Гидрохимические и микробиологические предпосылки к аэробной продукции метана в водной толще моря Лаптевых

Самылина О.С., Русанов И.И., Тарновецкий И.Ю., Пименов Н.В.*

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Россия

*npimenov@mail.ru

Введение:

Поверхностные аэробные воды различных регионов Мирового океана часто бывают пересыщены метаном по отношению к атмосфере – явление, которое принято называть «морским метановым парадоксом». Долгое время объяснение этого феномена сводилось к выявлению в водной толще анаэробных микрониш с развитием метаногенных архей, однако в настоящее время рассматривают и другие возможные биологические механизмы, способные объяснять это явление.

Шельфовые моря восточной Арктики, в том числе море Лаптевых, известны как мощные источники эмиссии метана в атмосферу (*Shakhova et al., 2010; Berchet et al., 2016*). В придонных слоях воды в зонах разгрузки метановых сипов концентрация растворённого метана может достигать 5000 нМ (*Shakhova et al., 2010*). Считается, что в этом регионе транспорт метана из осадков в атмосферу обусловлен преимущественно пузырьковым переносом, в процессе которого происходит частичное растворение и насыщение метаном аэробной водной толщи). Таким образом, повышенные концентрации метана в атмосфере и водной толще арктических морей обычно связывают с активностью многочисленных метановых сипов. Вместе с тем, филогенетическое разнообразие и метаболический потенциал пелагических микробных сообществ этого региона остаются неизученными.

Цель и задачи работы:

С целью выявления потенциальных агентов микробной продукции метана в аэробных условиях водной толщи моря Лаптевых были поставлены следующие задачи: на станциях, расположенных как в поле метановых сипов, так и на удалении от них провести изучение гидрохимических параметров водной толщи; определение активности процессов первичной продукции (ПП), темновой ассимиляции углекислоты (ТАУ), гидрогенотрофного метаногенеза (МГ) и микробного окисления метана (МО); определение таксономического разнообразия пелагических микробных сообществ.

Современные объяснения явления «метанового парадокса»:

- «Классический» метаногенез, протекающий в водной толще в анаэробных микрониших: в крупных частицах органической взвеси, кишечном тракте и пеллетах зоопланктона (*Bianchi et al., 1992; Ditchfield et al., 2012*);
- Образование метана вследствие разрушения метилфосфоната (MPn) гетеротрофными бактериями в условиях фосфатного голодания: параллельно с высвобождением фосфата происходит восстановление метильной группы до метана (*Karl et al., 2008; Sosa et al., 2019*);
- Выделение метана в условиях лимитирования по азоту, связанное с аэробным разложением диметилсульфониопропионата (ДМСП) до диметилсульфида (ДМС) или метилмеркаптана (метантиол, MeSH) (*Damm et al., 2010*) и последующим анаэробным разложением этих продуктов метилотрофными метаногенами (*Kurth et al., 2020*);
- Продукция метана непосредственно фитопланктоном (цианобактериями, кокколитофоридами и др. гаптофитами, диатомовыми водорослями) по неизвестному на данный момент механизму конверсии углекислоты в метан, связанному с основным метаболизмом оксифототорфов (см. обзор *Bižić et al., 2020* и ссылки в нём).

Район исследований.

Пробы воды и донных осадков были отобраны в ходе 73 рейса НИС «Академик Мстислав Келдыш» в октябре 2018 г. в море Лаптевых. Для исследования были выбраны две внешнешельфовые и сходные по глубине станции **(рис. 1)**:

- ✓ **АМК73-6045** (76.7744 N, 125.7620 E), непосредственно в зоне разгрузки метанового сипа,
- ✓ **АМК73-6053** (76.7387 N, 128.4512 E), удаленная от зоны пузырьковой разгрузки метана.

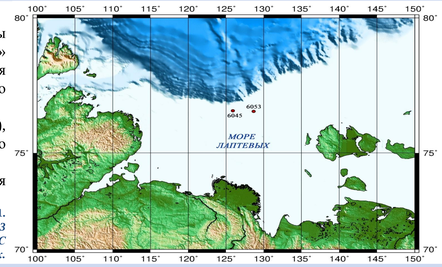

Рис. 1. *Расположение станций АМК73-6045 (метановый сип) и АМК73-6053 (вне зоны активных газовыделений), исследованных в ходе 73 рейса НИС «Академик Мстислав Келдыш» в октябре 2018 г. в море Лаптевых.*

Физико-химическая характеристика станций.

Содержание растворённого метана в водной толще на обеих станциях имело сопоставимые значения (25.9-50.4 нМ) вплоть до глубины расположения пикноклина (25 м). На этой глубине были зафиксированы локальные максимумы содержания метана с наибольшим значением на удалённой станции АМК73-6053 (116 нМ CH4). Содержание метана в придонных горизонтах станции АМК73-6045 (сип) достигало 867.9 нМ, в то время как на удалённой станции не превышало средних значений до самого дна **(рис. 2)**.

Принимая значения 3.5-7 нМ CH_4, измеренные *Damm et al. (2010)* в центральной части Северного Ледовитого океана, в качестве фоновых (то есть однозначно не обусловленных деятельностью метановых сипов), можно заключить, что обе исследованные нами станции были подвержены влиянию метановых сипов. Так, повышенная концентрация метана во всей водной толще на станции АМК73-6045 напрямую обусловлена разгрузкой пузырьков метана из донных отложений, а на станции АМК73-6053, удалённой от сипа, – адвективным переносом вод, обогащенных метаном.

Фоновые концентрации метана (по данным *Damm et al., 2010*)

Для центральной части Северного Ледовитого океана установлено, что подповерхностная концентрация метана:

- 3.5-4 нМ в зоне влияния атлантических вод (близка к значениям, равновесным с атмосферой);
- 5-7 нМ в зоне влияния тихоокеанских вод (что связывают с аэробной биологической продукцией метана пелагическими сообществами).

Содержание биогенных элементов (P, N) изменялось по вертикали незначительно. Однако, расчёт квазиконсервативного индикатора N*, отражающего изменения в пропорции Редфилда, выявил лимитирование по азоту практически по всей глубине водной толщи над метановым сипом (АМК73-6045), в то время как на удалённой станции (АМК73-6053) этот индикатор был больше нуля на всех горизонтах за исключением верхнего (**табл. 1**).

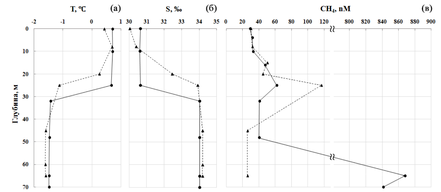

Рис. 2. *Распределение температуры (а), солёности (б) и метана (в) на станциях АМК73-6045 (сплошная линия) и АМК73-6053 (пунктирная линия).*

Таблица 1.
Распределение биогенных элементов в водной толще станций АМК73-6045 и АМК73-6053, исследованных в ходе 73 рейса НИС «Академик Мстислав Келдыш» в октябре 2018 г.

Станция	Горизонт, м	PO_4, µM	NO_3, µM	NO_2, µM	NH_4, µM	N*, µM
АМК73-6045 над метановым сипом	0	0.30	1.13	0.00	0.61	**-0.67**
	10	0.69	0.47	0.04	0.31	**-6.67**
	25	0.41	2.18	0.09	0.32	**-1.29**
	32	0.52	2.74	0.00	0.31	**-2.33**
	48	0.46	0.31	0.00	0.29	**-3.61**
	65	0.74	7.70	0.04	0.27	**-1.08**
	70	0.48	8.69	0.00	0.30	**3.40**
АМК73-6053 вне зоны активных газовыделений	0	0.33	2.03	0.04	0.06	**-0.30**
	8	0.33	2.70	0.09	0.09	**0.28**
	20	0.41	4.16	0.09	0.04	**0.44**
	25	0.43	4.99	0.04	0.05	**0.88**
	45	0.58	8.83	0.04	0.12	**2.13**
	65	0.59	7.14	0.09	0.07	**0.52**

Активности микробных процессов.

- ✓ **МГ:** Во всех исследованных горизонтах водной толщи радиоуглеродным методом не удалось достоверно измерить интенсивность процесса гидрогенотрофного МГ. В нашей работе не был учтен метилотрофный путь МГ, который может оказаться значимым источником метана в аэробной водной толще Северного Ледовитого океана (*Damm et al., 2010*).
- ✓ **ПП:** Интенсивности ПП были низкими **(рис. 3а, б)**. В среднем доля включения углерода бикарбоната в РОУ составила 71.8% на станции АМК73-6045 и 42.7% на станции на станции АМК73-6053 (**табл. 2**).
- ✓ **ТАУ:** Измеренные величины ТАУ оказались достаточно высокими для Арктических морей в позднеосенний период (**рис. 3в, г**). В среднем доли включения углерода бикарбоната в БМ и РОУ в процессе ТАУ были сходны на обеих станциях и составили около 30% в БМ и 70% в РОУ (**табл. 2**).
- ✓ **МО:** Интенсивность МО была невысокой (за исключением придонных горизонтов на станции над сипом), что характерно для водной толщи открытой части Арктических морей (*Rogener et al., 2020*) (**рис. 3д, е**). Доли включения углерода метана в CO_2, БМ и РОУ в процессе МО на удаленной станции на станции АМК73-6053 составили 42.2, 7.9 и 49.9%, соответственно (**табл. 2**). Распределение углерода метана, включённого в CO_2, БМ и РОУ было различным при расчете от поверхности до нижней части пикноклина или при расчете на всю глубину от поверхности до дна (**табл. 2**).

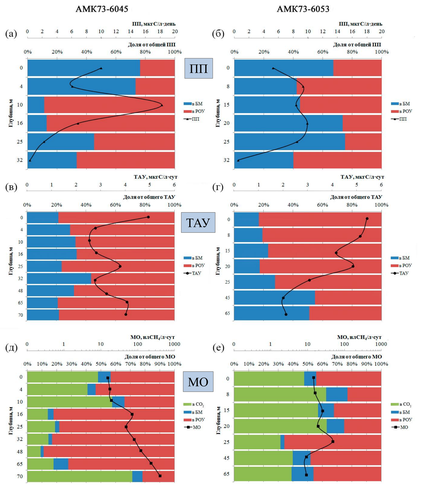

Рис. 3.
Микробные процессы, измеренные на станциях АМК73-6045 (метановый сип) и АМК73-6053 (вне зоны активных газовыделений) в 73 рейсе НИС «Ак. М. Келдыш»: (а-б) первичная продукция (ПП), (в-г) темновая ассимиляция углекислоты (ТАУ), (д, е) окисление метана (МО).
Цветные столбцы отражают долевое соотношение продуктов ПП, ТАУ и МО при микробной трансформации углерода бикарбоната (а-г) или углерода метана (д-е): синие – включение в биомассу (БМ), красные – продукция растворенного органического углерода (РОУ), зелёные – продукция CO_2.
Графики отражают распределение по горизонтам дискретных величин процессов: (▲) ПП – суммарная (БМ+РОУ) интенсивность первичной продукции, (●) ТАУ – суммарная (БМ+РОУ) интенсивность темновой ассимиляции углекислоты, (■) МО – суммарная (CO_2+БМ+РОУ) интенсивность окисления метана.

Таблица 2. *Интегральные величины процессов* первичной продукции (ПП), темновой ассимиляции углекислоты (ТАУ) и окисления метана (МО) пелагическими микробными сообществами, измеренные на станциях АМК73-6045 (над метановым сипом) и АМК73-6053 (вне зоны активных газовыделений) в ходе 73 рейса НИС «Академик Мстислав Келдыш» в октябре 2018 г.*

Процессы		АМК73-6045		АМК73-6053
ПП, мг С/м²·день	Суммарная ПП	228.6		237.3
	Включение $C\text{-}HCO_3$ в БМ	64.5 (28.2%)		135.9 (57.3%)
	Включение $C\text{-}HCO_3$ в РОУ	164.1 (71.8%)		101.4 (42.7%)
ТАУ, мг С/м²·сут	Суммарная ТАУ	230.4		208.5
	Включение $C\text{-}HCO_3$ в БМ	67.9 (29.5%)		64.3 (30.8%)
	Включение $C\text{-}HCO_3$ в РОУ	162.5 (70.5%)		144.2 (69.2%)
МО, мкг $C\text{-}CH_4$/ м²·сут		**0-32 м****	**0-70 м*****	
	Суммарное МО	771.9	4271.7	693.4
	Включение $C\text{-}CH_4$ в CO_2	164.8 (21%)	252.3 (5.9%)	293.0 (42.2%)
	Включение $C\text{-}CH_4$ в БМ	29.9 (4%)	945.2 (22.1%)	54.7 (7.9%)
	Включение $C\text{-}CH_4$ в РОУ	577.2 (75%)	3074.2 (72.0%)	345.8 (49.9%)

*значения в скобках обозначают долю (в %) от суммарной интенсивности процесса;
**0-32 м: интегральная величина МО при расчете от поверхности до нижней части пикноклина;
***0-70м: интегральная величина МО при расчете от поверхности до дна.

Молекулярный анализ состава микробных сообществ.

Наиболее многочисленными (более 10% от общего числа прочтений) в исследованных образцах были представители следующих филогенетических групп:

- ✓ клада SAR11 (класс Alphaproteobacteria; 7.2-15.2%), с преобладанием подклады Ia (6.1-13.4%), типичной для высокоширотных областей (*Brown et al., 2012*);
- ✓ кластер SUP05 (семейство *Thioglobaceae*; 7.5-17.4%) с последовательностями близкими к подкластеру Arctic96BD-19, включающему аэробных сероокисляющих литогетеротрофных представителей Ca. *Thioglobus* sp. NP1 и Ca. *Thioglobus singularis* PS1;
- ✓ кластер OM60(NOR5) (9.6-10.5%) с последовательностями близкими к гетеротрофному виду *Marimicrobium arenosum* CAU 1038;
- ✓ Метилотрофные бактерии рода *Methyloprofundus* (0.1-11.6%);
- ✓ неидентифицированные представители семейства *Nitrincolaceae* (8.9-13.2%), близкие к клонам некультивируемых морских гаммапротеобактерий Arctic96B-16 и Ant4D3.

Значимыми компонентами сообществ были также представители

- ✓ рода *Planktomarina* (2.7-6.4%)
- ✓ клады SAR92 (4.5-6.6%),
- ✓ Клады NS5 (2.1-4.3%).

Последовательности архей принадлежали представителям двух филумов:

- ✓ *Thaumarchaeota* (Candidatus *Nitrosopumilus*; 0.3-1.3%) и
- ✓ *Euryarchaeota* (Marine Group II; 0.3-0.6%).

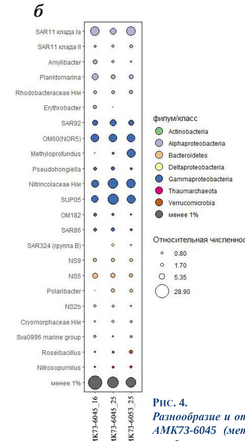

Рис. 4.
Разнообразие и относительное обилие филумов (а) и филогенетических групп родового уровня (б) прокариот в образцах воды на станциях АМК73-6045 (метановый сип) и АМК73-6053 (вне зоны активных газовыделений). Образцы АМК73-6045_25 и АМК73-6053_25 были отобраны с горизонта пикноклина, образец АМК73-6045_16 – с горизонта выше пикноклина.

Предпосылки к аэробной продукции метана.

Способность аэробного сообщества пелагиали продуцировать метан определяется составом РОВ и доступностью биогенов. В качестве предшественников метана в аэробной морской воде рассматривают метилфосфонат (MPn) и диметилсульфониопропионат (ДМСП).

1) **Предшественник метана:** MPn.
   - **Гидрохимические предпосылки:** значения N* > 0 (**табл. 1**) на удалённой от сипа станции АМК73-6053 свидетельствуют о дисбалансе в соотношении Редфилда в сторону переизбытка азота относительно фосфора => можно предположить условия фосфатного голодания на этой станции.
   - **Микробиологические предпосылки:**
     - Гены синтеза MPn известны у аммоний-окисляющий архей *Nitrosopumilus maritimus* (*Thaumarchaeota*), а также у представителей клады SAR11 (*Pelagibacterales*) (*Metcalf et al., 2011; Born et al., 2017*);
     - Гены, кодирующие фермент CP-лиазу, осуществляющую деметилирование MPn, известны у представителей клады SAR11, а также у разнообразных других бактерий и широко распространены в тех областях Мирового Океана, для которых характерно лимитирование по фосфору (*Karl et al., 2008; Sosa et al., 2019*).
2) **Предшественник метана:** ДМСП.
   - **Гидрохимические предпосылки:** лимитирование по азоту (N* ≪ 0) зафиксировано на станции АМК73-6045 над метановым сипом.
   - **Микробиологические предпосылки:** В исследованных нами образцах способность утилизировать ДМСП известна для представителей клад SAR11, SAR86 и рода *Planktomarina* (*Sun et al., 2016; Voget et al., 2015*).

Заключение

В результате нашего исследования выявлены гидрохимические предпосылки и возможные микробные агенты для аэробной продукции метана через деметилирование метилфосфоната и при разложении ДМСП. То есть метан предположительно может продуцироваться *in situ* в аэробных условиях водной толщи моря Лаптевых за счёт РОВ, которое синтезируется в значительном количестве в ходе ПП, ТАУ и МО. Однако, на основании полученных результатов мы не можем оценить вклад процесса аэробного образования метана в формирование общего пула метана в водной толще изученного района моря Лаптевых.

Самылина О.С., Русанов И.И., Тарновецкий И.Ю., Якушев Е.В., Гринько А.А., Захарова Е.Е., Меркель А.Ю., Канапацкий Т.А., Семилетов И.П., Пименов Н.В.
О возможности аэробной продукции метана пелагическими микробными сообществами моря Лаптевых.
Микробиология, 2021.
Т. 90. № 2. С. 131-144.
doi: 10.31857/S0026365621020129

Благодарности:
Авторы выражают искреннюю благодарность Якушеву Е.В. (NIVA), Гринько А.А. (ТПУ), Семилетову И.П. (ТОИ ДВО РАН), сотрудникам ИНМИ РАН Захаровой Е.Е., Меркелю А.Ю. и Канапацкому Т.А., а также команде 73 рейса НИС «Академик Мстислав Келдыш» за предоставленные возможности и всестороннюю помощь при сборе и анализе образцов.

Финансирование: *Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 16-14-10201 и Министерства науки и высшего образования РФ (создание ФИЦ Биотехнологии РАН). Экспедиция на НИС «Академик Мстислав Келдыш» была организована в рамках гранта Правительства Российской Федерации (№14.Z50.31.0012/03/19.2014).*