Knight, W. K. Thomas // *Trends Ecol Evol*. – 2012. – V. 27, no. 4. – P. 233–243.
90. Boenigk J. Bacterivory by heterotrophic flagellates: community structure and feeding strategies / J. Boenigk, H. Arndt // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 2002. – V. 81. – P. 465–480.
91. Bowler C. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes / C. Bowler, A. E. Allen, J. H. Badger, J. Grimwood, K. Jabbari, A. Kuo, U. Maheswari, C. Martens, F. Maumus, R. P. Otilar, E. Rayko, A. Salamov, K. Vandepoele, B. Beszteri, A. Gruber, M. Heijde, M. Katinka, T. Mock, K. Valentin, F. Verret, J. A. Berges, C. Brownlee, J.-P. Cadoret, A. Chiovitti, C. J. Choi, S. Coesel, A. D. Martino, J. C. Detter, C. Durkin, A. Falciatore, J. Fournet, M. Haruta, M. J. J. Huysman, B. D. Jenkins, K. Jiroutova, R. E. Jorgensen, Y. Joubert, A. Kaplan, N. Kröger, P. G. Kroth, J. L. Roche, E. Lindquist, M. Lommer, V. Martin-Jezequel, P. J. Lopez, S. Lucas, M. Mangogna, K. McGinnis, L. M. Medlin, A. Montsant, M.-P. O.-L. Secq, C. Napoli, M. Obornik, M. S. Parker, J.-L. Petit, B. M. Porcel, N. Poulsen, M. Robison, L. Rychlewski, T. A. Ryneerson, J. Schmutz, H. Shapiro, M. Siaut, M. Stanley, M. R. Sussman, A. R. Taylor, A. Vardi, P. von Dassow, W. Vyverman, A. Willis, L. S. Wyrwicz, D. S. Rokhsar, J. Weissenbach, E. V. Armbrust, B. R. Green, Y. V. de Peer, I. V. Grigoriev // *Nature*. – 2008. – V. 456. – P. 239–244.

92. Boyd P.W. The biogeochemical cycle of iron in the ocean / P. W. Boyd, M. J. Ellwood // *Nat. Geosci.* – 2010. – V. 3. – P. 675–682.
93. Brown R. M. A new and useful method for obtaining axenic cultures of algae / R. M. Brown, H. W. Bischoff // *Phycol. Soc. Am. News Bull.* – 1962. – V. 15. – P. 43–44.
94. Bruckner C. G. Bacteria associated with benthic diatoms from Lake Constance: phylogeny and influences on diatom growth and secretion of extracellular polymeric substances / C. G. Bruckner, R. Bahulikar, M. Rahalkar, B. Schink, P. Kroth // *Appl Environ Microbiol.* – 2008. – V. 74, no. 24. – P. 7740–7749.
95. Bruckner C. G. Protocols for the removal of bacteria from freshwater benthic diatom cultures / C. G. Bruckner, P. G. Kroth // *J. Phycol.* – 2009. – V. 45. – P. 981–986.
96. Buchan A. Overview of the marine *Roseobacter* lineage / A. Buchan, J. M. Gonzalez, M. A. Moran // *Appl Environ Microb.* – 2005. – V. 71, no. 10. – P. 5665–5677.
97. Buchan A. Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms / A. Buchan, G. R. LeClerc, C. A. Gulvik, J. M. Gonzalez // *Nature Reviews Microbiology.* – 2014. – V. 12. – P. 686–698.
98. Chiovitti A. Heterogeneous xylose-rich glycans are associated with extracellular glycoproteins from the biofouling diatom *Craspedostaurus australis* (Bacillariophyceae) / A. Chiovitti, A. Bacic, J. Burke, R. Wetherbee // *Eur. J. Phycol.* – 2003. – V. 38. – P. 351–360.
99. Chiovitti A. The glucans extracted with warm water from diatoms are mainly derived from intracellular chrysolaminaran and not extracellular polysaccharides / A. Chiovitti, P. Molino, S. A. Crawford, R. Teng, T. Spurck, R. Wetherbee // *Eur J Phycol.* – 2004. – V. 39. – P. 117–128.
100. Cho B. C. Major role of bacteria in biogeochemical fluxes in the ocean's interior / B. C. Cho, Azam F. // *Nature.* – 1988. – V. 332. – P. 441–443.
101. Cole J. J. Interactions between bacteria and algae in aquatic ecosystems / J. J. Cole // *Ann. Rev. Ecol. Syst.* – 1982. – V. 13. – P. 291–314.

102. Cole J. J. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview / J. J. Cole, S. Findlay, M. L. Pace // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 1988. – V. 43. – P. 1–10.
103. 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, Database issue. – D141–145.
104. Comte J. Microbial Community Structure and Dynamics in the Largest Natural French Lake (Lake Bourget) / J. Comte, S. Jacquet, S. Vibound, D. Fontvieille, A. Millery, G. Paolini, I. Domaizon // Microb Ecol. – 2006. – V. 52. – P. 72–89.
105. Cooksey K. E. Fluorometric determination of the neutral lipid content of microalgal cells using Nile Red / K. E. Cooksey, J. B. Guckert, S. A. Williams, P. R. Callis // J. Microbiol Methods. – 1987. – V. 6, no. 6. – P. 333–345.
106. Croft M. T. Algae acquire vitamin B₁₂ through a symbiotic relationship with bacteria / M. T. Croft, A. D. Lawrence, E. Raux-Deery, M. J. Warren, A. G. Smith // Nature. – 2005. – V. 438. – P. 90–93.
107. Cushing D. H. A difference in structure between ecosystems in strongly stratified waters and in those that are only weakly stratified / D. H. Cushing // Journal of Plankton Research. – 1989. – V. 11, № 1. – P. 1–13.
108. Daste P. A simple procedure for obtaining clonal isolation of diatoms / P. Daste, D. Neuville, B. V. Baptiste // Eur. J. Phycol. – 1983. – V. 18. – P. 1–3.
109. Davis M. M. Titrimetric and equilibrium studies using indicators related to Nile Blue A / M. M. Davis, H. B. Hetzer // Analytical Chemistry. – 1966. – V. 38, no. 3. – P. 451–461.
110. Desbois A. Isolation and structural characterization of two antibacterial free fatty acids from the marine diatom, *Phaeodactylum tricornutum* / A. Desbois, T. Lebl, L. Yan, V. Smith // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – V. 81. – P. 755–764.

111. Desbois A. A fatty acid from the diatom *Phaeodactylum tricornerutum* is antibacterial against diverse bacteria including multi-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) / A. Desbois, A. Mearns-Spragg, V. Smith // *Mar. Biotechnol.* – 2009. – V. 11. – P. 45–52.
112. Doggett M. S. Further evidence for host-specific variants in *Zygorhizidium planktonicum* / M. S. Doggett, D. Porter // *Mycologia.* – 1995. – V. 86. – P. 161–171.
113. Droop M. Vitamin B₁₂ and marine ecology. V. Continuous culture as an approach to nutritional kinetics / M. Droop // *Helgol. Mar. Res.* – 1970. – V. 20. – P. 629–636.
114. Droop M. R. Vitamins, phytoplankton and bacteria: symbiosis or scavenging? / M. R. Droop // *J. Plankton Res.* – 2007. – V. 29, № 2. – P. 107–113.
115. Dunstan G. A. Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae) / G. A. Dunstan, J. K. Volkman, S. M. Barrett, J.-M. Leroi, S. W. Jeffrey // *Phytochemistry.* – 1994. – V. 35. – P. 155–161.
116. 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, no. 16. – P. 2194–2200. doi: 10.1093/bioinformatics/btr381.
117. Eiler A. Coherent dynamics and association networks among lake bacterioplankton taxa / A. Eiler, F. Heinrich, S. Bertilsson // *The ISME Journal.* – 2012. – V. 6. – P. 330–342.
118. Falkner K. K. The major and minor element geochemistry of Lake Baikal / K. K. Falkner, C. I. Measures, S. E. Herbelin, J. M. Edmond // *Limnol Oceanogr.* – 1991. – V. 36, no. 3. – P. 413–423.
119. Falkowski P. G. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles / P. G. Falkowski, T. Fenchel, E. F. Delong // *Science.* – 2008. – V. 320. – P. 1034–1039.

120. Field C. B. Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components / C. B. Field, M. J. Behrenfeld, J. T. Randerson, P. Falkowski // *Science*. – 1998. – V. 281. – P. 237–240.
121. Fietz S. First record of *Nannochloropsis limnetica* (Eustigmatophyceae) in the autotrophic picoplankton from Lake Baikal / S. Fietz, W. Bleib, H. Koppitz, A. Nicklish // *J. Phycol.* – 2005. – V. 41. – P. 780–790.
122. Findlay J. A. Antibacterial constituents of the diatom *Navicula delognei* / J. A. Findlay, A. D. Patil // *J. Nat. Prod.* – 1984. – V. 47, no. 5. – P. 815–818.
123. Fisher N. S. Fatty acid dynamics in *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae): implications for physiological ecology/ N. S. Fisher, R. P. Schwarzenbach // *J Phycol.* – 1978. – V. 14. – P. 143–150.
124. Fogg G. E. Extracellular products of phytoplankton photosynthesis / G. E. Fogg, C. Nalewajko, W. D. Watt / *Proc. Roy. Soc.* – 1965. – V. 162. – P. 517–534.
125. Fogg G. E. The Ecological Significance of Extracellular Products of Phytoplankton Photosynthesis / G. E. Fogg // *Bot Mar.* – 1983. – V. 26. – P. 3–14.
126. Foster R. A. Nitrogen fixation and transfer in open ocean diatom–cyanobacterial symbioses / R. A. Foster, M. M. M. Kuypers, T. Vagner, R. W. Paerl, N. Musat, J. P. Zehr // *ISME J.* – 2011. – V. 5. – P. 1484–1493.
127. Fowler S. W. Role of Large Particles in the Transport of Elements and Organic Compounds Through the Oceanic Water Column / S. W. Fowler, G. A. Knauer // *Prog. Oceanog.* – 1986. – V. 16. – P. 147–194.
128. Fukao T. Production of transparent exopolimer particles by four diatom species / T. Fukao, K. Kimoto, Y. Kotani // *Fish. Sci.* – 2010. – V. 76. – P. 755–760.
129. Furusawa G. Characterization of cytoplasmic fibril structures found in gliding cells of *Saprospira* sp. / G. Furusawa, T. Yoshikawa, Y. Takano, K. Mise, I. Furusawa, T. Okuno, T. Sakata // *Can. J. Microbiol.* – 2005. – V. 51. – P. 875–880.

130. García M. C. C. Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricornutum* on glycerol: growth rate and fatty acid profile / M. C. C. García, J. M. F. Sevilla, F. G. A. Fernández, E. M. Grima, F. G. Camacho // J Appl Phycol. – 2000. – V. 12. – P. 239–248.
131. Gärdes A. Diatom-associated bacteria are required for aggregation of *Thalassiosira weissflogii* / A. Gärdes, M. H. Iversen, H.-P. Grossart, U. Passow, M. S. Ulrich // ISME J. – 2011. – V. 5. – P. 436–445.
132. Gerhardt P. Manual of Methods for General Bacteriology / P. Gerhardt, R. N. Costilow, N. R. Krieg, R. G. E. Murray, E. W. Nester, G. B. Phillips, W. A. Wood // Eds., Washington: Amer. Soc. Microbiol. – 1981.
133. Ghylis T. W. Comparative single-cell genomics reveals potential ecological niches for the freshwater actinobacteria lineage / T. W. Ghylis, S. L. Garcia, F. Moya, B. O. Oyserman, P. Schwientek, K. T. Forest, J. Mutschler, J. Dwulit-Smith, L.-K. Chan, M. Martinez-Garcia, A. Sczyrba, R. Stepanauskas, H.-P. Grossart, T. Woyke, F. Warnecke, R. Malmstrom, S. Bertilsson, K. D. McMahon // ISME J. – 2014. – V. 8. – P. 2503–2516.
134. Glöckner F. O. Comparative 16S rRNA Analysis of Lake Bacterioplankton Reveals Globally Distributed Phylogenetic Clusters Including an Abundant Group of Actinobacteria / F. O. Glöckner, E. Zaichikov, N. Belkova, L. Denissova, J. Pernthaler, A. Pernthaler, R. Amann // Appl Environ Microbiol. – 2000. – V. 66, no. 11. – P. 5053–5065.
135. Granum E. Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom *Skeletonema costatum*: diel variations and effects of N depletion / E. Granum, S. Kirkvold, S. M. Mykkestad // Mar Ecol Prog Ser. – 2002. – V. 242. – P. 83–94.
136. Grossart H.-P. Marine diatom species harbour distinct bacterial communities / H.-P. Grossart, F. Levold, M. Allgaier, M. Simon, T. Brinkhoff // Environ. Microbiol. – 2005. – V. 7, no. 6. – P. 860–873.
137. Grossart H.-P. Top-down and bottom-up induced shifts in bacterial abundance, production and community composition in an experimentally

- dividing humic lake / H.-P. Grossart, J. Jezbera, K. Horňak, K. M. L. Hutalle, U. Buck, K. Šimek // *Environ Microbiol.* – 2008. – V. 10, no. 3. – P. 635–652.
138. Guannel M. L. Bacterial community composition differs with species and toxigenicity of the diatom *Pseudo-nitzschia* / M. L. Guannel, M. C. Horner-Devine, G. Rocap // *Aquat. Microb. Ecol.* – 2011. – V. 64. – P. 117–133.
139. Guerrini F. Bacterial-algal interactions in polysaccharide production / F. Guerrini, A. Mazzotti, L. Boni, R. Pistocchi // *Aquat. Microb. Ecol.* – 1998. – V. 15. – P. 247–253.
140. Haines K. C. Growth of vitamin B₁₂-requiring marine diatoms in mixed laboratory cultures with vitamin B₁₂-producing marine bacteria / K. C. Haines, R. R. L. Guillard // *J. Phycol.* – 1974. – V. 10. – P. 245–252.
141. Hampton S. E. The rise and fall of plankton: long-term changes in the vertical distribution of algae and grazers in Lake Baikal, Siberia / S. E. Hampton, D. K. Gray, L. R. Izmet'eva, M. V. Moore, T. Ozersky // *PLoS ONE.* – 2014. – V. 9, no. 2. e88920. doi:10.1371/journal.pone.0088920.
142. Harlemann D. P. R. Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea / D. P. R. Harlemann, M. Labrenz, K. Jürgens, S. Bertilsson, J. J. Waniek, A. F. Andersson // *ISME J.* – 2011. – V. 5. – P. 1571–1579.
143. Harlemann D. P. R. Metagenomic *De Novo* Assembly of an Aquatic Representative of the Verrucomicrobial Class *Spartobacteria* / D. P. R. Harlemann, D. Lundin, M. Labrenz, K. Jürgens, Z. Zheng, H. Aspeborn, A. F. Andersson // *mBio.* – 2013. – V. 4, no. 3. e00569-12. doi:10.1128/mBio.00569-12.
144. Hildebrand M. A gene family of silicon transporters / M. Hildebrand, B. E. Volcani, W. Gassmann, J. I. Schroeder // *Nature.* – 1997. – V. 385. – P. 688–689.
145. Hu Q. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances / Q. Hu, M. Sommerfeld, E. Jarvis, M. Ghirardi, M. Posewitz, M. Seibert, A. Darzins // *Plant J.* – 2008. – V. 54. – P. 621–639.

146. Huber J. A. Microbial population structures in the deep marine biosphere / J. A. Huber, D. B. M. Welch, H. G. Morrison, S. M. Huse, P. R. Neal, D. A. Butterfield, M. L. Sogin // *Science*. – 2007. – V. 318. – P. 97–100.
147. Humbert J. F. Comparison of the structure and composition of bacterial communities from temperate and tropical freshwater ecosystems / J. F. Humbert, U. Dorigo, P. Cecchi, B. Le Berre, D. Debroas, M. Bouvy // *Environ. microbiol.* – 2009. – V. 11, no. 9. – P. 2339–2350.
148. Hünken M. Epiphytic bacteria on the Antarctic ice diatom *Amphiprora kufferathii* Manguin cleave hydrogen peroxide produced during algal photosynthesis / M. Hünken, J. Harder, G. O. Kirst // *Plant Biol.* – 2008. – V. 10. – P. 519–526.
149. Ianora A. Aldehyde suppression of copepod recruitment in blooms of a ubiquitous planktonic diatom / A. Ianora, A. Miralto, S. A. Poulet, Y. Carotenuto, I. Buttino, G. Romano, R. Casotti, G. Pohnert, T. Wichard, L. Colucci-D'Amato, G. Terrazzano, V. Smetacek // *Nature*. – 2004. – V. 429. – P. 403–407.
150. Inoue H. High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids / H. Inoue, H. Nojima, H. Okayama // *Gene*. – 1990. – P. 23–28.
151. Izmet'seva L. R. Long-Term Dynamics of Lake Baikal Pelagic Phytoplankton under Climate Change / L. R. Izmet'seva, E. A. Silow, E. Litchman // *Inland Water Biology*. – 2011. – V. 4, no. 3. – P. 301–307.
152. Jackson G. A. A model of the formation of marine algal flocs by physical coagulation processes / G. A. Jackson // *Deep-Sea Research*. – 1990. – V. 37, no. 8. – P. 1197–1211.
153. Janssen P. H. Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes / P. H. Janssen // *Appl Environ Microbiol.* – 2006. – V. 72, no. 3. – P. 1719–1728.
154. Jezbera J. Prey selectivity of bacterivorous protists in different size fractions of reservoir water amended with nutrients / J. Jezbera, K. Horňak, K. Šimek // *Environ Microbiol.* – 2006. – V. 8, no. 8. – P. 1330–1339.

155. Jezbera J. Contrasting trends in distribution of four major planktonic betaproteobacterial groups along a pH gradient of epilimnia of 72 freshwater habitats / J. Jezbera, J. Jezberova, U. Koll, K. Horňák, K. Šimek, M. W. Hahn // FEMS Microbiol Ecol. – 2012. – V. 81. – P. 467–479.
156. Jing H. Vertical profiles of bacteria in the tropical and subarctic oceans revealed by pyrosequencing / H. Jing, X. Xia, K. Suzuki, H. Liu // PLoS ONE. – 2013. – V. 8, no. 11. e79423. doi:10.1371/journal.pone.0079423.
157. Jones A. C. Seasonality and disturbance: annual pattern and response of the bacterial and microbial eukaryotic assemblages in a freshwater ecosystem / A. C. Jones, T. S. V. Liao, F. Z. Najar, B. A. Roe, K. D. Hambright, D. A. Caron // Environ Microbiol. – 2013. – V. 15, no. 9. – P. 2557–2572.
158. Jones A. K. The use of antibiotics to obtain axenic cultures of algae / A. K. Jones, M. E. Rhodes, S. C. Evans // Eur. J. Phycol. – 1973. – V. 8. – P. 185–196.
159. Kagami M. Parasitic chytrids: their effects on phytoplankton communities and food-web dynamics / M. Kagami, A. de Bruin, B. W. Ibelings, E. V. Donk // Hydrobiologia. – 2007. – V. 578. – P. 113–129.
160. Kates M. Lipid components of diatoms / M. Kates, B. E. Volcani // Biochim Biophys Acta. – 1966. – V. 116. – P. 264–278.
161. Killworth P. D. Modeling deep-water renewal in Lake Baikal / P. D. Killworth, E. C. Carmack, R. F. Weiss, R. Matear // Limnol. Oceanogr. – 1996. – V. 41, no. 7. – P. 1521–1538.
162. Kirchman D. L. The ecology of *Cytophaga-Flavobacteria* in aquatic environments / D. L. Kirchman // FEMS Microbiol Ecol. – 2002. – V. 39. – P. 91–100.
163. Kitano M. Changes in eicosapentaenoic acid content of *Navicula saprophila*, *Rhodomonas salina* and *Nitzschia* sp. under mixotrophic conditions / M. Kitano, R. Matsukawa, I. Karube // J Appl Phycol. – 1997. – V. 9. – P. 559–563.
164. Kobayashi K. Possible occurrence of intracellular bacteria in *Pseudo-nitzschia multiseriata*, a causative diatom of amnesic shellfish poisoning / K.

- Kobayashi, A. Kobiyama, Y. Kotaki, M. Kodama // *Fish. Sci.* – 2003. – V. 69. – P. 974–978.
165. Kodama M. Relationships between bacteria and harmful algae / M. Kodama, G. Doucette, D. Green // In Granéli E, Turner JT (ed), *Ecology of harmful algae*. Springer-Verlag, Heidelberg. – 2006. – P. 243–255.
166. Kroth P. G. A model for carbohydrate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* deduced from comparative whole genome analysis / P. G. Kroth, A. Chiovitti, A. Gruber, V. Martin-Jezequel, T. Mock, M. S. Parker, M. S. Stanley, A. Kaplan, L. Caron, T. Weber, U. Maheswari, E. V. Armbrust, C. Bowler. // *PLoS ONE*. – 2008. – V. 1. e1426.
167. Larsson U. Phytoplankton Exudate Release as Energy Source for the Growth of Pelagic Bacteria / U. Larsson, A. Hangström // *Marine Biology*. – 1979. – V. 52. – P. 199–206.
168. Lebeau T. L. Diatom cultivation and biotechnologically relevant products. II: Current and putative products / T. L. Lebeau, J. M. R. Robert // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2003. – V. 60. – P. 624–632.
169. Lee S.-H. Members of the phylum *Acidobacteria* are dominant and metabolically active in rhizosphere soil / S.-H. Lee, J.-O. Ka, J.-C. Cho // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2008. – V. 285. – P. 263–269.
170. Legendre L. Plankton and nutrient dynamics in marine waters / L. Legendre, F. Rassoulzadegan // *Ophelia*. – 1995. – V. 41. – P. 153–172.
171. Leibold M. A. The metacommunity concept: a framework for multi-scale community / M. A. Leibold, M. Holyoak, N. Mouquet, P. Amarasekare, J. M. Chase, M. F. Hoopes, R. D. Holt, J. B. Shurin, R. Law, D. Tilman, M. Loreau, A. Gonzalez // *Ecol. Lett.* – 2004. – V. 7. – P. 601–613.
172. Lewin J. C. Heterotrophy in diatoms / J. C. Lewin // *J. gen. Microbiol.* – 1953. – V. 9. – P. 305–313.
173. Lewitus A. J. Effects of light and glycerol on the organization of the photosynthetic apparatus in the facultative heterotroph *Pyrenomonas salina*

- (Cryptophyceae) / A. J. Lewitus, D. A. Caron, K. R. Miller // J. Phycol. – 1991. – V. 27. – P. 578–587.
174. Liu X. Effects of organic carbon sources on growth, photosynthesis, and respiration of *Phaeodactylum tricornutum* / X. Liu, S. Duan, A. Li, N. Xu, Z. Cai, Z. Hu // J Appl Phycol. – 2009. – V. 21. – P. 239–246.
175. Logue J. B. Empirical approaches to metacommunities: a review and comparison with theory / J. B. Logue, N. Mouquet, H. Peter, H. Hillebrand, Metacommunity Working Group // Trends Ecol. Evol. – 2011. – V. 26, no. 9. – P. 482–491.
176. Mayali X. Algicidal bacteria in the sea and their impact on algal blooms / X. Mayali, F. Azam // J. Eukaryot. Microbiol. – 2004. – V. 51, no. 2. – P. 139–144.
177. Meeuse B. J. D. Storage products. In Physiology and biochemistry of algae. Edited by Lewin R. A. New York and London: Academic. – 1962. – P. 293–299.
178. Mostajir B. Microbial Food Webs in Aquatic and Terrestrial Ecosystems. In Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications / B. Mostajir, C. Amblard, E. Buffan-Dubau, R. De Wit, R. Lensi, T. Sime-Ndango // Presses Universitaires de Pau et des Pays de l'Adour, 2015. – P. 485–509.
179. Mykkestad S. M. Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides / S. M. Mykkestad // Sci. total Environ. – 1995. – V. 165. – P. 155–164.
180. Neilson A. H. The uptake and utilization of organic carbon by algae: an essay in comparative biochemistry / A. H. Neilson, R. A. Lewin // Phycologia. – 1974. – V. 13, no. 3. – P. 227–264.
181. Nelson D. M. Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation / D. M. Nelson, P. Treguer, M. A. Brzezinski, A. Leynaert, B. Queguiner // Global biogeochemical Cycle. – 1995. – V. 9, no. 3, P. 359–372.

182. 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 // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2011. – V. 75, no. 1. – P. 14–49.
183. Nolte V. Contrasting seasonal niche separation between rare and abundant taxa conceals the extent of protist diversity / V. Nolte, R. V. Pandey, S. Jost, R. Medinger, B. Ottenwalder, J. Boenigk, C. Schlotterer // *Molecular Ecology*. – 2010. – V. 19. – P. 2908–2915.
184. Obolkina L. A. Planktonic ciliates of Lake Baikal / L. A. Obolkina // *Hydrobiologia*. – 2006. – V. 568. – P. 193–199.
185. Ohwada K. Distribution and seasonal variation of vitamin B₁₂, thiamine and biotin in the sea / K. Ohwada, N. Taga // *Mar. Chem.* – 1972. – V. 1. – P. 61–73.
186. Ohwada K. Seasonal cycles of vitamin B₁₂, Thiamine and biotin in Lake Sagami. Patterns of their distribution and ecological significance / K. Ohwada, N. Taga // *Int. Rev. Gesamten. Hydrobiol. Hydrogr.* – 1973. – V. 58. – P. 851–871.
187. Opute F. I. Studies on fat accumulation in *Nitzschia palea* Kutz / F. I. Opute // *Ann Bot.* – 1974. – V. 38. – P. 889–902.
188. Pahl S. L. Heterotrophic growth and nutritional aspects of the diatom *Cyclotella cryptica* (Bacillariophyceae): effect of some environmental factors / S. L. Pahl, D. M. Lewis, F. Chen, K. D. King // *J Biosci Bioeng.* – 2010. – V. 109. – P. 235–239.
189. Paul C. Interactions of the algicidal bacterium *Kordia algicida* with diatoms: regulated protease excretion for specific algal lysis / C. Paul, G. Pohnert // *PLoS One*. – 2011. – V. 6, no. 6. e21032. doi:10.1371/journal.pone.0021032.
190. Pinhassi J. Changes in Bacterioplankton Composition under Different Phytoplankton Regimens / J. Pinhassi, M. M. Sala, H. Havskum, F. Peters, O. Guadayol, A. Malits, C. Marrase // *Appl Environ Microbiol.* – 2004. – V. 70, no. 11. – P. 6753–6766. DOI: 10.1128/AEM.70.11.6753-6766.2004.

191. Popovich C. A. Lipid quality of the diatoms *Skeletonema costatum* and *Navicula gregaria* from the South Atlantic Coast (Argentina): evaluation of its suitability as biodiesel feedstock / C. A. Popovich, C. Damiani, D. Constenla, P. I. Leonardi // *J Appl Phycol.* – 2012. – V. 24. – P. 1–10.
192. Popovskaya G. I. Ecological monitoring of phytoplankton in Lake Baikal / G. I. Popovskaya // *Aquat Ecosyst Health.* – 2000. – V. 3. – P. 215–225.
193. Popovskaya G. I. The role of endemic diatom algae in the phytoplankton of Lake Baikal / G. I. Popovskaya, Y. V. Likhoshway, S. I. Genkal, A. D. Firsova // *Hydrobiologia.* – 2006. – V. 568. – P. 87–94.
194. Quaiser A. Comparative analysis of genome fragments of Acidobacteria from deep Mediterranean plankton / A. Quaiser, P. Lopez-Garcia, Y. Zivanovic, M. R. Henn, F. Rodriguez-Valera, D. Moreira // *Environ Microbiol.* – 2008. – V. 10, no. 10. – P. 2704–2717.
195. Quince C. Removing noise from pyrosequenced amplicons / Quince C., Lanzen A., Davenport R. J., Turnbaugh P. J. // *BMC Bioinf.* – 2011. – V. 12, no. 38. – P. 1–18. doi:10.1186/1471-2105-12-38.
196. Rasconi S. Phytoplankton chytridiomycosis: community structure and infectivity of fungal parasites in aquatic systems / S. Rasconi, N. Niquil, T. Sime-Ngando // *Environ Microbiol.* – 2012. – V. 14, no. 8. – P. 2151–2170.
197. Reeves A. R. Characterization of four outer membrane proteins that play a role in utilization of starch by *Bacteroides thetaiotaomicron* / A. R. Reeves, G.-R. Wang, A. A. Salyers // *J. Bacteriol.* – 1997. – V. 179, no. 3. – P. 643–649.
198. Reitan K. I. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae / K. I. Reitan, J. R. Rainuzzo, Y. Olsen // *J. Phycol.* – 1994. – V. 30. – P. 972–979.
199. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // *The Journal of cell biology.* – 1963. – V. 17, no. 1. – P. 208–212.

200. Ribalet F. Differential effect of three polyunsaturated aldehydes on marine bacterial isolates / F. Ribalet, L. Intertaglia, P. Lebaron, R. Casotti // *Aquat. Toxicol.* – 2008. – V. 86. – P. 249–255.
201. Ribier J. The antarctic diatom: *stellarima microtrias* (Ehrenberg) Hasle & Sims cell structure and vegetative cell enlargement in culture / J. Ribier, M. Patillon, M.-J. Falxa, J.-C. Godineau // *Polar Biol.* – 1988. – V. 8. – P. 447–455.
202. Riemann L. Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom / L. Riemann, G. F. Steward, F. Azam // *Appl Environ Microb.* – 2000. – V. 66, no. 2. – P. 578–587.
203. Rinta-Kanto J. M. Bacterial community transcription patterns during a marine phytoplankton bloom / J. M. Rinta-Kanto, S. Sun, S. Sharma, R. P. Kiene, M. A. Moran // *Environ. Microbiol.* – 2012. – V. 14, no. 1. – P. 228–239.
204. Risgaard-Petersen N. Competition between ammonia-oxidizing bacteria and benthic microalgae / N. Risgaard-Petersen, M. H. Nicolaisen, N. P. Revsbech, B. A. Lomstein // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – V. 70, no. 9. – P. 5528–5537.
205. Roessler P. G. Effects of silicon deficiency on lipid composition and metabolism in the diatom *Cyclotella cryptica* / P. G. Roessler // *J. Phycol.* – 1988. – V. 24. – P. 394–400.
206. Rooney-Varga J. N. Links between phytoplankton and bacterial community dynamics in a coastal marine environment / J. N. Rooney-Varga, M. W. Giewat, M. C. Savin, S. Sood, M. LeGresley, J. L. Martin // *Microb. Ecol.* – 2005. – V. 49. – P. 163–175.
207. Rösel S. Contrasting dynamics in activity and community composition of free-living and particle-associated bacteria in spring / S. Rösel, H.-P. Grossart, // *Aquat Microb Ecol.* – 2012. – V. 66. – P. 169–181.
208. Safonova T. A. Cultivation and automatic counting of diatom algae cells in multi-well plastic plates / T. A. Safonova, I. A. Aslamov, T. N. Basharina, A.

- G. Chenski, A. L. Vereschagin, O. Y. Glyzina, M. A. Grachev // *Diatom Research*. – 2007. – V. 22, no. 1. – P. 189–195.
209. Salcher M. M. Spatiotemporal distribution and activity patterns of bacteria from three phylogenetic groups in an oligomesotrophic lake / M. M. Salcher, J. Pernthaler, T. Posch // *Limnol Oceanogr*. – 2010. – V. 55, no. 2. – P. 846–856.
210. Salcher M. M. Same same but different: ecological niche partitioning of planktonic freshwater prokaryotes / M. M. Salcher // *J. Limnol*. – 2014. – V. 73. – P. 74–87.
211. Sapp M. Species-specific bacterial communities in the phycosphere of microalgae? / M. Sapp, A. S. Schwaderer, K. H. Wiltshire, H.-G. Hoppe, G. Gerdts, A. Wichels // *Microb. Ecol*. – 2007a. – V. 53. – P. 683–699.
212. Sapp M. Impacts of cultivation of marine diatoms on the associated bacterial community / M. Sapp, A. Wichels, G. Gerdts // *Appl. Environ. Microbiol*. – 2007b. – V. 73, no. 9. – P. 3117–3120.
213. Sapriel G. Genome-wide transcriptome analyses of silicon metabolism in *Phaeodactylum tricornutum* reveal the multilevel regulation of silicic acid transporters / G. Sapriel, M. Quinet, M. Heijde, L. Jourdren, V. Tanty, G. Luo, S. L. Crom, P. J. Lopez // *PLoS ONE*. – 2009. – V. 4, no. 10. e7458. doi:10.1371/journal.pone.0007458.
214. Schäfer H. Genetic diversity of ‘satellite’ bacteria present in cultures of marine diatoms / H. Schäfer, B. Abbas, H. Witte, G. Muyzer // *FEMS Microbiol. Ecol*. – 2002. – V. 42. – P. 25–35.
215. 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, no. 23. – P. 7537–7541.
216. Sheppard V. Characterization of an endoplasmic reticulum-associated silaffin kinase from the diatom *Thalassiosira pseudonana* / V. Sheppard, N.

- Poulsen, N. Kröger // J. Biol. Chem. – 2010. – V. 285, no. 2. – P. 1166-1176. doi:10.1074/jbc.M109.039529.
217. Shimaraev M. N. Physical Limnology of Lake Baikal: review / M. N. Shimaraev, V. I. Verbolov, N. G. Granin, P. P. Sherstyankin. – BICER, Baikal International Center for Ecological Research, 1994. – 81 pp.
218. Shishlyannikov S. M. A procedure for establishing an axenic culture of the diatom *Synedra acus* subsp. *radians* (Kütz.) Skabitsch. from Lake Baikal / S. M. Shishlyannikov, Y. R. Zakharova, N. A. Volokitina, I. S. Mikhailov, D. P. Petrova, Y. V. Likhoshway // Limnol Oceanogr: Methods. – 2011. – V. 9. – P. 478–484.
219. Shishlyannikov S. M. Effect of mixotrophic growth on the ultrastructure and fatty acid composition of the diatom *Synedra acus* from Lake Baikal / S. M. Shishlyannikov, I. V. Klimenkov, Y. D. Bedoshvili, I. S. Mikhailov, A. G. Gorshkov // Journal of Biological Research-Thessaloniki. – 2014. – V. 21, no. 15. – P. 1–8.
220. Sicko-Goad L. effect of light cycle on diatom fatty acid composition and quantitative morphology / L. Sicko-Goad, M. S. Simmons, D. Lazinsky, J. Hall // J Phycol. – 1988. – V. 24. – P. 1–7.
221. Šimek K. Ecological role and bacterial grazing of *Halteria* spp.: small freshwater oligotrichs as dominant pelagic ciliate bacterivores / K. Šimek, K. Jürgens, J. Nedoma, M. Comerma, J. Armengol // Aquat Microb Ecol. – 2000. – V. 22. – P. 43–56.
222. Šimek K. Alga-Derived Substrates Select for Distinct Betaproteobacterial Lineages and Contribute to Niche Separation in *Limnohabitans* Strains / K. Šimek, V. Kasalicky, E. Zapomělova, K. Horňak // Appl Environ Microbiol. – 2011. – V. 77, no. 20. – P. 7307–7315.
223. Sime-Ngando T. Phytoplankton chytridiomycosis: fungal parasites of phytoplankton and their imprints on the food web dynamics / T. Sime-Ngando // Frontiers in microbiology. – 2012. – V. 3, no. 361. – P. 1–13.

224. Smith M. W. Contrasting genomic properties of free-living and particle-attached microbial assemblages within a coastal ecosystem / M. W. Smith, L. Z. Allen, A. E. Allen, L. Herfort, H. M. Simon // *Front Microbiol.* – 2013. – V. 4, no. 120. – P. 1–20.
225. Sogin M. L. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere” / M. L. Sogin, H. G. Morrison, J. A. Huber, D. M. Welch, S. M. Huse, P. R. Neal, J. M. Arrieta, G. J. Herndl // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2006. – V. 103, no. 32. – P. 12115–12120.
226. Straškrabova V. Primary production and microbial activity in the euphotic zone of Lake Baikal (Southern Basin) during late winter / V. Straškrabova, L. R. Izmet'yeva, E. A. Maksimova, S. Fietz, J. Nedoma, J. Borovec, G. I. Kobanova, E. V. Shchetinina, E. V. Pislegina // *Global and Planetary Change.* – 2005. – V. 46. – P. 57–73.
227. Takahashi E. Optimizing extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from benthic diatoms: comparison of efficiency of six EPS extraction methods / E. Takahashi, J. Ledauphin, D. Goux, F. Orvain // *Mar Fresh Res.* – 2009. – V. 60. – P. 1201–1210.
228. Tanner W. The *Chlorella* hexose/H(+)-symporters / W. Tanner // *Int Rev Cytol.* – 2000. – V. 200. – P. 101–141.
229. Teeling H. Substrate-controlled succession of marine bacterioplankton populations induced by a phytoplankton bloom / H. Teeling, B. M. Fuchs, D. Becher, C. Klockow, A. Gardebrecht, C. M. Bennke, M. Kassabgy, S. Huang, A. J. Mann, J. Waldmann, M. Weber, A. Klindworth, A. Otto, J. Lange, J. Bernhardt, C. Reinsch, M. Hecker, J. Peplies, F. D. Bockelmann, U. Callies, G. Gerds, A. Wichels, K. H. Wiltshire, F. O. Glöckner, T. Schweder, R. Amann // *Science.* – 2012. – V. 336. – P. 608–611. DOI: 10.1126/science.1218344.
230. Terry K. L. Light-limited growth of two strains of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin: chemical composition, carbon partitioning and the diel periodicity of physiological processes / K. L. terry, J. Hirata, E. A. Laws // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* – 1983. – V. 68. – P. 209–227.

231. Thamatrakoln K. Analysis of *Thalassiosira pseudonana* silicon transporters indicates distinct regulatory levels and transport activity through the cell cycle / K. Thamatrakoln, M. Hildebrand // Eukaryotic Cell. – 2007. – V. 6, no. 2. – P. 271–279.
232. Thingstad T. F. Phosphorus cycling and algal-bacterial competition in Sandsfjord, western Norway / T. F. Thingstad, E. F. Skjoldal, R. A. Bohne // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 1993. – V. 99. – P. 239–259.
233. Thompson A. S. Culture collection of algae and protozoa, catalogue of strains / A. S. Thompson, J. C. Rhodes, I. Pettman. – 5th ed, 1988. – p. 164.
234. Urbach E. Unusual bacterioplankton community structure in ultra-oligotrophic Crater Lake / E. Urbach, K. L. Vergin, L. Young, A. Morse, G. L. Larson, S. J. Giovannoni // Limnol Oceanogr. – 2001. – V. 46, no. 3. – P. 557–572.
235. Urbach E. Bacterioplankton communities of Crater Lake, OR: dynamic changes with euphotic zone food web structure and stable deep water populations / E. Urbach, K. L. Vergin, G. L. Larson, S. J. Giovannoni // Hydrobiologia. – 2007. – V. 574. – P. 161–177.
236. Waller R. F. Nuclear-encoded proteins target to the plastid in *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium falciparum* / R. F. Waller, P. J. Keeling, R. G. K. Donald, B. Striepen, E. Handman, N. Lang-Unnasch, A. F. Cowman, G. S. Besra, D. S. Roos, G. I. McFadden // Proc Natl Acad Sci USA. – 1998. – V. 95. – P. 12352–12357.
237. Wang H. A study on lipid production of the mixotrophic microalgae *Phaeodactylum tricornutum* on various carbon sources / H. Wang, R. Fu, G. Pei // Afr J Microbiol Res. – 2012. – V. 6. – P. 1041–1047.
238. Warnecke F. Abundances, identity, and growth state of actinobacteria in mountain lakes of different UV transparency / F. Warnecke, R. Sommaruga, R. Sekar, J. S. Hofer, J. Pernthaler // Appl Environ microb. – 2005. – V. 71, no. 9. – P. 5551–5559.

239. Weiss R. F. Deep-water renewal and biological production in Lake Baikal / R. F. Weiss, E. C. Carmack, V. M. Koropalov // *Nature*. – 1991. – V. 349. – P. 665–669.
240. Wetzel R.G. *Limnological analyses* / R. G. Wetzel, G. E. Likens. – New York: Springer-Verlag, 1991. – 391 p.
241. Wetzel R. G. Composition and biomass of phytoplankton. In: *Limnological analyses* / R. G. Wetzel, G. E. Likens // Springer Verlag, New York. – 2000. – P. 147–174.
242. Wetsel R. G. *Limnology: Lake and River Ecosystems* / R. G. Wetsel – London: Academic Press, 2001. – p. 1006.
243. Wichard T. Lipid and fatty acid composition of diatoms revisited: rapid wound activated change of food quality parameters influences herbivorous copepod reproductive success / T. Wichard, A. Gerech, M. Boersma, S. A. Poulet, K. Wiltshire, G. Pohnert // *Chembiochem*. – 2007. – V. 8. – P. 1146–1153.
244. Wilhelm S. W. Viruses and nutrient cycles in the sea / S. W. Wilhelm, C. A. Suttle // *Bioscience*. – 1999. – V. 49, no. 10. – P. 781–788.
245. Williams T. J. The role of planktonic *Flavobacteria* in processing algal organic matter in coastal East Antarctica revealed using metagenomics and metaproteomics / T. J. Williams, D. Wilkins, E. Long, F. Evans, M. Z. DeMaere, M. J. Raftery, R. Cavicchioli // *Environ Microbiol*. – 2013. – V. 15, no. 5. – P. 1302–1317.
246. Yoon J. Description of *Persicirhabdus sediminis* gen. nov., sp. nov., *Roseibacillus ishigakijimensis* gen. nov., sp. nov., *Roseibacillus ponti* sp. nov., *Roseibacillus persicicus* sp. nov., *Luteolibacter pohnpeiensis* gen. nov., sp. nov. and *Luteolibacter algae* sp. nov., six marine members of the phylum ‘*Verrucomicrobia*’, and emended descriptions of the class *Verrucomicrobiae*, the order *Verrucomicrobiales* and the family *Verrucomicrobiaceae* / J. Yoon, Y. Matsuo, K. Adachi, M. Nozawa, S. Matsuda, H. Kasai, A. Yokota // *Int J Syst Evol Micr*. – 2008. – V. 58. – P. 998–1007.

247. Yu E. T. Triacylglycerol accumulation and profiling in the model diatoms *Thalassiosira pseudonana* and *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) during starvation / E. T. Yu, F. J. Zendejas, P. D. Lane, S. Gaucher, B. A. Simmons, T. W. Lane // J Appl Phycol. – 2009. – V. 21. – P. 669–681.
248. Zakharova Y. R. The structure of microbial community and degradation of diatoms in the deep near-bottom layer of Lake Baikal / Y. R. Zakharova, Y. P. Galachyants, M. I. Kurilkina, A. V. Likhoshvay, D. P. Petrova, S. M. Shishlyannikov, N. V. Ravin, A. V. Mardanov, A. V. Beletsky, Y. V. Likhoshvay // PLoS ONE. – 2013. – V. 8, no. 4. e59977. doi:10.1371/journal.pone.0059977.
249. Zeder M. A small population of planktonic *Flavobacteria* with disproportionately high growth during the spring phytoplankton bloom in a prealpine lake / M. Zeder, S. Peter, T. Shabarova, J. Pernthaler // Environ Microbiol. – 2009. – V. 11, no. 10. – P. 2676–2686.

ПРИЛОЖЕНИЯ

1. Температура, рН, концентрации кислорода и биогенных элементов на глубинах 0 м и 25 м озера Байкал в конце мая – начале июня 2011-2013 гг. 138
2. Численность культивируемых органотрофных бактерий в эпилимнионе озера Байкал в весенне-летний период 2011-2013 гг. 142
3. Видовой состав и численность фитопланктона, численность бактерий, ассоциированных с фитопланктоном, и ОЧБ в верхнем слое воды (0 м) озера Байкал в июне 2011 г. по данным эпифлуоресцентной микроскопии. 146
4. Видовой состав и численность фитопланктона, численность бактерий, ассоциированных с фитопланктоном, в верхнем слое воды (0 м) и на глубине 0-25 м озера Байкал в июне 2012 г. по данным эпифлуоресцентной микроскопии. 150

Приложение 1

Температура, рН, концентрации кислорода и биогенных элементов на глубинах 0 м и 25 м озера Байкал в конце мая – начале июня 2011-2013 гг. Цифрами через «;» указаны параметры на глубинах 0 м и 25 м.

Станции	2011						2012						2013					
	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л
Ю12К	2,4	7,66; 7,71	12,98; 13,07	0,66; 0,66	0,023; 0,027	0,31; 0,31	2,76	7,99; 8,04	13,06; 13,14	0,51; 0,49	0,023; 0,020	0,26; 0,26	2,54	7,88; 7,98	12,74; 12,80	0,60; 0,60	0,021; 0,023	0,29; 0,29
Ю3М	2,7	7,93; 7,99	12,84; 12,60	0,65; 0,64	0,023; 0,023	0,32; 0,32	3,12	8,05; 8,04	12,80; 12,85	0,45; 0,49	0,026; 0,023	0,27; 0,29	2,51	7,89; 7,91	12,88; 12,92	0,62; 0,62	0,021; 0,021	0,26; 0,26
ЮМС	2,72	8,12; 8,1	12,89; 12,94	0,60; 0,64	0,023; 0,021	0,31; 0,32	2,87	8,09; 8,00	13,01; 13,11	0,41; 0,45	0,017; 0,020	0,23; 0,27	2,27	7,94; 7,99	13,01; 13,14	0,51; 0,51	0,020; 0,019	0,22; 0,22
ЮЗС	3,68	8,11; 8,07	13,10; 13,01	0,63; 0,64	0,021; 0,021	0,31; 0,32	2,78	8,11; 8,05	13,01; 13,18	0,51; 0,51	0,020; 0,019	0,25; 0,25	2,14	7,88; 8,01	13,17; 13,34	0,50; 0,50	0,023; 0,023	0,24; 0,23
ЮТС	2,2	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	3,36	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	2,01	8,02; 8,02	13,08; 13,09	н.д.	н.д.	н.д.
ЮЗЛ	3,52	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	3,47	7,88; н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	2,75	8,03; 7,94	12,72; 12,73	н.д.	н.д.	н.д.
ЮЛТ	3,12	8,14; 8,07	12,84; 12,81	0,59; 0,58	0,026; 0,026	0,30; 0,30	3,56	7,93; 7,82	11,89; 11,86	0,54; 0,64	0,029; 0,028	0,28; 0,38	2,51	7,97; 7,94	12,94; 13,05	0,61; 0,59	0,019; 0,021	0,23; 0,24
ЮЗТ	4	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	3,56	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	2,27	7,97; 8,05	13,04; 13,17	н.д.	н.д.	0,25; 0,24
ЮКМ	2,71	8,01; 7,97	12,77; 12,74	0,49; 0,48	0,024; 0,024	0,32; 0,29	3,51	7,9; 7,9	11,97; 12,00	0,58; 0,56	0,026; 0,028	0,35; 0,39	2,46	8,00; 8,00	12,81; 12,78	0,61; 0,58	0,022; 0,023	0,25; 0,24

Продолжение приложения 1

Станции	2011						2012						2013					
	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л
СрКХ	2,8	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	3,55	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	2,47	8,01; 8,02	12,88; 12,95	н.д.	0,020; н.д.	0,22; 0,22
СрАС	3,31	8,01; 7,95	12,25; 12,33	0,56; 0,56	0,026; 0,025	0,31; 0,26	3,63	7,94; 7,94	12,11; 12,09	0,57; 0,57	0,030; 0,027	0,34; 0,33	3,14	8,00; 8,02	12,65; 12,68	0,50; 0,50	0,017; 0,017	0,30; 0,27
СрЗУ	2,42	8,27; 8,13	13,10; 13,08	0,44; 0,44	0,023; 0,022	0,30; 0,29	2,65	8,09; 8,07	12,80; 12,84	0,54; 0,50	0,025; 0,025	0,28; 0,27	2,38	7,67; 7,65	12,67; 12,87	0,61; 0,61	0,025; 0,026	0,28; 0,29
СрУТ	2,62	8,17; 8,14	12,89; 12,91	0,46; 0,46	0,023; 0,023	0,31; 0,31	3,03	8,00; 8,00	12,80; 12,78	0,44; 0,45	0,021; 0,023	0,26; 0,28	2,27	7,92; 7,91	12,82; 12,91	0,55; 0,54	0,026; 0,026	0,27; 0,26
СрЗТ	3,28	8,2; 8,23	13,25; 13,23	0,47; 0,50	0,019; 0,023	0,27; 0,27	5,42	7,97; 7,99	11,87; 12,03	0,70; 0,68	0,030; 0,031	0,28; 0,32	2,3	7,89; 7,94	12,84; 12,85	0,54; 0,54	0,021; 0,022	0,31; 0,33
СрХК	2,11	8,12; 8,24	13,20; 13,15	0,44; 0,46	0,010; 0,014	0,29; 0,27	3,13	7,97; 7,99	12,66; 12,63	0,46; 0,45	0,022; 0,024	0,26; 0,28	1,83	8,03; 8,04	12,87; 13,02	0,59; 0,59	0,023; 0,023	0,28; 0,27
СрМв	3,5	8,17; 8,22	13,30; 13,16	0,56; 0,55	0,017; 0,017	0,30; 0,31	2,69	8,07; 8,06	12,96; 12,97	0,58; 0,69	0,023; 0,024	0,29; 0,30	2,35	7,96; 8,02	12,91; 12,97	0,41; 0,50	0,025; 0,019	0,27; н.д.
СрАх	3,2	8,23; 8,19	13,12; 13,16	0,60; 0,53	0,023; 0,019	0,30; 0,30	3,26	8,05; 8,05	11,91; 12,44	0,62; 0,63	0,027; 0,026	0,34; 0,32	1,86	8,04; 8,11	12,88; 12,92	0,63; 0,60	0,023; 0,023	0,28; 028

Продолжение приложения 1

Станции	2011						2012						2013					
	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л
СЗС	2,17	8,11; 8,13	12,93; 12,81	0,85; 0,82	0,021; 0,021	0,35; 0,35	2,77	8,16; 8,10	13,41; 13,41	0,49; 0,45	0,017; 0,017	0,24; 0,25	1,33	7,97; 8,03	13,19; 13,23	0,77; 0,77	0,026; 0,022	0,26; 0,28
СЗЕ	1,78	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	2,59	8,19; 8,16	13,39; 13,32	0,51; 0,48	0,017; 0,017	0,23; 0,23	1,99	7,99; 7,94	12,96; 13,02	0,83; 0,83	0,028; 0,028	0,29; 0,26
СЕД	1,94	8,01; 8,05	12,96; 12,91	0,80; 0,81	0,024; 0,024	0,36; 0,35	2,42	8,16; 8,15	13,49; 13,14	0,64; 0,64	0,018; 0,017	0,27; 0,24	1,66	7,96; 7,98	13,03; 13,19	0,81; 0,80	0,028; 0,030	0,27; 0,28
СЗД	1,8	8,18; 8,21	13,18; 13,18	0,72; 0,73	0,020; 0,020	н.д. ; 0,32	5,15	8,13; 7,89	12,59; 12,19	0,73; 0,79	0,021; 0,025	0,23; 0,31	1,52	8,07; 8,10	13,33; 13,30	0,68; 0,68	0,020; 0,020	0,22; 0,22
СКА	1,95	7,95; 8,01	12,94; 12,94	0,88; 0,87	0,025; 0,025	0,36; 0,34	3,17	7,92; 7,91	12,54; 12,65	0,75; 0,77	0,025; 0,025	0,30; 0,29	1,29	7,98; 8,01	13,39; 13,47	0,88; 0,88	0,016; 0,016	0,21; 0,22
СЗБ	3,11	7,91; 7,89	12,93; 12,97	0,93; 0,93	0,021; 0,023	0,37; 0,36	3,31	8,04; 8,04	12,79; 12,84	0,69; 0,68	0,021; 0,021	0,27; 0,23	1,55	7,88; 7,94	12,65; 12,74	0,88; 0,88	0,016; 0,020	0,30; 0,28
СБТ	2,02	8,02; 8,00	12,93; 12,79	0,92; 0,93	0,028; 0,026	0,26; 0,27	3,23	7,91; 8,03	12,85; 12,86	0,68; 0,69	0,019; 0,021	0,28; 0,26	1,82	8,03; 8,07	13,22; 13,37	0,86; 0,86	0,021; 0,024	0,24; 0,25
СЗТ	2	8,13; 8,08	12,98; 12,98	0,90; 0,89	0,025; 0,025	0,35; 0,33	4,73	7,95; 7,93	11,94; 11,90	0,84; 0,82	0,026; 0,026	0,33; 0,35	1,67	7,90; 7,94	13,03; 12,93	0,86; 0,86	0,024; 0,025	0,25; 0,28

Продолжение приложения 1

Станции	2011						2012						2013					
	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л	T, °C	pH	O ₂ , мг/л	Si, мг/л	PO ₄ ³⁻ , мг/л	NO ₃ ⁻ , мг/л
СТН	2,06	7,95; 7,98	13,18; 13,19	0,95; 0,96	0,021; 0,021	0,32; 0,34	3,87	7,82; 7,86	11,96; 11,97	0,82; 0,82	0,027; 0,028	0,35; 0,34	2,09	7,97; 7,99	13,19; 13,24	0,94; 0,94	0,024; 0,026	0,28; 0,27
С7Н	2,35	8,13; 8,13	13,02; 13,10	0,97; 0,96	0,026; 0,022	0,31; 0,31	4,55	7,88; 7,86	11,91; 11,58	1,00; 0,96	0,028; 0,026	0,34; 0,34	2,00	7,83; 7,93	13,14; 13,28	0,79; 0,79	0,026; 0,023	0,26; 0,26
Бз	3,3	8,27; 8,18	13,20; 13,27	0,53; 0,51	0,023; 0,014	0,27; 0,28	3,44	8,00; 8,04	12,45; 12,53	0,59; 0,59	0,019; 0,017	0,26; 0,28	1,78	7,87; 7,96	13,17; 13,02	0,54; 0,53	0,028; 0,024	0,24; 0,25
Чз	6,6	8,24; 8,32	12,84; 13,21	0,49; 0,48	0,014; 0,007	0,05; 0,05	8,3	8,33; 8,4	11,83; 11,88	0,38; 0,40	0,013; 0,013	0,01; 0,01	4,53	8,05; 8,15	13,04; 12,99	0,63; 0,63	0,012; 0,016	0,00; 0,01
Мп	3,08	8,37; 8,42	13,61; 13,64	0,52; 0,66	0,013; 0,015	0,24; 0,23	3,06	8,18; 8,15	13,17; 13,27	0,55; 0,54	0,021; 0,022	0,27; 0,27	2,4	7,93; 8,05	13,00; 13,18	0,63; 0,63	0,024; 0,024	0,24; 0,23

Приложение 2

Численность культивируемых органотрофных бактерий в эпилимнионе
озера Байкал в весенне-летний период 2011-2013 гг.

Котловины Байкала	Станции	Глубина отбора проб, м	Количество КОЕ/мл					
			2011 г.		2012 г.		2013 г.	
			РПА/10	ДА	РПА/10	ДА	РПА/10	ДА
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Южная	Ю12К	0	25	193	12	0	40	25
		5	3	192	70	12	6	14
		10	10	94	63	18	2	3
		15	н.о.	н.о.	46	17	14	3
		20	н.о.	н.о.	85	38	10	2
		25	52	194	139	47	19	60
	Ю3М	0	22	70	32	20	20	28
		5	5	2	9	6	4	5
		10	40	35	1	2	4	5
		15	н.о.	н.о.	8	3	2	3
		20	н.о.	н.о.	4	6	6	23
		25	15	8	6	5	2	13
	ЮМС	0	1	20	27	1	32	21
		5	4	4	42	7	5	25
		10	38	34	44	6	4	50
		15	н.о.	н.о.	15	4	6	12
		20	н.о.	н.о.	37	3	22	24
		25	11	26	47	10	3	9
	Ю3С	0	2	35	41	12	50	12
		5	2	1	25	3	12	5
		10	5	8	42	2	6	3
		15	н.о.	н.о.	48	3	13	10
		20	н.о.	н.о.	18	7	50	16
		25	11	7	50	13	20	14
	ЮТС	0	240	153	98	9	43	30
		5	6	6	11	1	1	2
		10	3	7	7	5	0	0
		15	н.о.	н.о.	0	4	0	1
		20	н.о.	н.о.	6	4	5	2
		25	11	3	9	4	0	3
	ЮЗЛ	0	225	260	132	30	45	44
		5	54	105	16	3	4	6
		10	40	54	5	0	4	1
		15	н.о.	н.о.	9	3	1	1
		20	н.о.	н.о.	13	4	5	11
		25	80	49	9	2	9	6
	ЮЛТ	0	166	153	230	46	36	71
		5	3	1	20	6	0	1
		10	10	178	49	4	10	2
		15	н.о.	н.о.	54	8	2	2
		20	н.о.	н.о.	19	3	2	3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Южная	ЮЛТ	25	4	7	23	7	3	2
	ЮЗТ	0	278	364	173	30	25	18
		5	107	138	7	2	8	7
		10	101	110	0	0	6	2
		15	н.о.	н.о.	5	3	3	1
		20	н.о.	н.о.	9	0	6	3
		25	52	62	6	0	11	7
	ЮКМ	0	482	300	361	378	30	14
		5	312	5	20	4	5	0
		10	7	13	15	4	3	0
		15	н.о.	н.о.	18	3	2	1
		20	н.о.	н.о.	5	13	15	2
		25	6	10	13	4	16	3
	Средняя	СрКХ	0	40	372	267	85	60
5			56	360	20	5	19	7
10			6	416	8	8	30	14
15			н.о.	н.о.	15	2	96	77
20			н.о.	н.о.	66	31	16	11
25			10	344	4	2	37	16
СрАС		0	100	252	146	110	98	41
		5	1	300	38	13	2	1
		10	1	345	10	13	10	0
		15	н.о.	н.о.	13	2	20	15
		20	н.о.	н.о.	315	22	1	0
		25	15	346	18	12	122	6
СрЗУ		0	32	145	19	3	91	100
		5	15	25	13	4	0	1
		10	2	5	86	45	5	4
		15	н.о.	н.о.	50	6	11	15
		20	н.о.	н.о.	45	11	15	6
		25	5	15	24	8	3	3
СрУТ		0	11	148	353	108	94	73
		5	9	8	27	12	13	2
		10	21	13	76	7	27	15
		15	н.о.	н.о.	205	17	35	27
		20	н.о.	н.о.	38	8	23	2
		25	9	19	24	2	8	1
СрЗТ		0	26	156	520	51	63	47
		5	11	5	255	3	1	0
		10	38	26	97	7	5	8
		15	н.о.	н.о.	197	7	41	39
		20	н.о.	н.о.	46	18	45	40
		25	3	4	160	2	27	18
СрХК	0	81	66	287	75	96	70	
	5	41	28	29	10	6	28	
	10	73	46	155	28	50	33	
	15	н.о.	н.о.	171	56	41	42	
	20	н.о.	н.о.	64	11	136	61	
	25	32	14	51	23	53	54	

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	СрМв	0	89	383	407	313	112	125
		5	3	1	392	250	77	71
		10	6	345	142	53	93	80
		15	н.о.	н.о.	69	57	41	33
		20	н.о.	н.о.	63	21	386	416
		25	246	280	367	512	854	800
	СрАх	0	127	344	233	290	45	24
		5	н.о.	122	1250	585	1	4
		10	103	81	222	304	12	4
		15	н.о.	н.о.	217	180	13	6
		20	н.о.	н.о.	395	350	20	2
		25	84	70	310	214	33	47
Северная	СЗС	0	н.о.	265	342	112	135	120
		5	н.о.	34	85	51	34	33
		10	н.о.	103	890	34	45	56
		15	н.о.	н.о.	103	20	75	111
		20	н.о.	н.о.	61	22	45	38
		25	н.о.	37	75	28	325	287
	СЗЕ	0	51	42	190	118	528	166
		5	н.о.	17	546	154	60	57
		10	н.о.	179	41	43	46	43
		15	н.о.	н.о.	162	667	103	100
		20	н.о.	н.о.	233	73	88	82
		25	н.о.	20	37	14	440	512
	СЕД	0	402	131	328	237	116	255
		5	н.о.	112	63	42	222	410
		10	18	182	46	20	5	7
		15	н.о.	н.о.	207	170	16	11
		20	н.о.	н.о.	97	51	635	60
		25	37	105	56	20	415	268
	СЗД	0	127	15	282	422	97	68
		5	н.о.	40	84	37	110	95
		10	н.о.	25	320	330	35	27
		15	н.о.	н.о.	63	47	76	60
		20	н.о.	н.о.	66	38	80	53
		25	н.о.	30	146	126	727	428
	СКА	0	29	36	496	389	55	56
		5	н.о.	41	512	416	27	36
		10	н.о.	32	169	56	55	63
		15	н.о.	н.о.	1520	3200	31	30
		20	н.о.	н.о.	1270	1900	50	51
		25	н.о.	58	1200	2200	745	700
СЗБ	0	204	235	120	73	54	24	
	5	172	225	138	221	38	11	
	10	н.о.	23	86	1254	83	54	
	15	н.о.	н.о.	268	58	175	60	
	20	н.о.	н.о.	2012	98	174	160	
	25	н.о.	21	356	100	116	51	

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Северная	СБТ	0	78	116	250	43	106	93
		5	102	92	452	12	30	23
		10	17	18	1812	23	15	14
		15	н.о.	н.о.	231	4	90	100
		20	н.о.	н.о.	111	7	168	65
		25	8	48	63	15	560	400
	СЗТ	0	120	120	338	140	113	110
		5	58	67	78	18	15	7
		10	68	62	1220	25	69	33
		15	н.о.	н.о.	68	60	31	15
		20	н.о.	н.о.	64	30	77	83
		25	42	33	96	35	126	87
	СТН	0	107	288	2	47	75	94
		5	н.о.	46	69	136	4	7
		10	17	45	2800	1758	180	80
		15	н.о.	н.о.	77	141	166	120
		20	н.о.	н.о.	18	41	1200	1212
		25	8	40	78	300	50	31
	С7Н	0	38	129	186	35	128	100
		5	н.о.	118	261	37	41	22
		10	156	35	700	270	55	35
		15	н.о.	н.о.	321	277	75	50
		20	н.о.	н.о.	295	41	105	41
		25	35	32	442	350	238	165
Заливы, пролив	Бз	0	53	34	342	107	118	48
		5	74	61	35	18	0	4
		10	48	53	454	83	18	9
		15	н.о.	н.о.	130	72	51	42
		20	н.о.	н.о.	30	13	11	14
		25	54	102	98	20	80	126
	Чз	0	62	137	465	280	82	68
		5	19	4	365	193	24	36
	Мп	0	208	244	449	386	350	305
		5	138	126	504	51	95	48
		10	89	179	2042	228	130	155
		15	н.о.	н.о.	94	80	155	138
		20	н.о.	н.о.	2000	2320	68	122
		25	61	157	215	175	510	345

Примечание: н.о. – не определены.

Приложение 3

Видовой состав и численность фитопланктона, численность бактерий, ассоциированных с фитопланктоном, и ОЧБ в верхнем слое воды (0 м) озера Байкал в июне 2011 г. по данным эпифлуоресцентной микроскопии.

Котловины Байкала	Станции	Виды фитопланктона	Численность фитопланктона, кл./мл	Численность бактерий, ассоциированных с клетками фитопланктона, $\times 10^2$ кл./мл	ОЧБ, $\times 10^6$ кл./мл
1	2	3	4	5	6
Южная	Ю12К	<i>N. graciliformis</i>	14	0,64	0,7
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	2	-	
		<i>K. longiseta</i>	48	1,56	
		<i>M. grifiti</i>	20	0,34	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	62	0,24	
		<i>G. baicalense</i>	2	-	
	Ю3М	<i>N. graciliformis</i>	40	1,30	1,0
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	6	0,32	
		<i>E. genevensis</i>	8	0,16	
		<i>M. arcuatum</i>	266	6,88	
		<i>K. longiseta</i>	72	2,86	
		<i>M. grifiti</i>	86	1,42	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	154	2,24	
		<i>G. baicalense</i>	8	0,02	
	ЮМС	<i>N. graciliformis</i>	34	0,38	0,6
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	8	0,18	
		<i>K. longiseta</i>	6	0,20	
		<i>M. arcuatum</i>	157	1,34	
		<i>M. grifiti</i>	32	0,20	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	70	-	
		<i>G. baicalense</i>	2	-	
	Ю3С	<i>N. graciliformis</i>	6	-	0,8
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	10	0,26	
		<i>M. arcuatum</i>	120	0,56	
		<i>M. contortum</i>	10	-	
		<i>M. grifiti</i>	8	0,08	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	62	0,20	
	ЮТС	<i>A. baicalensis</i>	14	0,20	0,7
<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>		124	1,76		
<i>M. arcuatum</i>		44	0,56		
<i>M. grifiti</i>		4	-		
<i>Chryptomonas</i> sp.		16	0,04		
Ю3Л	<i>A. islandica</i>	2	0,16	1,2	
	<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	178	11,56		
	<i>M. arcuatum</i>	14	0,46		
	<i>M. grifiti</i>	18	0,46		
	<i>Chryptomonas</i> sp.	24	0,92		

1	2	3	4	5	6	
Южная	ЮЛТ	<i>A. islandica</i>	4	-	0,8	
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	350	9,38		
		<i>M. arcuatum</i>	34	0,68		
		<i>M. contortum</i>	14	0,50		
		<i>M. grifiti</i>	8	0,16		
		<i>Chryptomonas</i> sp.	154	0,46		
	ЮЗТ	<i>A. baicalensis</i>	4	-	1,0	
		<i>A. islandica</i>	26	-		
		<i>N. graciliformis</i>	2	-		
		<i>S. meyeri</i>	16	-		
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	340	23,02		
		<i>Chryptomonas</i> sp.	36	0,74		
	ЮКМ	<i>A. baicalensis</i>	4	0,10	0,8	
		<i>A. islandica</i>	32	0,68		
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	380	28,38		
		<i>M. grifiti</i>	18	0,64		
		<i>Chryptomonas</i> sp.	56	0,82		
		<i>D. cylindricum</i>	2	-		
	Средняя	СрКХ	<i>A. baicalensis</i>	34	0,78	0,5
			<i>A. islandica</i>	144	1,84	
			<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	92	2,12	
<i>M. grifiti</i>			6	-		
<i>Chryptomonas</i> sp.			4	-		
<i>D. cylindricum</i>			16	0,50		
СрАС		<i>A. islandica</i>	30	-	0,6	
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	120	3,24		
		<i>M. grifiti</i>	12	0,12		
		<i>Chryptomonas</i> sp.	4	-		
СрЗУ		<i>A. islandica</i>	10	-	0,7	
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	140	2,88		
		<i>M. grifiti</i>	12	0,16		
		<i>Chryptomonas</i> sp.	40	0,08		
		<i>D. cylindricum</i>	10	0,12		
СрУТ		<i>A. islandica</i>	2	-	0,8	
		<i>S. meyeri</i>	10	-		
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	255	7,70		
		<i>M. contortum</i>	40	0,50		
		<i>Chryptomonas</i> sp.	6	0,01		
		<i>G. baicalense</i>	10	5		
СрЗТ	<i>A. islandica</i>	18	0,14	0,7		
	<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	222	15,68			
	<i>K. longiseta</i>	14	0,32			
	<i>M. grifiti</i>	68	1,32			
	<i>Chryptomonas</i> sp.	74	0,30			
	<i>G. baicalense</i>	4	0,1			
СрХК	<i>A. islandica</i>	152	-	1,0		
	<i>S. meyeri</i>	346	1,12			

1	2	3	4	5	6
Средняя	СрХК	<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	26	1,28	0,8
		<i>M. grifiti</i>	2	-	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	6	-	
		<i>D. cylindricum</i>	14	0,32	
	СрАх	<i>A. baicalensis</i>	100	2,04	
		<i>A. islandica</i>	190	1,76	
		<i>S. meyeri</i>	24	-	
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	338	14,10	
		<i>M. arcuatum</i>	8	0,08	
		<i>M. grifiti</i>	6	-	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	2	-	
		<i>D. cylindricum</i>	156	3,70	
		Северная	СЗС	<i>N. graciliformis</i>	
<i>M. arcuatum</i>	10			0,08	
<i>M. grifiti</i>	16			0,22	
<i>Chryptomonas</i> sp.	34			0,50	
СЗЕ	<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>		2	0,12	0,7
	<i>M. grifiti</i>		6	0,36	
	<i>Chryptomonas</i> sp.		32	0,84	
СЕД	<i>M. grifiti</i>		4	-	0,6
	<i>Chryptomonas</i> sp.		60	0,78	
СЗД	<i>A. baicalensis</i>		12	-	0,7
	<i>M. grifiti</i>		4	-	
	<i>Chryptomonas</i> sp.		52	0,46	
	<i>D. cylindricum</i>		22	-	
	<i>G. baicalense</i>		4	-	
СКА	<i>E. genevensis</i>		6	-	0,9
	<i>M. arcuatum</i>		2	0,04	
	<i>M. grifiti</i>		6	-	
	<i>Chryptomonas</i> sp.		44	0,48	
	<i>G. baicalense</i>		4	-	
СЗБ	<i>E. genevensis</i>		12	-	1,1
	<i>M. arcuatum</i>		6	-	
	<i>M. contortum</i>		18	0,54	
	<i>M. grifiti</i>		24	0,60	
	<i>Chryptomonas</i> sp.		34	1,10	
	<i>G. baicalense</i>		20	0,42	
СБТ	<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>		4	-	1,0
	<i>E. genevensis</i>		22	0,06	
	<i>M. grifiti</i>		20	0,76	
	<i>Chryptomonas</i> sp.	206	3,46		
	<i>G. baicalense</i>	30	0,94		
СЗТ	<i>E. genevensis</i>	12	-	0,9	
	<i>M. grifiti</i>	40	0,46		
	<i>Chryptomonas</i> sp.	52	0,88		
СТН	<i>N. graciliformis</i>	2	0,12	1,4	
	<i>M. grifiti</i>	22	0,58		
	<i>Chryptomonas</i> sp.	20	0,42		

1	2	3	4	5	6
Северная	С7Н	<i>E. genevensis</i>	2	0,06	1,1
		<i>M. grifiti</i>	6	-	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	2	0,12	
		<i>G. baicalense</i>	18	0,06	
Заливы, пролив	Бз	<i>A. islandica</i>	54	0,36	0,4
		<i>N. graciliformis</i>	4	0,14	
		<i>S. meyeri</i>	196	0,90	
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	193	10,30	
		<i>M. grifiti</i>	42	0,88	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	34	0,16	
		<i>D. cylindricum</i>	82	0,46	
	Чз	<i>N. graciliformis</i>	8	0,44	0,9
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	36	2,60	
		<i>M. arcuatum</i>	12	0,52	
		<i>M. grifiti</i>	4	0,12	
		<i>Chryptomonas</i> sp.	6480	45,08	
		<i>D. cylindricum</i>	24	3,76	
		<i>G. baicalense</i>	20	0,80	
	Мп	<i>A. islandica</i>	58	1,18	0,8
		<i>S. meyeri</i>	936	2,94	
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	42	2,20	
<i>M. arcuatum</i>		4	0,06		
<i>Chryptomonas</i> sp.		20	0,10		

Приложение 4

Видовой состав и численность фитопланктона, численность бактерий, ассоциированных с фитопланктоном, в верхнем слое воды (0 м) и на глубине 0-25 м озера Байкал в июне 2012 г. по данным эпифлуоресцентной микроскопии.

Котловины Байкала	Станции	Виды фитопланктона	Численность фитопланктона, кл./мл		Численность бактерий, ассоциированных с клетками фитопланктона, $\times 10^2$ кл./мл	
			0 м	0-25 м	0 м	0-25 м
1	2	3	4	5	6	7
Южная	Ю12К	<i>A. islandica</i>	-	16	-	-
		<i>N. graciliformis</i>	14	4	1,6	0,04
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	176	156	8,62	6,00
		<i>M. grifiti</i>	4	-	-	-
		<i>Chryptomonas</i> sp.	18	24	0,06	0,06
		<i>D. cylindricum</i>	154	42	7,34	2,94
	Ю3М	<i>N. graciliformis</i>	12	8	0,68	0,12
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	442	936	24,00	51,08
		<i>M. grifiti</i>	36	16	0,66	-
		<i>Chryptomonas</i> sp.	50	32	0,34	0,12
		<i>D. cylindricum</i>	74	60	5,92	3,28
	ЮМС	<i>N. graciliformis</i>	3	2	-	-
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	206	200	12,80	9,54
		<i>M. arcuatum</i>	2	-	0,01	-
		<i>M. grifiti</i>	2	2	0,06	0,06
		<i>Chryptomonas</i> sp.	24	6	0,36	-
	Ю3С	<i>N. graciliformis</i>	-	16	-	1,34
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	100	194	8,00	13,30
		<i>M. grifiti</i>	-	4	-	0,26
		<i>Chryptomonas</i> sp.	6	10	0,06	-
		<i>D. cylindricum</i>	130	508	3,32	16,34
	ЮТС	<i>N. graciliformis</i>	30	28	1,32	1,22
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	166	220	6,64	3,48
		<i>M. arcuatum</i>	10	20	0,12	-
		<i>Chryptomonas</i> sp.	12	24	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	10	12	0,24	0,72
	Ю3Л	<i>N. graciliformis</i>	2	2	-	0,06
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	146	152	8,4	3,52
		<i>M. grifiti</i>	2	8	0,1	0,06
		<i>Chryptomonas</i> sp.	2	6	0,06	-
		<i>D. cylindricum</i>	-	20	-	0,32
	ЮЛТ	<i>N. graciliformis</i>	-	4	-	0,06
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	72	186	2,84	8,90
		<i>M. arcuatum</i>	10	12	0,08	-

1	2	3	4	5	6	7
Южная	ЮЛТ	<i>M. grifiti</i>	-	8	-	0,02
		<i>Chryptomonas</i> sp.	16	12	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	6	8	0,14	0,30
	ЮЗТ	<i>A. baicalensis</i>	6	-	-	-
		<i>N. graciliformis</i>	96	28	2,54	1,02
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	194	82	6,04	2,22
		<i>M. arcuatum</i>	6	-	0,02	-
		<i>M. grifiti</i>	4	6	0,04	-
		<i>Chryptomonas</i> sp.	22	16	0,22	-
	ЮКМ	<i>D. cylindricum</i>	26	14	1,24	0,20
		<i>N. graciliformis</i>	12	-	0,18	-
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	-	46	-	1,00
		<i>M. arcuatum</i>	18	-	-	-
	Средняя	СрКХ	<i>M. grifiti</i>	4	6	-
<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>			60	88	2,40	3,82
<i>Chryptomonas</i> sp.			10	-	0,04	-
<i>D. cylindricum</i>			12	-	0,12	-
СрАС		<i>A. islandica</i>	4	-	0,08	-
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	36	20	1,18	2,26
		<i>K. longiseta</i>	6	12	-	0,16
		<i>M. grifiti</i>	10	18	-	0,08
		<i>Chryptomonas</i> sp.	10	2	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	22	6	0,82	0,46
СрЗУ		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	22	14	0,80	0,10
		<i>M. arcuatum</i>	2	-	0,02	-
		<i>Chryptomonas</i> sp.	4	2	-	-
СрУТ		<i>A. baicalensis</i>	4	12	0,40	-
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	62	42	2,98	0,26
		<i>M. grifiti</i>	4	6	-	-
		<i>Chryptomonas</i> sp.	6	-	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	34	-	1,90	-
СрЗТ		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	68	34	3,66	1,10
		<i>M. arcuatum</i>	-	2	-	0,12
	<i>Chryptomonas</i> sp.	12	-	-	-	
	<i>D. cylindricum</i>	-	10	-	0,50	
СрХК	<i>A. baicalensis</i>	16	-	0,16	-	
	<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	132	68	9,16	1,90	
	<i>M. grifiti</i>	4	10	-	0,06	
	<i>Chryptomonas</i> sp.	8	-	-	-	
	<i>D. cylindricum</i>	12	28	0,16	0,70	
СрАх	<i>A. baicalensis</i>	16	52	-	0,82	
	<i>A. islandica</i>	40	-	0,30	-	
	<i>N. graciliformis</i>	2	-	0,16	-	
	<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	22	12	1,80	0,64	
	<i>M. grifiti</i>	6	2	-	0,14	
	<i>Chryptomonas</i> sp.	72	-	-	-	
Северная	СЗС	<i>A. baicalensis</i>	28	56	1,04	2,56
		<i>A. islandica</i>	52	130	1,26	2,32

1	2	3	4	5	6	7
Северная	С3С	<i>N. graciliformis</i>	6	4	0,52	0,36
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	68	46	1,82	1,22
		<i>M. arcuatum</i>	12	10	0,34	1,06
		<i>M. grifiti</i>	6	-	0,04	-
		<i>Chryptomonas</i> sp.	4	8	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	-	4	-	0,10
	С3Е	<i>A. baicalensis</i>	120	52	8,80	0,80
		<i>A. islandica</i>	100	50	4,06	1,74
		<i>N. graciliformis</i>	12	6	0,92	0,32
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	100	96	6,60	3,68
		<i>M. arcuatum</i>	28	12	2,00	0,74
		<i>M. grifiti</i>	6	12	0,18	0,34
		<i>Chryptomonas</i> sp.	8	4	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	40	20	2,24	0,94
	СЕД	<i>A. baicalensis</i>	8	28	-	-
		<i>A. islandica</i>	30	14	1,00	-
		<i>N. graciliformis</i>	8	-	0,26	-
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	10	18	0,72	0,06
		<i>M. grifiti</i>	4	10	-	0,08
		<i>Chryptomonas</i> sp.	4	-	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	-	6	-	0,24
	С3Д	<i>A. islandica</i>	12	6	0,50	-
		<i>N. graciliformis</i>	4	-	0,24	-
		<i>S. meyeri</i>	248	100	0,10	0,30
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	14	4	0,72	0,18
		<i>M. arcuatum</i>	6	4	0,06	0,12
		<i>Chryptomonas</i> sp.	10	6	0,06	-
		<i>D. cylindricum</i>	-	8	-	0,28
	СКА	<i>A. baicalensis</i>	-	18	-	-
		<i>N. graciliformis</i>	12	24	0,70	0,46
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	-	8	-	1,26
		<i>M. arcuatum</i>	286	422	1,18	1,86
		<i>K. longiseta</i>	-	10	-	0,24
		<i>Chryptomonas</i> sp.	48	8	0,04	0,06
		<i>D. cylindricum</i>	17	8	0,37	0,10
	С3Б	<i>A. baicalensis</i>	54	56	0,16	1,26
		<i>N. graciliformis</i>	80	46	4,60	1,52
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	2	4	-	0,06
		<i>M. arcuatum</i>	524	320	4,00	2,1
		<i>M. grifiti</i>	22	26	-	0,24
<i>Chryptomonas</i> sp.		30	8	0,12	0,06	
СБТ	<i>A. baicalensis</i>	8	-	-	-	
	<i>N. graciliformis</i>	14	8	0,86	0,40	
	<i>M. arcuatum</i>	296	140	2,28	0,42	
	<i>M. grifiti</i>	12	-	0,12	-	
СТН	<i>Chryptomonas</i> sp.	10	-	-	-	
	<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	30	-	0,82	-	
		<i>M. arcuatum</i>	-	52	-	0,14

1	2	3	4	5	6	7
Северная	СТН	<i>M. grifiti</i>	8	2	-	-
		<i>Chrytomonas</i> sp.	14	-	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	20	-	0,40	-
		<i>G. baicalense</i>	6	-	-	-
	С7Н	<i>N. graciliformis</i>	16	32	0,34	0,70
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	-	4	-	-
		<i>M. arcuatum</i>	244	404	1,08	1,40
Заливы, пролив	Бз	<i>Chrytomonas</i> sp.	38	24	0,40	-
		<i>A. islandica</i>	8	8	0,46	0,12
		<i>S. meyeri</i>	184	16	0,64	0,04
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	100	10	5,10	0,46
	Чз	<i>G. baicalense</i>	2	-	-	-
		<i>A. formosa</i>	140	122	2,80	3,66
		<i>A. baicalensis</i>	38	12	1,02	0,08
		<i>A. islandica</i>	76	-	1,02	-
		<i>N. graciliformis</i>	68	30	3,14	1,64
		<i>S. meyeri</i>	86	8	0,42	-
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	60	56	5,16	4,88
		<i>M. grifiti</i>	6	4	0,34	0,06
		<i>Chrytomonas</i> sp.	8	4	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	30	14	0,48	0,72
	МП	<i>A. baicalensis</i>	134	44	1,34	0,10
		<i>A. islandica</i>	4	10	-	0,24
		<i>S. acus</i> subsp. <i>radians</i>	12	18	0,46	2,56
		<i>M. grifiti</i>	-	6	-	0,10
		<i>Chrytomonas</i> sp.	10	16	-	-
		<i>D. cylindricum</i>	-	6	-	0,70