

АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ И ФОСФАТАЗА-АКТИВНЫЕ БАКТЕРИИ В ВОДНОЙ ТОЛЩЕ ОЗ. БАЙКАЛ И ЕГО ОСНОВНЫХ ПРИТОКАХ

© 2024 г. М. Ю. Суслова^а, *, Г. В. Подлесная^а, И. В. Томберг^а, М. В. Сакирко^а, О. И. Белых^а

^аЛимнологический институт Сибирского отделения РАН, Иркутск, 664033, Россия

*e-mail: suslova@lin.irk.ru

Поступила в редакцию 16.10.2023 г.

После доработки 24.10.2023 г.

Принята к публикации 01.11.2023 г.

Фосфор — один из важнейших биогенных элементов, поступление которого способствует процессу эвтрофикации вод озера. Основная часть его запасов в водных экосистемах находится в органической форме. Способность водных микроорганизмов усваивать фосфор из фосфорорганических соединений обусловлена действием щелочных фосфатаз, активность которых дает возможность судить о состоянии экосистемы, нагрузке фосфатами и качестве воды. В настоящей работе исследованы активность щелочной фосфатазы (АЩФ) и численность фосфатаза-активных бактерий (ФАБ) в пелагиали озера Байкал и в приустьевых участках основных притоков. Выявлено, что в пелагической части значения АЩФ и численности ФАБ с глубиной снижаются, что говорит об основных процессах генерации фосфатов в трофическом слое озера. Показано, что в основных притоках озера значение АЩФ и численности ФАБ значительно выше, чем в пелагиали. Полученные данные свидетельствуют о том, что в приустьевых участках рек проходят активные биохимические процессы трансформации органических соединений фосфора. Процессы деградации обеспечивают регенерацию фосфатов, которые полностью вовлекаются в биологический круговорот, тем самым обеспечивая развитие фитопланктона.

Ключевые слова: озеро Байкал, фосфор, активность щелочной фосфатазы, фосфатаза-активные бактерии (ФАБ), фосфатаза продуцирующие бактерии

DOI: 10.31857/S0026365624020235

Круговорот фосфора имеет огромное значение для продуктивности водоемов. Фосфор в водоемах присутствует в виде неорганических и органических соединений. Основная часть запасов его в водной экосистеме находится в органической форме. В воде озера Байкал органический фосфор присутствует в небольших количествах, в среднем от 3.6 до 11 мкг/л (Eletskaia, Tomberg, 2020; Domysheva et al., 2023); в реках его концентрация выше: от 0.143 мг/л в Баргузине (Сорокикова и соавт., 2022) и, в среднем, от 16 до 80 мкг/л в Селенге (Сорокикова и соавт., 2018). Главным источником органического фосфора в водах Байкала является фито- и зоопланктон. Микроорганизмы высвобождают его из отмерших организмов, и он вновь включается в биологический круговорот. Микроорганизмы способны производить целый ряд видоизменений в состоянии отдельных форм фосфора. Микробиальные процессы имеют большое значение в круговороте фосфора, так как ни одна из реакций преобразования фосфатсодержащих веществ не идет самопроизвольно. Способность водных микроорганизмов усваивать фосфор

из фосфорорганических соединений обусловлена действием щелочных фосфатаз, которые катализируют гидролиз эфиров и ангидридов фосфорной кислоты (Хупер, 1977). АЩФ обнаружена как в фитопланктоне, так и в бактериопланктоне (Chrost, Overbeck, 1987; Martinez, Azam, 1993). АЩФ рассматривают как информативный показатель обеспеченности гидробионтов фосфором и минерализации органических веществ (Boavida, Heath, 1988). Так же АЩФ дает возможность судить о состоянии экосистемы, нагрузке фосфатами и качестве воды (Miettinen et al., 1997). Ранее в экосистеме Байкала исследования АЩФ проводили в районе дельты р. Селенги, где было показано, что начиная с июня, развитие фитопланктона обеспечивается регенерацией фосфатов, основная роль в которой принадлежит АЩФ (Максименко и соавт., 2008).

Цель исследования — определить значения активности щелочной фосфатазы и численность фосфатаза-активных бактерий в водах озера Байкал и его основных притоков.

Пробы воды для исследования отбирали в июне 2021–2023 гг. на центральных станциях южной

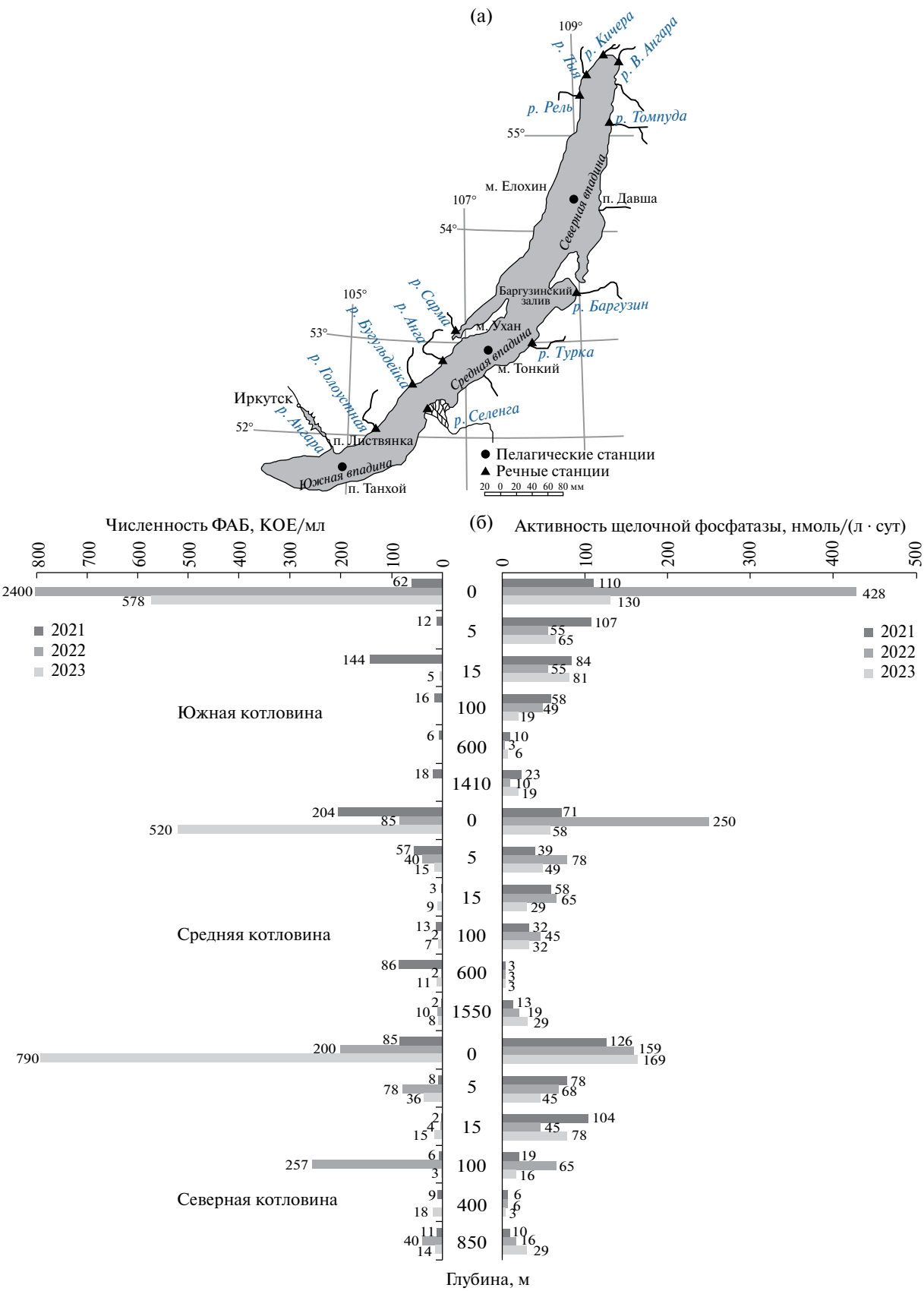


Рис. 1. Карта станций отбора проб (а); Численность ФАБ и АЩФ в водной толще южной, средней и северной котловин оз. Байкал в июне 2021–2023 гг. (б).

котловины оз. Байкал — Листвянка–Танхой (Л–Т), средней — Ухан–Тонкий (У–Т) и северной — Елохин–Давша (Е–Д) с глубин 0, 5, 15, 100, 400, 600 м, придонного слоя (1400, 1550 и 850 м) и в приустьевых участках рек Голоустная, Селенга, Бугульдейка, Анга, Сарма, Турка, Баргузин, Томпуда, Рель, Тья, Кичера и Верхняя Ангара (рис. 1а).

Активность щелочной фосфатазы определяли с помощью набора Щелочная фосфатаза–Витал В09.02 (АО “Витал Девелопмент Корпорэйшн”, Россия). Пробу в двух повторностях фильтровали через аналитическую трековую мембрану АТМ-0-0-0-25 с диаметром пор 0.2 мкм (ООО “РЕАТРЕК-Фильтр”, Россия). Затем один фильтр помещали в стерильный стеклянный сосуд (объемом 13–15 мл) с 1 мл раствора *п*-нитрофенилфосфата, второй хранили в морозильной камере при -18°C . В качестве контроля параллельно подготавливали стерильный стеклянный сосуд с этим же раствором. Стеклянные сосуды экспонировали в течение 1 сут в темноте при $20\text{--}22^{\circ}\text{C}$, после чего в контрольный помещали фильтр из морозильной камеры. Для остановки реакции добавляли по 10 мл NaOH (20 ммоль/л), оптическую плотность определяли при длине волны 405 нм в кювете 1 см напротив контроля на спектрофотометре ПЭТ 5400ВН. Показатель фосфатазной активности выражали в нмоль/(л сут), рассчитывая по калибровочной кривой.

Численность фосфатаза-активных бактерий определяли на рыбо-пептонном агаре, разбавленном в 10 раз (РПА:10). После прорастания колоний в чашку заливали 10 мл среды с фенолфталеинфосфатом натрия и оставляли на 2–3 ч, — под воздействием фосфатазы реактив расщепляется на свободный фенолфталеин и фосфор. Затем добавляли 0.5 мл раствора аммиака и проводили учет ярко-розовых колоний, т.к. аммиак с освобожденным фенолфталеином дает указанное окрашивание (Родина, 1965).

Исследования показали, что АЩФ в пелагиали озера в среднем составила 60 нмоль/(л сут), в приустьевых участках рек — 1021 нмоль/(л сут), численность ФАБ — 109 и 887 КОЕ/мл, соответственно.

В пелагиали АЩФ колебалась от 3 до 428 нмоль/(л·сут), численность ФАБ от 60 до 2400 КОЕ/мл. Максимальные значения АЩФ и ФАБ выявили в поверхностном слое, которые составляли в среднем 167 нмоль/(л·сут) и 545 КОЕ/мл; на глубинах 5 и 15 м значения составили в среднем 66 нмоль/(л·сут) и 24 КОЕ/мл, а на глубине 100 м — 34 нмоль/(л·сут) и 6 КОЕ/мл. Минимальные значения АЩФ выявлены на глубинах 400, 600 м и в придонных слоях — в среднем 12 нмоль/(л·сут), а численность ФАБ — 13 КОЕ/мл (рис. 1б). В трофическом слое водной толщи, где наблюдали высокие показатели АЩФ и низкую численность ФАБ, очевидно, фосфатаза-активные цианобактерии

и фитопланктон играют основополагающую роль в высвобождении фосфатов из органического фосфора (Belykh, Sorokovikova, 2003; Cabello-Yéves et al., 2022). Также, вероятно, высокие показатели АЩФ в поверхностном слое связаны с тем, что, в отличие от кислой и нейтральной фосфатаз, более чувствительных к интенсивности света, ее активность возрастает в поверхностном, более освещенном, слое воды. Для внеклеточных и кислых фосфатаз характерна обратная зависимость от освещения (Wynne, Bergstein Ben-Dan, 1995).

Высокие значения АЩФ в поверхностном слое наблюдали в 2022 г. в южной и средней котловинах — 428 и 250 нмоль/(л·сут), в то время, когда максимальные значения численности ФАБ детектировали только в южной котловине — 2400 КОЕ/мл (рис. 1б). В сравнении с полученным ранее данными за 2018 и 2019 годы (Suslova et al., 2020), численность ФАБ возросла от 200 и 700 КОЕ/мл до 2400 КОЕ/мл в 2022 г.

Значимую корреляцию между АЩФ и численностью ФАБ детектировали в поверхностных слоях ($r = 0.8$; $p \leq 0.05$).

В притоках значения АЩФ колебались от 182 (р. Голоустная, 2022 г.) до 2517 нмоль/(л·сут) (р. Селенга, 2022 г.), численность ФАБ от 60 (р. Сарма, 2022 г.) до 4800 КОЕ/мл (р. Рель, 2023 г.) (рис. 2).

Стабильно высокие значения наблюдали все три года на р. Кичера, где АЩФ составила 2212, 2374 и 2166 нмоль/(л·сут), соответственно, и стабильно низкие значения в р. Бугульдейка и р. Сарма — в среднем 408 нмоль/(л·сут) (рис. 2). Также выявили значимую корреляционную связь значений АЩФ с содержанием органического фосфора ($r = 0.8$; $p \leq 0.05$), концентрация которого в среднем составила 0.019 мкг/л, с минимальными значениями в р. Сарма (0.004–0.005 мкг/л) и максимальными в р. Баргузин (0.72 мкг/л).

Ранее полученные данные АЩФ в приустьевом участке р. Селенга в июне 2003 г. (Максименко

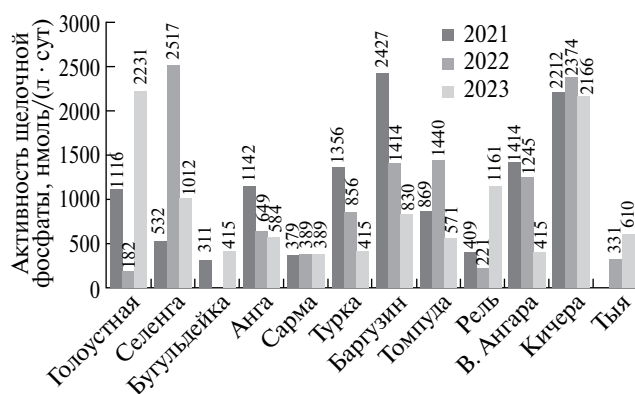


Рис. 2. АЩФ в приустьевых участках основных притоков оз. Байкал в июне 2021–2023 гг.

и соавт., 2008) были сопоставимы с нашими результатами в 2021 г. — 580 и 532 нмоль/(л·сут), соответственно, (рис. 2). Подобные исследования проведены в эстуариях рек Олн и Элорн во Франции, где АЩФ варьировала от 50 до 506 нмоль/(л·сут), несмотря на очень ограниченное содержание фосфора (Labry et al., 2016).

В пелагической части значения АЩФ с глубиной понижаются от 167 до 12 нмоль/(л·сут), численность ФАБ — от 545 до 6 КОЕ/мл, соответственно, что говорит об основных процессах генерации фосфатов в трофическом слое озера за счет АЩФ. В основных притоках озера значение АЩФ выше, чем в пелагиали на порядок, а численность ФАБ в 8 раз. Полученные данные свидетельствуют о том, что в приустьевых участках рек проходят активные биохимические процессы трансформации органических соединений фосфора, тем самым обеспечивая доступность фосфора биоте. Притоки озера Байкал играют доминирующую роль в приходной части гидрологического и химического баланса веществ в озере. Исходя из этого, можно утверждать, что в Байкале протекает процесс обогащения озерных вод соединениями фосфора за счет речного стока, что, вероятно, может быть одной из причин последующей эвтрофикации водоема.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках темы госзадания № 0279-2021-0005 (121032300224-8) и № 0279-2021-0015 (121032300269-9).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались люди или животные.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Максименко С.Ю., Парфенова В.В., Томберг И.В., Синюкович В.Н., Сороковикова Л.М., Поповская Г.И. Активность щелочной фосфатазы и динамика фосфора в дельте реки Селенга // Биология внутренних вод. 2007. № 4. С. 9–14
- Родина А.Г. Методы водной микробиологии. М.: Наука, 1968. 362 с.
- Сороковикова Л.М., Синюкович В.Н., Иванов В.Г., Елецкая Е.В., Моложникова Е.В., Башенхаева Н.В., Томберг И.В. Появление биогенных элементов с водами реки Баргузин и их роль в эвтрофировании Баргузинского залива (озеро Байкал) // Метеорология и гидрология. 2022. № 2. С. 75–86.
- Sorokovikova L.M., Sinyukovich V.N., Ivanov V.G., Eletskaia E.V., Molozhnikova E.V., Bashenkhaeva N.V., Tomberg I.V. Inflow of biogenic elements with the Barguzin River water and their role in eutrophication of the Barguzin Bay (Lake Baikal) // Russ. Meteorol. Hydrol. 2022. V. 47. P. 123–132.
- Сороковикова Л.М., Томберг И.В., Синюкович В.Н., Моложникова Е.В., Елецкая Е.В. Фосфор в воде р. Селенги и его вынос в оз. Байкал в условиях низкой водности // География и природные ресурсы. 2018. Т. 39. № 4. С. 88–94.
- Sorokovikova L.M., Tomberg I.V., Sinyukovich V.N., Molozhnikov E.V., Eletskaia E.V. Phosphorus in the Selenga River water and its input to Lake Baikal in conditions of low hydraulicity // Geogr. Nat. Resour. 2018. T. 39. P. 343–348.
- Хунер Ф. Происхождение и судьба органических соединений фосфора в водных системах // Фосфор в окружающей среде / Под ред. Федоровой М.М.: Мир, 1977. С. 204–231.
- Belykh O.I., Sorokovikova E.G. Autotrophic picoplankton in Lake Baikal: Abundance, dynamics, and distribution // Aquat. Ecosyst. Health. Manage. 2003. V. 6. P. 251–261.
- Boavida M., Heath R. Is alkaline phosphatase always important in phosphate regeneration? // Arch. Hydrobiol. 1988. V. 111. P. 507–518.
- Cabello-Yeves P.J., Callieri C., Picazo A., Schallenberg L., Huber P., Roda-Garcia J.J., Bartosiewicz M., Belykh O.I., Tikhonova I.V., Torcello-Requena A., De Prado P.M., Puxty R.J., Millard A.D., Camacho A., Rodriguez-Valera F., Scanlan D.J. Elucidating the picocyanobacteria salinity divide through ecogenomics of new freshwater isolates // BMC Biology. 2022. V. 20. P. 1–24.
- Chrost R.J., Overbeck J. Kinetics of alkaline phosphatase activity and phosphorus availability for phytoplankton and bacterioplankton in Lake Plubsee (North German eutrophic lake) // Microb. Ecol. 1987. V. 13. P. 229–248.
- Domysheva V., Vorobyeva S., Golobokova L., Netsvetaeva O., Onischuk N., Sakirko M., Khuriganova O., Fedotov A. Assessment of the current trophic status of the Southern Baikal littoral zone // Water. 2023. V. 15. Art. 1139.
- Eletskaia E.V., Tomberg I.V. The concentration of mineral and total phosphorus in the coastal water of southeast coast of Lake Baikal // Limnol. Freshwater Biol. 2020. № 4. P. 896–898.
- Labry C., Delmas D., Youenou A., Quere J., Leynaert A., Fraisse S., Raimonet M., Ragueneau O. High alkaline phosphatase activity in phosphate replete waters: the case of two macrotidal estuaries // Limnol. Oceanogr. 2016. V. 61. P. 1513–1529.
- Martinez J., Azam F. Periplasmic aminopeptidase and alkaline phosphatase activities in a marine bacterium: implications for substrate processing in the sea // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1993. V. 92. P. 89–97.

- Miettinen I.T., Vartiainen T., Martikainen P.J. Phosphorus and bacterial growth in drinking water // Appl. Environ. Microbiol. 1997. V. 63. P. 3242–3245.
- Suslova M.Yu., Sukhanova E.V., Shtykova Yu.R., Podlesnaya G.V., Galachyants A.D., Zimens E.A., Belykh O.I. Distribution and number of cultured bacteria of the phosphorus cycle in the ecosystem of Lake Baikal // Limnol. Freshwater Biol. 2020. № 4. P. 1037–1039.
- Wynne D., Bergstein Ben-Dan T. The effect of light and phosphate concentrations on phosphatase activities of the photosynthetic bacterium *Chlorobium* spp. // Can. J. Microbiol. 1995. V. 41. P. 278–283.

SHORT COMMUNICATIONS

Alkaline Phosphatase Activity and Phosphatase-Active Bacteria in Lake Baikal Water Column and Major Tributaries

M. Yu. Suslova¹, *, G. V. Podlesnaya¹, I. V. Tomberg¹, M. V. Sakirko¹, and O. I. Belykh¹

¹*Limnological Institute, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, 664033 Russia*

**e-mail: suslova@lin.irk.ru*

Received October 16, 2023; revised October 24, 2023; accepted November 1, 2023

Abstract—Phosphorus is one of the major biogenic elements. Its inflow facilitates eutrophication of lake water. In aquatic ecosystems, phosphorus is present mostly in organic compounds. Ability of aquatic microorganisms to assimilate phosphorus from organophosphorous compounds results from activity of alkaline phosphatases; activity of these enzymes may be an indicator of the state of the ecosystem, phosphate load, and water quality. In the present work, alkaline phosphatase activity (APA) and abundance of phosphatase-active bacteria (PAB) in Lake Baikal pelagic zone and in the mouths of its major tributaries was studied. In the pelagic zone, APA and PAB abundance decreased with depth, indicating that the main processes of phosphate generation occurred in the trophic layer of the lake. In the main tributaries, both APA and PAB abundance were considerably higher than in the pelagic zone. These results indicate active biochemical processes of transformation of organophosphorous compounds occur in the estuarine zones of the rivers. The degradation processes result in regeneration of phosphates, which are completely incorporated in the biological turnover, providing for phytoplankton development.

Keywords: Lake Baikal, phosphorus, alkaline phosphatase activity, phosphatase-active bacteria, phosphatase-producing bacteria