

Studying the number of ammonium-oxidizing bacteria in bottom sediments of Lake Baikal



Semiguzov N.D.*, Kan G.V., Suslova M.Yu., Belykh O.I.

Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 3 Ulan-Batorskaya Str., Irkutsk, 664033, Russia

ABSTRACT. Using the limiting dilution assay, the number of ammonium-oxidizing bacteria in the bottom sediments of the area of the Baikal Pulp and Paper Mill (BPPM, Southern Baikal) was determined. The maximum number of bacteria under study was determined at the station where treated wastewater from the city of Baikalsk is discharged into the lake.

Keywords: nitrogen, nitrification, ammonium, ammonium-oxidizing bacteria, Lake Baikal

For citation: Semiguzov N.D., Kan G.V., Suslova M.Yu., Belykh O.I. Studying the number of ammonium-oxidizing bacteria in bottom sediments of Lake Baikal // *Limnology and Freshwater Biology*. 2024. - № 4. - P. 1087-1090. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1087

1. Introduction

Nitrogen is one of the main biophilic elements, which is part of the main polymers of any living cell. In the aquatic environment, nitrogen occupies a particularly important position, and often the overall productivity of a reservoir depends on the quantity and nature of its compounds (Golovanova and Stupnikova, 2020). The release of nitrogen-containing compounds into water bodies has a significant impact on water quality, causing excessive growth of phytoplankton and eutrophication. Nitrification is a fundamental process in aquatic ecosystems as it controls the level of nitrogen compounds (Xia et al., 2004).

Ammonium oxidation, like other stages of the nitrogen cycle, is carried out by microorganisms and significantly affects the functioning of biota in water bodies, which indicates the importance of studying the functional group of nitrifying bacteria. The aim of this work is to study the number of ammonium-oxidizing bacteria in bottom sediments of the Baikal pulp and paper mill area (BPPM) in Southern Baikal.

2. Materials and methods

The material for the study was samples of bottom sediments collected in the waters of the city of Baikalsk during an expedition on the R/V Titov in July 2023. A total of 12 samples were collected and analyzed. The study area is characterized by increased technogenic load. Waste from BPPM paper mill, commissioned in

1966, have had and continue to have an adverse impact on the Baikal ecosystem. In addition, the sewage treatment plant of the city of Baikalsk (MUP "KOS BMO") discharges wastewater directly into Baikal at some distance from the shore to a depth of more than 30 m. In 2020, the territorial bodies of Rosprirodnadzor identified technical and technological violations at these treatment plants indicators, as a result of which it was established that insufficiently treated wastewater is being discharged into the lake (App. to the letter of the SB RAS).

The number of ammonium-oxidizing bacteria in the samples was determined by the limiting dilution assay using Winogradsky's liquid medium for phase I (g/L): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - 2$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 1$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0.5$, $\text{NaCl} - 2$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0.4$, $\text{CaCO}_3 - 5$ (Egorov, 1976). After autoclaving, a sterile solution of elements according to Pfennig (1 ml/L of medium) was added to the medium.

Incubation was carried out in a thermostat at +28°C in the dark; bacteria were counted after 30 days. The development of ammonium oxidizers is indicated by the appearance of nitrites in the environment. A qualitative reaction to nitrites was carried out using the Griess reagent.

3. Results and discussion

The number of ammonium-oxidizing bacteria in the study area varied from 0 to 41.2 cells/g of bottom sediments. The highest abundance was detected at sta-

*Corresponding author.

E-mail address: nazarsemiguzov@gmail.com (N.D. Semiguzov)

Received: July 23, 2024; **Accepted:** August 16, 2024;

Available online: August 30, 2024

© Author(s) 2024. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



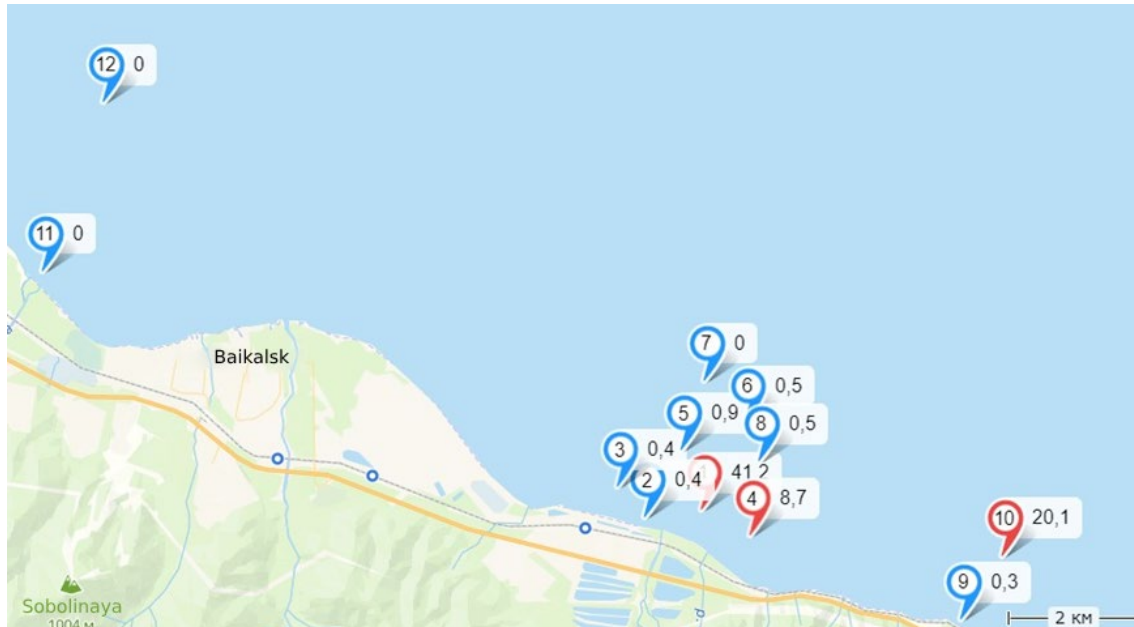


Fig. Map of sampling stations with indicated numbers of ammonium-oxidizing bacteria (cells/g).

tion 1, located directly at the outlet of treated wastewater from the pipe of the treatment plant. Also, increased values were found at stations 10 and 4 - 20.1 and 8.7 cells/g, respectively, which is due to the action of the alongshore current, which picks up treated wastewater coming from the pipe into the water area of Baikalsk, and carries it towards Solzan (Fig.).

4. Conclusions

Thus, the number of ammonium-oxidizing bacteria in the bottom sediments of BPPM area was determined. In the future, the isolation of DNA from enrichment cultures and the amplification of functional genes responsible for the oxidation of ammonium to nitrite will be of scientific interest.

Acknowledgements

The work was carried out within the framework of the topic of state assignment No. 0279-2021-0015 (121032300269-9).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Golovaneva A.E., Stupnikova N.A. 2020. Microbiological transformation of nitrogen in Lake Khalaktyskoye (Kamchatka Territory). *International Journal of Scientific Research* 96(8): 38–44. (in Russian)
- Egorov N.S. 1976. Workshop on microbiology. Moscow: Publishing house Moscow state university: 307. (in Russian)
- Appendix 1 to the letter of the SB RAS dated 08/05/2021 No. 15001-15237-2115.4/218.
- Xia X.H., Yang Z.F., Huang G.H. et al. 2004. Nitrification in natural waters with high suspended-solid content. A study for the Yellow River. *Chemosphere* 57 (8): 1017–1029. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2004.08.027](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.08.027)

Изучение численности аммоний-окисляющих бактерий в донных осадках озера Байкал

Краткое сообщение

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Семигузов Н.Д.*, Кан Г.В., Сулова М.Ю., Белых О.И.

Лимнологический институт Сибирского Отделения Российской Академии Наук, ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. С помощью метода предельных разведений определена численность аммоний-окисляющих бактерий в донных осадках района Байкальского целлюлозно-бумажного комбината (БЦБК, Южный Байкал). Максимальная численность исследуемых бактерий определена на станции, где в озеро осуществляется сброс очищенных сточных вод г. Байкальск.

Ключевые слова: азот, нитрификация, аммоний, аммоний-окисляющие бактерии, озеро Байкал

Для цитирования: Семигузов Н.Д., Кан Г.В., Сулова М.Ю., Белых О.И. Изучение численности аммоний-окисляющих бактерий в донных осадках озера Байкал // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 1087-1090. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1087

1. Введение

Азот – один из главных биофильных элементов, который входит в состав основных полимеров любой живой клетки. В водной среде азот занимает особенно важное положение, и зачастую, от количества и характера его соединений зависит общая продуктивность водоема (Голованева и Ступникова, 2020). Поступление азотсодержащих соединений в водоемы оказывает значительное воздействие на качество воды, вызывая чрезмерный рост фитопланктона и эвтрофикацию. Нитрификация является фундаментальным процессом в водных экосистемах, так как контролирует уровень азотистых соединений (Xia et al., 2004).

Окисление аммония, как и другие этапы круговорота азота, проводится микроорганизмами и значительно влияет на функционирование биоты в водоемах, что говорит о важности исследования функциональной группы бактерий нитрификаторов. Цель настоящей работы – исследовать численность аммоний-окисляющих бактерий в донных осадках района Байкальского целлюлозно-бумажного комбината (БЦБК) Южного Байкала.

2. Материалы и методы

Материалом для исследования послужили пробы донных осадков, отобранные в акватории г. Байкальск в ходе экспедиции на НИС «Титов» в

июле 2023 г. Всего отобрано и проанализировано 12 проб. Исследуемый район характеризуется повышенной техногенной нагрузкой. Отходы БЦБК, запущенного в эксплуатацию в 1966 г., оказывали и оказывают неблагоприятное влияние на экосистему Байкала. Кроме того, канализационные очистные сооружения г. Байкальска (МУП «КОС БМО») осуществляют сброс сточных вод непосредственно в Байкал на некотором расстоянии от берега на глубину более 30 м. В 2020 г. территориальными органами Росприроднадзора на данных очистных сооружениях выявлены нарушения технических и технологических показателей, в следствие чего установлено, что осуществляется сброс недостаточно очищенных сточных вод в озеро (Прил. к письму СО РАН).

Численность аммоний-окисляющих бактерий в пробах определяли методом предельных разведений, используя жидкую среду Виноградского для I фазы (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - 2 \text{ г}$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 1 \text{ г}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,5 \text{ г}$, $\text{NaCl} - 2 \text{ г}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,4 \text{ г}$, $\text{CaCO}_3 - 5 \text{ г}$ (Егоров, 1976). После автоклавирования в среду добавляли стерильный раствор элементов по Пфеннигу (1мл/л среды).

Инкубацию проводили в термостате при $+28^\circ\text{C}$ в темноте, учет бактерий осуществляли через 30 суток. О развитии аммоний-окислителей свидетельствует появление в среде нитритов. Качественную реакцию на нитриты осуществляли с помощью реактива Грисса.

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: nazarsemiguzov@gmail.com (Н.Д. Семигузов)

Поступила: 23 июля 2024; Принята: 16 августа 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

© Автор(ы) 2024. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



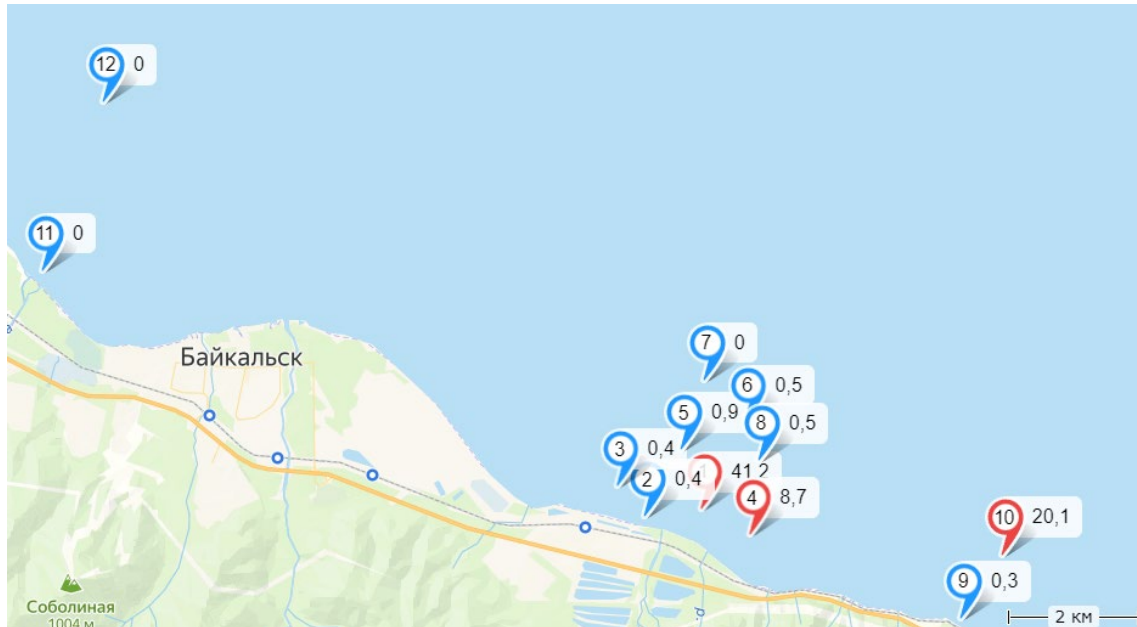


Рис. Карта станций отбора проб с обозначенной численностью аммоний-окисляющих бактерий (к/г).

3. Результаты и обсуждение

Численность аммоний-окисляющих бактерий в исследуемом районе варьировала от 0 до 41,2 к/г донных осадков. Наибольшее значение численности детектировали на станции 1, расположенной непосредственно на выходе очищенных сточных вод из трубы очистного сооружения. Также повышенные значения обнаружены на станциях 10 и 4 – 20,1 и 8,7 к/г соответственно, что обусловлено действием вдоль берегового течения, которое подхватывает очищенные сточные воды, поступающие в акваторию г. Байкальска, и несет их в сторону Солзана (Рис.). В ходе работы получено 12 накопительных культур.

4. Выводы

Таким образом, определена численность аммоний-окисляющих бактерий в донных осадках района Байкальского ЦБК. В дальнейшем научный интерес представляет выделение ДНК накопительных культур, амплификация функциональных генов, ответственных за окисление аммония до нитрита.

Благодарности

Работа выполнена в рамках темы государственного задания № 0279-2021-0015 (121032300269-9).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Голованева А.Е., Ступникова Н.А. 2020. Микробиологическая трансформация азота в озере Халактыском (Камчатский край). *Международный научно-исследовательский журнал*: 96 (8): 38–44.
- Егоров Н.С. 1976. *Практикум по микробиологии*. Москва: Изд-во МГУ: 307.
- Приложение 1 к письму СО РАН от 05.08.2021 № 15001-15237-2115.4/218.
- Xia X.H., Yang Z.F., Huang G.H. et al. 2004. Nitrification in natural waters with high suspended-solid content. A study for the Yellow River. *Chemosphere* 57 (8): 1017–1029. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2004.08.027](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.08.027)