

УДК 556.531.4+282.252.1

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ БУРЕЙСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА В РАЙОНЕ ОПОЛЗНЯ

© 2024 г. Л. М. Кондратьева<sup>a</sup>, Д. В. Андреева<sup>a, \*</sup>, З. Н. Литвиненко<sup>a</sup>, Е. М. Голубева<sup>b, c</sup>

<sup>a</sup>Институт водных и экологических проблем Дальневосточного отделения  
Российской академии наук, Хабаровск, Россия

<sup>b</sup>Институт тектоники и геофизики им. Ю.А. Косыгина Дальневосточного отделения  
Российской академии наук, Хабаровск, Россия

<sup>c</sup>Тихоокеанский государственный университет, Хабаровск, Россия

\*e-mail: freckles2008@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.08.2023 г.

После доработки 18.10.2023 г.

Принята к публикации 24.10.2023 г.

Представлены результаты экспериментальных исследований адаптационного потенциала микроорганизмов, входящих в состав бактериопланктона поверхностных и придонных слоев воды Бурейского водохранилища вокруг оползня, который сошел в зимний период 2018 г. В летний период 2022 г. в зоне влияния оползня исследованы структура и активность микробных комплексов, выделены >60 штаммов микроорганизмов разных физиологических групп. На примере четырех штаммов из разных местообитаний (выше и ниже тела оползня, поверхностные и придонные слои воды) после 30 сут замораживания при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  показана их жизнеспособность и активность в утилизации легкодоступных азотсодержащих органических веществ. При экспериментальном циклическом замораживании/оттаивании применяли два варианта оттаивания: медленное оттаивание в холодильнике от  $-18^{\circ}\text{C}$  до  $+4^{\circ}\text{C}$ ; быстрое оттаивание при широком диапазоне температуры от  $-18^{\circ}\text{C}$  до  $+23^{\circ}\text{C}$  (при комнатной температуре). Независимо от местообитания все штаммы активно росли *in vitro* при использовании легкодоступного источника углерода пептона до и после замораживания. Максимальную активность на пептоне, проявлял штамм 40 НД (ниже тела оползня, придонная вода) при отсутствии смены субстрата. Утилизация пептона как источника аминокислот и пептидов могла сопровождаться активизацией защитной функции от холодового стресса. Выбранные штаммы микроорганизмов различались по своей способности трансформировать молекулы гумата натрия в зависимости от условий циклов заморозания/оттаивания. Согласно спектральным характеристикам, существенные изменения алифатической и ароматической составляющей молекулы гумата происходили при участии штаммов 45ВД и 40НД, выделенных из придонной воды. Эти штаммы оказались более активными при низкой температуре оттаивания, которая соответствовала температуре придонных слоев воды *in situ*, составляющей  $4-6^{\circ}\text{C}$ . Для штамма 13НП из поверхностной воды, отобранной ниже тела оползня, характерна активная трансформации ароматической составляющей гуминовых веществ при широком диапазоне температуры оттаивания (от  $-18$  до  $+23^{\circ}\text{C}$ ). Полученные результаты свидетельствуют, что в разных регионах могут проявляться свои механизмы формирования качества природных вод при таянии многолетней мерзлоты и поступлении специфических органических веществ.

**Ключевые слова:** Бурейское водохранилище, оползень, микроорганизмы, заморозание/оттаивание, деструкция органических веществ

DOI: 10.31857/S0320965224050035, EDN: XSMIWN

### ВВЕДЕНИЕ

Исследования многолетней мерзлоты в условиях изменения климата показывают, что крупномасштабные эффекты на нашей планете могут быть связаны с биологической и химической активностью на микроскопическом уровне (Zona, 2016). В значительной степени это касается вы-

деления парниковых газов, включая метан, оксиды углерода и азота (Dutta et al., 2006; Kwon et al., 2019). Многолетняя мерзлота представлена низкотемпературными биотопами, которые успешно заселены адаптированными к холоду организмами трех доменов: Bacteria, Archaea и Eukarya (Struvay, Feller, 2012).

Микроорганизмы холодных местообитаний находятся в постоянном динамическом состоянии, взаимодействуют с физической и химиче-

**Сокращения:** ОВ — органические вещества; ОВ<sub>254</sub> и ОВ<sub>275</sub> — ОВ при  $\lambda$  254 нм и  $\lambda$  275 нм соответственно.

ской средой, участвуя в биогеохимических циклах (Rivkina et al., 2004; Jansson, Tas, 2014). Показано, что многолетнемерзлые почвы являются важным источником не только парниковых газов, но и других летучих органических веществ, поступающих в атмосферу. Согласно проведенной масс-спектрометрии при оттаивании мерзлых грунтов Гренландии обнаружено >300 различных органических соединений (Kramshøj et al., 2018), которые могут вовлекаться в микробиологические процессы.

Таяние многолетней мерзлоты в последние годы сопровождается опасными геологическими явлениями (оползнями, провалами, наводнениями и др.), которые представляют угрозу для инфраструктуры региона (Andres, Badoux, 2018; Patton et al., 2019) и считаются важной предпосылкой для изменения качества поверхностных и подземных вод.

В северных областях Сибири и Дальнего Востока России, а также в других регионах мира с широким диапазоном изменения температур все более актуальными становятся исследования поведения мерзлых грунтов на крутых склонах, которые выступают факторами риска при строительстве дорог и эксплуатации водохранилищ (Кусковский, 2011; Zheng et al., 2019). Одним таким опасным явлением можно считать Бурейский оползень, который произошел в декабре 2018 г. при довольно низкой температуре ( $-36^{\circ}\text{C}$ ), он сопровождался речным цунами, поступлением в воду водохранилища большого объема разрушенных пород, раздробленной древесины и поверхностного слоя почв (Зеркаль и др., 2019; Кулаков и др., 2019; Махинов и др., 2019).

Предполагают, что при дальнейшем потеплении климата запасы углерода в многолетней мерзлоте будут подвергаться микробному разложению, генерируя дальнейшее потепление (Schuur et al., 2021), пересыхание почв и значительное перераспределение водных ресурсов (Lawrence et al., 2015). Недавно установлено, что микробные сообщества способны преодолевать пределы эволюционных допусков при изменении климата и даже влиять на формирование микробно-опосредованной холодоустойчивости у растений (Asiña-Rodríguez et al., 2020; Allsup et al., 2023). Базовой основой служат взаимосвязанные процессы микробиологической трансформации ОВ и адаптации микроорганизмов к изменению температуры (Oh et al., 2020).

Цель наших исследований — оценить активность роста на разных субстратах отдельных штаммов микроорганизмов, выделенных из воды Бурейского водохранилища (выше и ниже тела оползня, в поверхностных и придонных слоях воды) после длительного замораживания при

$-18^{\circ}\text{C}$  и пяти циклов заморзания/оттаивания при разном диапазоне температур.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На Дальнем Востоке России участки многолетнемерзлых толщ приурочены к водоразделам и склонам северной экспозиции, включая долину бассейна р. Бурей. Водосбор Бурейского водохранилища расположен на территории с очень сложными мерзлотно-гидрогеологическими условиями (Кулаков и др., 2019). Мощность многолетнемерзлых пород достигает при сплошном распространении — 300–500 м, при слабо прерывистом — 100–300 м и при сильно прерывистом — 50–100 м (Мордовин и др., 2006). В южной части водосбора водохранилища в долинах некоторых притоков распространены массивно-островные и островные типы многолетнемерзлых пород, входящие до редко-островного типа с толщиной <50 м.

При строительстве плотины ГЭС и формировании Бурейского водохранилища многие специалисты прогнозировали активизацию экзогенных геологических процессов в виде оползней. Впервые на Дальнем Востоке России в зимний период (11 декабря 2018 г.) при температуре  $-36^{\circ}\text{C}$  произошел крупный оползень объемом 24.5 млн  $\text{м}^3$ , сопровождавшийся перемещением большого объема горных пород. Оползень обрушился непосредственно в Бурейское водохранилище, перекрыв его на месте схода от берега до берега. Согласно расчетам, объем надводной части оползня превышал 4.5 млн  $\text{м}^3$ , основная его часть находилась под водой. Глубина водохранилища на месте схода оползня была >70 м. Параметры оползня: длина — 800 м от края до края, высота — от 7.5 до 46 м. Описание геологических, геоморфологических и геофизических особенностей Бурейского оползня представлены в работах (Зеркаль и др., 2019; Кулаков и др., 2019; Махинов и др., 2019).

Высокая скорость прохождения волны и физические свойства почвы (большая пористость, способность к размыканию, повышенная пластичность) привели к полному разрушению почвенного покрова фактически до скальных пород. Весь органо-терригенный материал был смыт в водохранилище. Согласно проведенным расчетам, площадь разрушенного почвенного покрова достигла 120 га, с нее было смыто ~6000 т неразложившихся органических веществ органо-дерновых и торфянисто-органогенных почв и еще больше тонкодисперсного органического материала (Махинов и др., 2020). Изменение состава воды в зимний период в Бурейском водохранилище было исследовано непосредственно после схода оползня и проведения взрывных работ для восстановления гидрологического режима перед

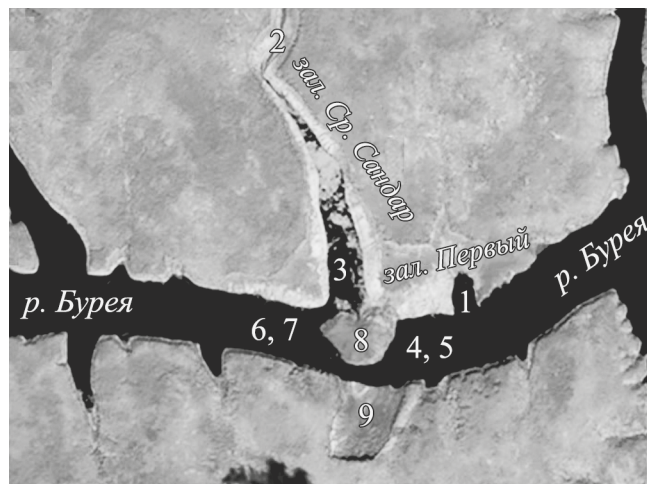
плотиной ГЭС (Кондратьева и др., 2020). Первые микробиологические исследования в зоне влияния оползня проведены в период ледостава и в весенний период 2019 г. (Кондратьева и др., 2021).

В августе 2022 г. пробы воды отобраны в двух заливах (Первый и Средний Сандар) на левом берегу Бурейского водохранилища, в которые поступили раздробленная древесина и поверхностный слой почвы, смытый речным цунами; а также поверхностные и придонные воды выше и ниже тела оползня (рис. 1).

**Содержание органических веществ в воде.** Для оценки содержания ОВ в воде Бурейского водохранилища в районе оползня применяли спектрофотометрический метод (спектрофотометр Shimadzu UV-3600). Пробы воды фильтровали, используя мембранный фильтр (размер пор – 0.45 мкм). Основные водорастворимые фракции определяли при следующих длинах волн: суммарное содержание растворенных ОВ ( $ОВ_{254}$ ) при  $\lambda = 254$  нм, содержание ароматических соединений ( $ОВ_{275}$ ) – при  $\lambda = 275$  нм (Kumar, 2006). В качестве микробиологических показателей присутствия ОВ разного строения использовали численность основных эколого-физиологических групп бактериопланктона: культивируемые гетеротрофные бактерии, аммонифицирующие бактерии, нитрифицирующие; сульфатредуцирующие и бактерии, растущие на гуминовых веществах. Все микробиологические исследования проводили в трех повторностях. Для культивирования использовали соответствующие агаризованные питательные среды, численность выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ/мл) (Намсараев и др., 2006).

**Потенциальную активность** микробных комплексов по отношению к различным источникам углерода, включая лактат кальция, пептон и гулат натрия, определяли по результатам их культивирования при температуре 20°C на среде М9 следующего состава (г/л): дистиллированная вода – 1,  $KH_2PO_4$  – 1.33;  $K_2HPO_4$  – 2.67;  $NH_4Cl$  – 1;  $Na_2SO_4$  – 2;  $KNO_3$  – 2;  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0.001;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0.1. Источники углерода использовали в следующих концентрациях: лактат кальция и пептон – 2 г/л, гулат натрия – 0.2 г/л.

**Выделение штаммов и подготовка к эксперименту.** В летний период 2022 г. из поверхностных и придонных вод вокруг Бурейского оползня выделено 62 штамма микроорганизмов. Многие из них росли на богатых и разбавленных питательных средах, большинство штаммов продуцировали полимерный матрикс, обладали амилазной активностью и росли на агаризованной среде с гулатом натрия в качестве источника углерода. Для оценки устойчивости штаммов к минусовым температурам, циклическому замерзанию и оттаиванию были выбраны четыре штамма бактерий из разных местообитаний, с характерными фи-



**Рис. 1.** Карта-схема отбора проб воды в районе Бурейского оползня в августе 2022 г.: 1 – залив Первый; 2 – источник Средний Сандар; 3 – залив Средний Сандар; 4, 5 – выше тела оползня, поверхностная и придонная вода, соответственно; 6, 7 – ниже тела оползня, поверхностная и придонная вода; 8 – тело оползня; 9 – место схода тела оползня.

зиологическими свойствами, защищающими их от экстремальных факторов: штамм 13 НП (ниже плотины, поверхностные воды), синтезирующий фиолетово-черный пигмент виолацин (violacin); штаммы 17ВП (выше плотины, поверхностные воды) и 40 НД (ниже плотины, придонные воды), продуцирующие слизистый матрикс; штамм 45ВД (выше плотины, придонные воды), образующий споры и способный быстро осваивать местообитание, благодаря скользящему росту.

**Влияние минусовой температуры и условий оттаивания *in vitro*.** Эксперимент проводили в стерильных одноразовых медицинских полимерных контейнерах на 50 мл с крышкой (Berimed, ООО “ЕВРОКЭП”, РФ).

Все варианты образцов питательного раствора с пептоном и гулатом натрия с внесенными инокулятами четырех штаммов замораживали в морозильной камере при  $-18^{\circ}C$ . Первое длительное замораживание штаммов было в течение 30 сут. Затем проводили пять циклов поочередного замораживания/оттаивания через 7 сут. Формировали две группы образцов, которые отличались условиями оттаивания: медленное оттаивание в холодильнике при температуре от  $-18^{\circ}C$  до  $+4^{\circ}C$ ; быстрое оттаивание при комнатной температуре от  $-18^{\circ}C$  до  $+23^{\circ}C$  (более широкий диапазон температуры оттаивания).

Для оценки адаптационного потенциала штаммов к минусовым температурам использовали два параметра: выживаемость на агаризованной среде РПА:10 при посеве штрихом; активность роста на жидкой среде с легкодоступным источником углерода пептоном после длительного 30-суточного замораживания. В конце эксперимента

после пяти циклов замораживания/оттаивания определяли способность к росту на пептоне, лактате и гумате натрия.

**Рост микроорганизмов на легкодоступных субстратах** (накопление биомассы на пептоне и лактате) определяли фотометрическим методом по изменению оптической плотности культуральной жидкости на КФК-3-01 при длине волны 600 нм.

**Особенности микробиологической трансформации** гумата натрия определяли по изменению спектров растворенных ОВ в области 200–500 нм и значений абсорбции культуральной жидкости на 30-е сутки при разных длинах волн: изменение общего содержания ОВ при  $\lambda = 254$  нм; присутствие ароматических групп при  $\lambda = 275$  нм (Kumar, 2006; Ширшова и др., 2015), используя спектрофотометр SHIMADZU UV-3600.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Содержание ОВ и численность бактериопланктона Бурейского водохранилища.** В летний период 2022 г. максимальное общее содержание растворенных ОВ<sub>254</sub> и ароматических соединений ОВ<sub>275</sub> в Бурейском водохранилище зарегистрировано в придонной воде выше тела оползня (табл. 1). В поверхностной воде содержание различных ОВ было в 2 раза меньше и минимально в заливах Первый и Средний Сандар. Возможно, такие различия связаны с присутствием в воде коллоидных фракций ОВ, продуктов разложения растительных остатков, которые отфильтровывали перед проведением спектрофотометрии. Доказательством могут служить результаты определения общей численности разных физиологических групп бактериопланктона (табл. 1).

Максимальная численность культивируемых гетеротрофных бактерий и сульфатредуцирую-

щих бактерий отмечена в пробах воды из заливов Первый и Средний Сандар. Кроме того, здесь была выявлена высокая численность микроорганизмов, участвующих в цикле азота (аммонифицирующие и нитрифицирующие бактерии). В пробе придонной воды, отобранной выше тела оползня с максимальным содержанием растворенных ОВ<sub>254</sub> и ОВ<sub>275</sub>, зарегистрирована высокая численность гетеротрофных и сульфатредуцирующих бактерий, но она была значительно ниже, чем в заливах. В пробах воды, отобранных ниже тела оползня, различия в численности бактериопланктона в поверхностных и придонных водах были незначительными, вероятно, из-за существующего гидродинамического перемешивания слоев воды после прохождения через узкий канал.

**Влияние 30-суточного замораживания при –18°C на выживаемость штаммов.** По мнению Глушаковой и др. (2021), краткосрочное замораживание (1–3 сут) замедляет рост и активность микробных сообществ, а после 7- и 15-суточного замораживания численность микроорганизмов повышается. Однако ранее получены иные сведения, что при длительном замораживании микроорганизмам требуется больше времени для адаптации к новым условиям после размораживания (Черобаева и др., 2011).

Выбранные для эксперимента четыре штамма бактерий перед замораживанием прошли адаптацию в течение 7 сут на двух субстратах: пептоне и гумате натрия. Затем их заморозили в водном растворе с этими источниками углерода. После 30-суточного замораживания и оттаивания при комнатной температуре проведена оценка активности штаммов с разным адаптационным потенциалом (к пептону и гумату натрия) на свежей питательной среде с легко доступным источником углерода (пептоном). Все штаммы показали

**Таблица 1.** Суммарное содержание растворенных органических, ароматических веществ и численность различных физиологических групп бактериопланктона в Бурейском водохранилище в районе оползня (август 2022 г.)

| № станции | Содержание органических веществ, ед. абс. |                   | Численность микроорганизмов, КОЕ/мл |        |         |          |        |
|-----------|-------------------------------------------|-------------------|-------------------------------------|--------|---------|----------|--------|
|           | ОВ <sub>254</sub>                         | ОВ <sub>275</sub> | КГБ                                 | АМБ    | СРБ     | НБ       | ГВ     |
| 1         | 0.206                                     | 0.207             | 141 ± 2                             | 82 ± 4 | 140 ± 4 | 60 ± 1   | <500   |
| 2         | 0.285                                     | 0.229             | 57 ± 14                             | 9 ± 3  | 24 ± 2  | <10      | —      |
| 3         | 0.163                                     | 0.130             | 151 ± 12                            | 82 ± 4 | 282 ± 4 | 82 ± 3   | 49 ± 3 |
| 4         | 0.274                                     | 0.219             | 63 ± 14                             | 40 ± 6 | 34 ± 2  | 22 ± 1   | 47 ± 2 |
| 5         | 0.415                                     | 0.337             | 75 ± 4                              | 36 ± 1 | 80 ± 3  | 28 ± 1   | 42 ± 3 |
| 6         | 0.343                                     | 0.277             | 99 ± 11                             | 25 ± 2 | 74 ± 2  | 13 ± 0.2 | 31 ± 3 |
| 7         | 0.297                                     | 0.239             | 85 ± 3                              | 28 ± 1 | 66 ± 3  | 29 ± 0.2 | 25 ± 2 |

Примечание. АМБ – аммонифицирующие бактерии; ГВ – бактерии, растущие на гуминовых веществах; КГБ – культивируемые гетеротрофные бактерии; НБ – нитрифицирующие бактерии; СРБ – сульфатредуцирующие бактерии. “—” – не обнаружены. Местонахождение станций 1–7 дано на рис. 1.

свою жизнеспособность после замораживания при  $-18^{\circ}\text{C}$ . Активность роста зависела от места их изоляции и предварительной активизации в течение 7 сут на разных субстратах (табл. 2).

Наиболее адаптированным к смене субстратов оказался штамм 40 НД, выделенный из придонных слоев воды ниже плотины. Максимальную активность на пептоне, несмотря на 30-суточное пребывание в замороженном состоянии, этот штамм проявлял при отсутствии смены субстрата (посев с пептона на пептон). Следует подчеркнуть, что независимо от местообитания все штаммы более активно росли *in vitro* при использовании легкодоступного источника углерода пептона до и после замораживания.

Известны различные метаболиты, которые защищают бактериальные клетки от холодового шока. Выявлен ряд белков, повышающих свою активность в ответ на холод, которые участвуют в транспорте метаболитов из клетки и обеспечивают эластичность мембран (Koh et al., 2017). В нашем эксперименте утилизация пептона как источника аминокислот и пептидов могла сопровождаться активизацией защитной функции от холодового стресса.

**Изменение состава гуминовых веществ после заморозания/оттаивания.** Гуминовые вещества рассматриваются как неотъемлемый компонент ОВ водных экосистем, выполняющий множество жизненно важных функций. В состав молекул гуминовых веществ входят ароматические и алифатические структуры с различными функциональными группами (Bell et al., 2014; Lee et al., 2015). Такая сложность макромолекулярной структуры гуминовых веществ отражается, в первую очередь, в их физико-химических особенностях, приводит к уникальным и разнообразным взаимодействиям с разными соединениями и элементами, поэтому они играют значимую роль в биохимических процессах (Perminova et al., 2019).

Согласно полученным результатам (табл. 3), выбранные штаммы микроорганизмов отличались по своей способности трансформировать молекулы гумата натрия при разных условиях циклического заморозания/оттаивания.

Так, штамм 17 ВП, выделенный из поверхностной воды выше тела оползня, активно трансформировал молекулы гумата натрия при широком диапазоне температуры оттаивания ( $-18^{\circ}\text{C}...+23^{\circ}\text{C}$ ). При изменении температуры оттаивания от  $-18^{\circ}\text{C}$  до  $+4^{\circ}\text{C}$  спектральные характеристики гумата натрия изменялись незначительно. Штаммы 45ВД и 40НД, выделенные из придонной воды выше и ниже тела оползня, оказались более активными при низкой температуре оттаивания, которая фактически соответствовала температуре придонных слоев воды *in situ* —  $4-6^{\circ}\text{C}$ . Для штамма 13НП из поверхностной воды

**Таблица 2.** Активность роста штаммов микроорганизмов из разных местообитаний на жидкой среде с пептоном после 30 сут замораживания ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) с разными источниками углерода (единицы оптической плотности при длине волны 600 нм)

| Штамм | Место изоляции, субстрат адаптации | Активность роста штаммов |                   |
|-------|------------------------------------|--------------------------|-------------------|
|       |                                    | Гумат натрия             | Пептон            |
| 17ВП  | Выше плотины, поверхностные воды   | $0.140 \pm 0.01$         | $0.153 \pm 0.02$  |
| 13НП  | Ниже плотины, поверхностные воды   | $0.133 \pm 0.02$         | $0.155 \pm 0.015$ |
| 45ВД  | Выше плотины, придонные воды       | $0.138 \pm 0.02$         | $0.147 \pm 0.02$  |
| 40 НД | Ниже плотины, придонные воды       | $0.148 \pm 0.01$         | $0.173 \pm 0.01$  |

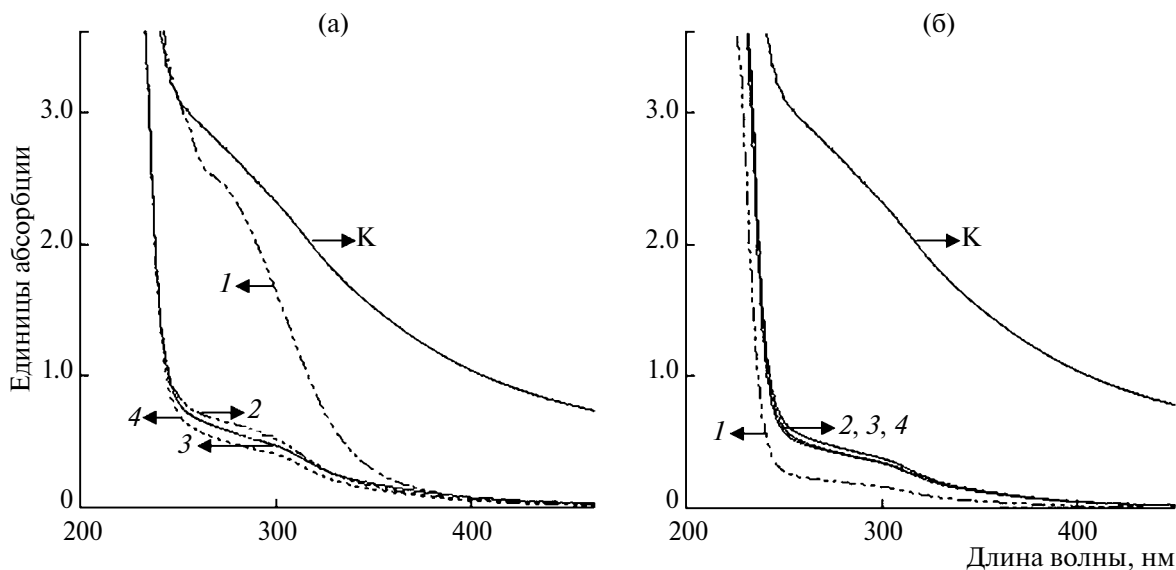
**Таблица 3.** Влияние микроорганизмов из Бурейского водохранилища на изменение состава гуминовых веществ *in vitro* при разном диапазоне оттаивания

| Штамм    | Содержание органических веществ, ед. абс.  |        |                                             |        |
|----------|--------------------------------------------|--------|---------------------------------------------|--------|
|          | 254 нм                                     | 275 нм | 254 нм                                      | 275 нм |
|          | $-18^{\circ}\text{C}...+4^{\circ}\text{C}$ |        | $-18^{\circ}\text{C}...+23^{\circ}\text{C}$ |        |
| Контроль | 3.035                                      | 2.715  | 3.110                                       | 2.650  |
| 17ВП     | 2.930                                      | 2.374  | 0.255                                       | 0.207  |
| 13НП     | 0.783                                      | 0.647  | 0.600                                       | 0.474  |
| 45ВД     | 0.734                                      | 0.592  | 0.526                                       | 0.426  |
| 40НД     | 0.643                                      | 0.501  | 0.551                                       | 0.433  |

Примечание. Контроль — исходный водный раствор гумата натрия.

ниже тела оползня, характерна активная трансформация ароматической составляющей гумата натрия при широком диапазоне температуры оттаивания (от  $-18$  до  $+23^{\circ}\text{C}$ ). Незначительные изменения спектральных характеристик гумата натрия (рис. 2) зарегистрированы при участии штамма 17ВП при узком диапазоне оттаивания ( $-18^{\circ}\text{C}...+4^{\circ}\text{C}$ ). Различия в изменении спектров гумата натрия при участии трех других штаммов отсутствовали.

**Рост штаммов на пептоне и лактате при разном диапазоне оттаивания.** В результате экспериментальных исследований при длительном культивировании микроорганизмов на гумате натрия и пептоне установлено, что все выбранные штаммы, присутствующие в поверхностной и придонной воде вокруг тела оползня, мало отличались по своей активности на лактате, продукте трансформации растительных остатков, при низкой температуре оттаивания ( $-18^{\circ}\text{C}...+4^{\circ}\text{C}$ ) (табл. 4). Максимальная активность роста на пептоне (при длительном культивировании на гумате натрия) отмечена у штамма 13НП, выделенного из по-



**Рис. 2.** Спектральная характеристика изменения состава гуминовых веществ при разном диапазоне оттаивания: а –  $-18^{\circ}\text{C}...+4^{\circ}\text{C}$ , б –  $-18^{\circ}\text{C}...+23^{\circ}\text{C}$ ; на оси ординат – единицы абсорбции, на оси абсцисс – длина волны; К – контроль; штаммы: 1 – 17ВП, 2 – 13НП, 3 – 45ВД, 4 – 40НД.

**Таблица 4.** Влияние диапазона температуры оттаивания на активность штаммов микроорганизмов Бурейского водохранилища на разных источниках углерода (ОП 600 нм)

| Штамм                                       | Пептон                                     | Лактат                                     | Пептон                                      | Лактат                                      |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
|                                             | $-18^{\circ}\text{C}...+4^{\circ}\text{C}$ | $-18^{\circ}\text{C}...+4^{\circ}\text{C}$ | $-18^{\circ}\text{C}...+23^{\circ}\text{C}$ | $-18^{\circ}\text{C}...+23^{\circ}\text{C}$ |
| Длительное культивирование на гумате натрия |                                            |                                            |                                             |                                             |
| Контроль                                    | 0.023                                      | 0.015                                      | 0.020                                       | 0.014                                       |
| 17ВП                                        | 0.068                                      | 0.023                                      | 0.053                                       | 0.015                                       |
| 13НП                                        | 0.094                                      | 0.015                                      | 0.093                                       | 0.017                                       |
| 45ВД                                        | 0.062                                      | 0.015                                      | 0.052                                       | 0.036                                       |
| 40НД                                        | 0.030                                      | 0.016                                      | 0.094                                       | 0.015                                       |
| Длительное культивирование на пептоне       |                                            |                                            |                                             |                                             |
| 17ВП                                        | 0.044                                      | 0.015                                      | 0.042                                       | 0.040                                       |
| 13НП                                        | 0.056                                      | 0.015                                      | 0.083                                       | 0.028                                       |
| 45ВД                                        | 0.053                                      | 0.016                                      | 0.051                                       | 0.030                                       |
| 40НД                                        | 0.040                                      | 0.018                                      | 0.057                                       | 0.016                                       |

верхностной воды ниже тела оползня, независимо от способа оттаивания.

Однако при более широком диапазоне температуры оттаивания ( $-18^{\circ}\text{C}...+23^{\circ}\text{C}$ ) максимальной активностью роста на лактате выделялся штамм 45ВД из придонной воды выше тела оползня, где отмечали максимальное содержание растворенных  $\text{ОВ}_{254}$  (табл. 1). При длительном культивировании на пептоне и широком диапазоне температуры оттаивания ( $-18^{\circ}\text{C}...+23^{\circ}\text{C}$ ) максимальная активность роста отмечена без смены субстрата у штамма 13НП из поверхностной воды

ниже тела оползня, а при смене пептона на лактат у штамма 17ВП из поверхностной воды выше тела оползня. Поэтому основное условие активного роста при разном диапазоне температуры оттаивания – это предварительная адаптация к конкретному субстрату или смена субстратов.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Влияние климата на функционирование геосистем проявляется в виде ряда фундаментальных проблем, которые не всегда можно прогнозировать и предотвращать экологические риски, в основе которых лежат сложные природные процессы. Несмотря на многочисленные исследования, проводимые в Швейцарии с привлечением большого объема данных об ущербе от наводнений, селевых потоков и оползней за период 1972–2016 гг., не удалось доказать прямую связь этих процессов с изменением климата (Andres, Badoux, 2018).

Это связано с тем, что довольно трудно установить общие закономерности взаимодействия воды с горными породами, не принимая во внимание роль биогенного фактора, который оказывает существенное влияние на динамику многих процессов на поверхности Земли, в ее недрах и на так называемых биогеохимических барьерах. К таким уникальным барьерам относят зону оттаивания многолетней мерзлоты, где самым неустойчивым фактором является температура.

При исследовании процессов оттаивания в холодных регионах установлено, что наиболее экологически уязвимы внешние границы районов многолетней мерзлоты. Согласно расчетам, до 71% запасов углерода хранится в быстро отта-

ивающих минеральных почвах (Keuschnig et al., 2022). Однако, несмотря на обширные сведения о местах оттаивания многолетней мерзлоты и экспериментальные данные по замерзанию/оттаиванию почв и пород (Глушакова и др., 2021; Zhang et al., 2013), крайне мало общего представления об изменении экологической обстановки в районах с периодическим замерзанием/оттаиванием, особенно с точки зрения последствий поступления ОВ для биогеохимических процессов в водных экосистемах.

Последствия потепления климата приводят к эколого-биогеохимическим изменениям, которые учитывают, главным образом, по изменению состава парниковых газов в атмосфере. Однако известно, что изменение климата сопровождается активизацией метаногенных и метанотрофных микроорганизмов (Rivkina et al., 2007), которые оказывают влияние на другие формы микроорганизмов цикла углерода. Рост глобальной температуры приводит к крупномасштабным изменениям в биосфере и криосфере, включая многолетнюю мерзлоту (Margesin, Collins, 2019).

Изменения в динамике биохимических процессов в многолетней мерзлоте могут критически влиять на водные экосистемы и ландшафты непосредственно через активность микробных сообществ. Показано (Messan et al., 2020), что функциональная реакция микробиома многолетней мерзлоты на изменение температуры, имитирующей оттаивание, больше зависела от конечной температуры оттаивания, чем от местоположения отбора проб и их фильтрации.

Известны исследования, в которых доказана метаболическая активность микроорганизмов при низких температурах от  $-20^{\circ}\text{C}$  (Christner, 2002) до  $-40^{\circ}\text{C}$  (Price, Sowers, 2004). Наши экспериментальные исследования показали, что пребывание микроорганизмов в замороженном состоянии при  $-18^{\circ}\text{C}$  в течение 30 сут и пять циклов замерзания/оттаивания не влияло на их жизнеспособность. Более того, важными факторами оказались диапазон оттаивания и присутствие органических веществ. Ранее установлено, что циклы оттаивания–промерзания приводят к интенсивным изменениям состава гумуса и его коллоидных физико-химических свойств. Эти изменения проявляются в повышении лабильности гуминовых веществ из-за увеличения полидисперсности их молекул (Vasilevich et al., 2018). Недавно выявлены различные по своему генезису противоморозные соединения (криопротекторы), антифризные белки, некоторые сахара, аминокислоты и органические кислоты, которые помогают адаптироваться к холоду, и обеспечивают выживание при отрицательных температурах (Hou et al., 2017).

Нами отмечено разное влияние лабильных и стойких ОВ на характер роста микроорганизмов в зависимости от диапазона температур оттаивания. По-видимому, в разных регионах могут проявляться свои механизмы формирования качества природных вод при таянии многолетней мерзлоты.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по оценке влияния изменения температуры на активность микроорганизмов из разных местообитаний в зоне влияния Бурейского оползня показали, что процессы сезонного замерзания и оттаивания оказывают влияние на пространственную структуру микробных сообществ. Выбранные нами штаммы бактерий различались по своей способности продуцировать полимерный матрикс, который выступал важным агентом к противостоянию длительному замораживанию и последующим пяти циклам замерзания/оттаивания. Несмотря на холодовой шок, все четыре штамма проявляли активность по отношению к ОВ разного строения (пептону, лактату, гумату натрия). Максимальную активность штаммов наблюдали при росте на пептоне. Предположительно, входящие в его состав олигомеры пептидов могли принимать участие в синтезе специализированных аминокислот, которые защищают бактериальные клетки от низких температур. Независимо от местообитания, выбранные изоляты бактерий участвовали в трансформации алифатической и ароматической составляющих в составе молекулы гумата натрия. Изменение структуры микробных сообществ в зоне взаимодействия воды с береговыми склонами может служить причиной доминирования холодолюбивых метаногенных бактерий и накоплению метана в поровом пространстве горных пород вокруг тела оползня. Полученные результаты свидетельствуют, что микробиологические процессы становятся решающими для прогнозирования состава поверхностных и придонных вод в водохранилище при сезонном изменении температурного режима.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность коллегам из лаборатории гидрологии и гидрогеологии Института водных и экологических проблем ДВО РАН А.Н. Махинову, В.И. Киму и Д.В. Матвеевко за отбор проб воды из Бурейского водохранилища.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена по Государственному заданию Министерства науки и высшего образования РФ № 121021500060-4.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Глушакова А.М., Лысак Л.В., Качалкин А.В. и др. 2021. Трансформация микробных комплексов в компонентах почвенных конструкций разного генезиса (почва, торф, песок) при процессах замораживания–оттаивания // Микробиология. Т. 90. № 2. С. 166.
- Зеркаль О.В., Махинов А.Н., Кудымов А.В. и др. 2019. Бурейнский оползень 11 декабря 2018 г. Условия формирования и особенности механизма развития // ГеоРиск. Т. XIII. № 4. С. 18.
- Кондратьева Л.М., Махинов А.Н., Андреева Д.В., Башкурова А.С. 2020. Изменение качества воды в Бурейском водохранилище в результате крупного оползня // Водн. ресурсы. Т. 47. № 2. С. 170.
- Кондратьева Л.М., Литвиненко З.Н., Андреева Д.В., Башкурова А.С. 2021. Изменение численности и активности микробоценозов в зоне влияния крупного оползня на Бурейском водохранилище // Биология внутр. вод. № 3. С. 243. <https://doi.org/10.31857/S0320965221030086>
- Кулаков В.В., Махинов А.Н., Ким В.И., Остроухов А.В. 2019. Катастрофический оползень и цунами в водохранилище Бурейской ГЭС (бассейн Амура) // Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. № 3. С. 12.
- Кусковский В.С. 2011. Экзогенные геологические процессы на берегах Саяно-Шушенского водохранилища // Проблемы гидрогеологии, инженерной геологии и гидрогеоэкологии: Матер. Всерос. науч. конф. Томский политехн. ун-т. Томск: Изд-во НТЛ. С. 140.
- Махинов А.Н., Ким В.И., Остроухов А.В., Матвеев Д.В. 2019. Крупный оползень в долине реки Бурей и цунами в водохранилище Бурейской ГЭС // Вестн. Дальневосточного отделения Российской академии наук. № 2. С. 35.
- Махинов А.Н., Махинова А.Ф., Левшина С.И. 2020. Оценка смыва водно-ледяным цунами почвенного покрова и качество воды в районе оползня на Бурейском водохранилище // Метеорология и гидрология. № 11. С. 64.
- Мордовин А.М., Шестеркин В.П., Антонов А.Л. 2006. Река Бурей: гидрология, гидрохимия, ихтиология. Хабаровск: ИВЭП ДВО РАН.
- Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д., Хасинов В.В. 2006. Полевой практикум по водной микробиологии и гидрохимии. Методическое пособие. Улан-Удэ: Изд-во БГУ.
- Черобаева А.С., Степанов А.Л., Кравченко И.К. 2011. Отклик аммонийоокисляющих бактерий и архей на резкие изменения температуры в почвах разных климатических зон // Проблемы агрохимии и экологии. № 3. С. 17.
- Ширшова Л.Т., Гиличинский Д.А., Остроумова Н.В., Ермолаев А.М. 2015. Применение спектрофотометрии для определения содержания гуминовых веществ в многолетнемерзлых отложениях // Криосфера Земли. Т. 19. № 4. С. 107.
- Acuña-Rodríguez I.S., Newsham K.K., Gundel P.E. et al. 2020. Functional roles of microbial symbionts in plant cold tolerance // Ecol. Lett. V. 23. P. 1034.
- Allsup C.M., George I., Lankau R.A. 2023. Shifting microbial communities can enhance tree tolerance to changing climates // Science. V. 380(6647). P. 835. <https://doi.org/10.1126/science.adf2027>
- Andres N., Badoux A. 2018. The Swiss flood and landslide damage database: normalisation and trends // J. Flood Risk Manag. e12510.
- Bell N.G.A., Murray L., Graham M.C., Uhrin D. 2014. NMR methodology for complex mixture 'separation' // Chem. Communications. V. 50. №. 14. P. 1694.
- Christner B.C. 2002. Incorporation of DNA and protein precursors into macromolecules by bacteria at –15 degrees C // Appl. Environ. Microbiol. V. 68. P. 6435.
- Dutta K., Schuur E.A.G., Neff J.C., Zimov S.A. 2006. Potential carbon release from permafrost soils of North-eastern Siberia // Global Change Biol. V. 12. P. 2336.
- Jansson J.K., Tas N. 2014. The microbial ecology of permafrost // Nat. Rev. Microbiol. V. 12. P. 414.
- Hou N., Wen L., Cao H. et al. 2017. Role of psychrotrophic bacteria in organic domestic waste composting in cold regions of China // Bioresour. Technol. V. 236. P. 20.
- Lee B.M., Seo Y.S., Hur J. 2015. Investigation of adsorptive fractionation of humic acid on graphene oxide using fluorescence EEM-PARAFAC // Water Res. V. 73. P. 242.
- Patton A.I., Rathburn S.L., Capps D.M. 2019. Landslide response to climate change in permafrost regions // Geomorphology. V. 340. P. 116.
- Perminova I.V. 2019. From green chemistry and nature-like technologies towards ecoadaptive chemistry and technology // Pure and Appl. Chem. V. 91. № 5. P. 851.
- Price P.B., Sowers T. 2004. Temperature dependence of metabolic rates for microbial growth, survival and maintenance // Proc. Nat. Acad. Sci. V. 101. P. 4631.
- Keuschnig C., Larose C., Rudner M. et al. 2022. Reduced methane emissions in former permafrost soils driven by vegetation and microbial changes following drainage // Global Change Biol. V. 28(10). P. 3411.
- Koh H.Y., Park H., Lee J.H. et al. 2017. Proteomic and transcriptomic investigations on cold-responsive properties of the psychrophilic Antarctic bacterium *Psychrobacter* sp. PAMC 21119 at subzero temperatures // Environ. Microbiol. V. 19(2). P. 628.
- Kramshøj M., Albers C.N., Holst T. et al. 2018. Biogenic volatile release from permafrost thaw is determined by the soil microbial sink // Nat. Commun. V. 9. e-3412. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05824-y>
- Kumar S. 2006. Organic chemistry. spectroscopy of organic compounds // Guru Nanak Dev University.
- Kwon M.J., Jung J.Y., Tripathi B.M. et al. 2019. Dynamics of microbial communities and CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> fluxes in the tundra ecosystems of the changing Arctic // J. Microbiol. V. 57(5). P. 325. <https://doi.org/10.1007/s12275-019-8661-2>
- Lawrence D.M., Koven C.D., Swenson S.C. et al. 2015. Permafrost thaw and resulting soil moisture changes regu-

- late projected high-latitude CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> emissions // *Environ. Res. Letters*. V. 10(9). e094011. <https://doi.org/110.1088/1748-9326/10/9/094011>
- Margesin R., Collins T. 2019. Microbial ecology of the cryosphere (glacial and permafrost habitats): current knowledge // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* V. 103. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9435-1>
- Messan K.S., Jones R.M., Doherty S.J. et al. 2020. The role of changing temperature in microbial metabolic processes during permafrost thaw // *PLoS ONE*. V. 15(4). e0232169. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232169>
- Oh Y., Zhuang Q., Liu L. et al. 2020. Reduced net methane emissions due to microbial methane oxidation in a warmer Arctic // *Nature Climate Change*. V. 10(4). P. 317. <https://doi.org/110.1038/s41558-020-0734-z>
- Rivkina E., Laurinavichius K., McGrath J. et al. 2004. Microbial life in permafrost // *Adv. Space Res.* V. 33. P. 1215.
- Rivkina E., Shcherbakova V., Laurinavichius K. et al. 2007. Biogeochemistry of methane and methanogenic archaea in Permafrost // *FEMS Microbiol Ecol.* V. 61. P. 1.
- Schuur E.A.G., Bracho R., Celis G. et al. 2021. Tundra underlain by thawing permafrost persistently emits carbon to the atmosphere over 15 years of measurements // *J. Geophys. Res: Biogeosciences*. V. 126(6). e2020JG006044. <https://doi.org/10.1029/2020JG006044>
- Struvay C., Feller G. 2012. Optimization to Low Temperature Activity in Psychrophilic Enzymes // *Int. J. Molecular Sci.* V. 13(9). P. 11643. <https://doi.org/10.3390/ijms130911643>
- Vasilevich R., Lodygin E., Abakumov E. 2018. Molecular composition of humic substances isolated from permafrost peat soils of the eastern European Arctic // *Pol. Polar Res.* V. 39(4). P. 48.
- Zhang D., Chen A.Q., Xiong D.H., Liu G.C. 2013. Effect of moisture and temperature conditions on the decay rate of purple mudstone in south-western China // *Geomorphology*. V. 182. P. 125.
- Zheng Q., Shen S.-L., Zhou A.-N., Cai H. 2019. Investigation of landslides that occurred in August on the Chengdu–Kunming Railway, Sichuan, China // *Geosciences*. V. 9. № 12. e 497.
- Zona D. 2016. Long-term effects of permafrost thaw // *Nature*. V. 537(7622). P. 625. <https://doi.org/10.1038/537625a>

## The Effect of Temperature on the Activity of Microorganisms in the Area of the Bureiskiy Landslide

L. M. Kondratyeva<sup>1</sup>, D. V. Andreeva<sup>1,\*</sup>, Z. N. Litvinenko<sup>1</sup>, E. M. Golubeva<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of the Water and Ecology problems, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Khabarovsk, Russia*

<sup>2</sup>*Kosygin Institute of Tectonics and Geophysics, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Khabarovsk, Russia*

<sup>3</sup>*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Pacific State University", Khabarovsk, Russia*

\* e-mail: freckles2008@yandex.ru

The manuscript presents the results of experimental studies of the adaptive potential of microorganisms that are part of the bacterioplankton of the surface and bottom water layers of the Bureiskoe Reservoir in the zone of the landslide that descended in the winter of 2018. In the summer of 2022, the structure and activity of microbial complexes from area near the landslide were studied. More than 60 strains of microorganisms of different physiological groups were isolated. On the example of 4 strains isolated from different habitats (above and below the landslide body, surface and bottom layers of water) after 30 days of freezing at a temperature of –18°C, their viability and activity in the utilization of easily available nitrogen-containing organic substances were shown. In experimental cyclic freezing-thawing, two variants of thawing were used: slow thawing in a refrigerator from –18°C to +4°C; fast defrosting over a wide temperature range from –18°C to +23°C (at room temperature). Regardless of location, all strains grew vigorously *in vitro* with use of a readily available peptone carbon source before and after freezing. The maximum activity on peptone was shown by strain 40 BB (below the landslide body, bottom water) in the absence of substrate change. Utilization of peptone as a source of amino acids and peptides could be accompanied by activation of the protective function against cold stress. The selected strains of microorganisms differed in their ability to transform sodium humate molecules depending on the conditions of the freeze/thaw cycles. According to the spectral characteristics, significant changes in the aliphatic and aromatic components of the humate molecule occurred with the participation of strains 45 AB and 40 BB isolated from the bottom water. These strains were more active at low thawing temperatures, which actually corresponded to the *in situ* temperature of the bottom water layers, which is 4–6°C. Strain 13 BS from surface water sampled below the landslide body is characterized by active transformation of the aromatic component of humic substances in a wide range of thawing temperatures (from –18 to +23°C). The results indicate that in different regions during the thawing of permafrost and the influx of specific organic substances the specific mechanisms of formation of the quality of natural waters may manifest.

**Keywords:** Bureiskoe Reservoir, landslide, microorganisms, freezing/thawing, destruction of organic substances