
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ**

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРЕХ СТРАТИФИЦИРОВАННЫХ ОЗЕР НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2023 г. В. М. Горленко^а, *, М. Б. Вайнштейн^б

^аИнститут микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, 119071 Россия

^бИнститут биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, ФИЦ Пушкинский научный центр биологических исследований РАН, Пушкино, Московская обл., 142290 Россия

*e-mail: vgorlenko@mail.ru

Поступила в редакцию 20.10.2022 г.

После доработки 07.11.2022 г.

Принята к публикации 08.11.2022 г.

Были исследованы три карстовых озера в Нижегородской области: Старопустыньские озера Свято и Залив Некрасова, а также оз. Светлояр. Изученные озера относятся к мезотрофно-эвтрофному полигумозному типу, отличаются устойчивой стратификацией с признаками меромиксии. Их водная толща разделена на аэробную и анаэробную зоны, придонная вода содержит сульфид. В Старопустыньских озерах также присутствовали соединения Fe(II). В оз. Залив Некрасова в миксолимнионе отмечены высокая скорость окисленного фотосинтеза, до $1.2 \text{ мкг С л}^{-1} \text{ сут}^{-1}$, а также максимум аноксигенного фотосинтеза в хемоклине ($0.030\text{--}0.706 \text{ мкг С л}^{-1} \text{ сут}^{-1}$) на глубине 1.5–2.5 м. Пик темновой ассимиляции углекислоты ($0.146 \text{ мкг С л}^{-1} \text{ сут}^{-1}$) приходился на глубину 1.5 м в зоне оксиклина. В озерах Залив Некрасова и Свято на границе проникновения света обнаружены аноксигенные фототрофные бактерии (АФБ). Преобладали зеленые серобактерии с короткими клеточными выростами – “*Ancalochloris* sp.”. Встречались также консорциумы “*Chlorochromium aggregatum*” и нитчатые хлоробактерии “*Chloronema giganteum*”, в чехлах которых накапливаются соли окисного железа. В Старопустыньских озерах различные морфотипы железобактерий образовывали скопления в микроаэробной зоне. В оз. Светлояр хемоклин находился на глубине 16 м за пределами фотической зоны, поэтому условий для развития АФБ не было. В этих условиях в исследованных озерах основную роль в аэробном окислении серных соединений в зоне хемоклина играли гетеротрофные аэробные бактерии.

Ключевые слова: стратифицированные карстовые озера, круговорот серы и железа, аноксигенные фототрофные бактерии, сероокисляющие гетеротрофные бактерии, железобактерии

DOI: 10.31857/S0026365622600699, **EDN:** AUNIAU

Пресные озера карстового происхождения характеризуются повышенным содержанием солей, что способствует возникновению стратификации их водной толщи по плотности, приводящей к меромиксии (Gorlenko et al., 1983; Van Gemerden, Mas, 1995; Рогозин, 2019). Если озеро образовалось в гипсоносных породах, то в результате бактериального восстановления сульфатов образуется сероводород. Его окисление осуществляется преимущественно биологическим путем в зоне контакта сероводородных и кислородных вод (Hamilton et al., 2014). В зависимости от условий (степени эвтрофикации водоема, цветности воды, глубины распространения миксолимниона, глубины проникновения света и концентраций H_2S в мониолимнионе и значений pH), в окислении сероводорода принимают участие различные виды аноксигенных фототрофных бактерий (АФБ), а также автотрофные и гетеротрофные сероокисляющие

бактерии (Вайнштейн, 1979; Gorlenko et al., 1983; Gorlenko, 1988; Сорокин, 2003).

В озерах, обогащенных гуматами, в анаэробной зоне происходит аккумуляция соединений закисного железа Fe(II). Повышенное содержание железа существенно влияет на локализацию и ход процессов круговорота серы и железа в их сопряженных циклах (Горленко, Локк, 1979; Горленко и соавт., 1980; Bura-Nakic et al., 2009; Crowe et al., 2014; Дубинина, Сорокина, 2014; Savvichev et al., 2017). Современные стратифицированные озера с одновременным присутствием сульфида и солей железа принято рассматривать как модели древнего океана Архея и Протерозоя (Canfield et al., 2008; Poulton, Canfield, 2011; Walter et al., 2014). Интерес к озерам, содержащим значительные концентрации Fe(II), в эволюционном аспекте возрос после открытия способности некоторых видов пурпурных и зеленых бактерий к использо-

ванию солей закисного железа в качестве доноров электронов для фотосинтеза (Widdel et al., 1993; Heising et al., 1999; Straub et al., 1999; Crowe et al., 2014; Walter et al., 2014; Lambrecht et al., 2021).

В этом плане несомненный интерес представляют исследованные нами в 1974 г. карстовые озера Нижегородской области, два из которых кроме сульфида содержат в мнимомолибдате закисное железо. В настоящей статье представлены сведения о гидрохимии, продукционных процессах и распределении ключевых групп бактерий, способных участвовать в круговороте серы и железа в исследованных водоемах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Озера. Изученные карстовые озера Залив Некрасова и Свято образованы в результате размыва известняков Казанского яруса с многочисленными мощными прослоями гипса и ангидрита. В отношении происхождения оз. Светлояр существует ряд различных гипотез, но большинство исследователей относят его к провальным озерам карстового типа (Баянов, Никишин, 2005). Наши гидрохимические данные подтвердили устойчивую стратификацию оз. Светлояр на основе его карстового происхождения. Исследованные нами озера различались глубиной ложа, гидрохимическими показателями и, как следствие, микрофлорой, ее распределением и интенсивностью микробных процессов.

Озера Залив Некрасова и Свято находятся на юге Нижегородской области в долине реки Теши, они входят в систему Старопустыньских озер неподалеку от поселка Старая Пустынь (55°40'38" с.ш., 43°34'14" в.д.).

Оз. Залив Некрасова является плесом, отделившимся от оз. Великого и соединенным с ним узкой и неглубокой (до 2 м) протокой, имеет малую площадь (1 га) и максимальную глубину 9 м. Озеро защищено от ветров лесом, с берегов поступает болотный подток. Цветность поверхностных вод озера была высокой: XX баллов по шкале Фореля–Уля. Прозрачность по диску Секки в период исследования составляла всего 1.25 м.

Оз. Свято имеет площадь около 15 га и максимальную глубину 12 м. Оно окружено болотистыми берегами, в период наших исследований вода имела высокую цветность: более XXI балла по шкале Фореля–Уля. Прозрачность воды по диску Секки составляла в июне–июле всего 1.5 м.

Оз. Светлояр находится в северной части Нижегородской области (56°49'07" с.ш., 45°05'35" в.д.), в карбонатной карстовой провинции вблизи села Владимирского Воскресенского района. Оно является самым глубоким озером Нижегородской области: площадь около 12 га, наибольшая глубина – 31 м (Баянов, Никишин, 2005). Берега боло-

тистые, цветность воды по шкале Фореля–Уля в период наших исследований составила XVI. Прозрачность по диску Секки в период исследования составила 3.0 м.

Отбор проб, химические и микробиологические анализы. Пробы воды отбирали батометром Рутнера, а в зоне хемоклина – шприцевым батометром. Шприцевой батометр представлял собой 4 стерильных шприца объемом 50 мл, закрепленные на жесткой раме, что обеспечивало отбор проб воды в горизонтах с фиксированным промежутком в 25 см. Пробы ила отбирали трубочным стратометром диаметром 30 мм.

Интенсивность освещения на разных глубинах измеряли люксметром с подводным датчиком (Горленко и соавт., 1980). Температуру определяли по показаниям ртутного термометра, укрепленного внутри прозрачного корпуса батометра. Измерения pH и Eh проводили стандартными электродами на иономере И-102 в свежетобранной пробе воды. Величины pH и Eh в донных осадках измеряли непосредственно в трубке стратометра. Содержание кислорода в воде определяли методом Винклера, содержание сульфидов – иодометрическим титрованием. Концентрацию карбонатных форм углерода определяли ацидометрическим титрованием с использованием индикаторов pH метилового оранжевого и фенолфталеина (Кузнецов, Дубинина, 1989).

Перманганатную окисляемость определяли стандартным методом (Алекин и соавт., 1973). В коническую колбу вносили 100 мл испытуемой воды, приливали 5 мл разбавленной серной кислоты и 20 мл 0.01 N раствора перманганата. Смесь кипятили 10 мин, после чего к раствору добавляли 20 мл 0.01 N раствора щавелевой кислоты. Обесцвеченную, еще горячую (80–90°C) смесь титровали 0.01 N раствором перманганата до слабо-розовой окраски. Значение перманганатной окисляемости (X), выраженное в расчете на атомарный кислород в мг O₂/л, рассчитывали по формуле: $X = (V_1 C \times 8 \times 5 \times 1000 K_p) : V$, где: V_1 – объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование исследуемой пробы, мл; C – концентрация раствора перманганата калия, равная 0.002 моль/л; V – объем пробы, взятой для анализа, мл; K_p – коэффициент разбавления пробы; 8 – атомная масса кислорода; 5 – стехиометрический коэффициент.

Интенсивность фотосинтеза, темновой фиксации углекислоты, внеклеточную первичную продукцию, а также коэффициент К_т, характеризующий зависимость интенсивности фотосинтеза от подводной освещенности, определяли радиоуглеродным методом в соответствии со стандартной техникой (Sorokin, Kadota, 1972; Кузнецов, Дубинина, 1989). Радиоактивную метку в форме NaH¹⁴CO₃ (10 мкКи на пробу) вносили в пробы воды в гер-

метично закрытых флаконах объемом 50 мл. Темновой вариант флаконов помещали в светонепроницаемые мешки. Незатемненный и темновой варианты проб экспонировали в озере *in situ*, размещая флаконы на соответствующих глубинах. В отдельные пробы перед экспозицией добавляли в конечной концентрации 10^{-7} мМ 3-(3,4-дихлорфенил)-1,1-диметилмочевину (DCMU) в качестве ингибитора окислительного фотосинтеза. В этих пробах фотосинтез мог проходить только за счет аноксигенного фотосинтеза. После 1-суточной экспозиции пробы фиксировали 40% формалином (1 мл на 100 мл пробы). После фиксации пробы фильтровали через мембранные фильтры "Сынпор" (Чехословакия) с диаметром пор 0.2 мкм. Фильтры обрабатывали слабым раствором HCl, что позволяло избавиться от остаточного $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$. Радиоактивность фильтров соответствовала включению ^{14}C в клетки микроорганизмов, оставшихся на фильтрах. Радиоактивность подкисленного фильтрата соответствовала включению радиоактивного углерода во внеклеточную продукцию – растворенное органическое вещество. Ее измеряли после высушивания аликвоты фильтрата на подложке при температуре 50–60°C. Фотосинтетическую продукцию рассчитывали как разницу между темными и светлыми флаконами. Продукцию окислительного фотосинтеза рассчитывали за вычетом аноксигенного фотосинтеза, определенного в светлых флаконах с добавлением DSMU.

Общее количество бактерий подсчитывали под микроскопом с объективом $\times 100$ прямым счетом на мембранных фильтрах (диаметр пор 0.2 мкм) после их окраски эритрозином.

Среди бактерий, участвующих в трансформации соединений серы и железа, выявляли следующие специализированные группы: фототрофные зеленые и пурпурные серобактерии, сульфатредуцирующие, нефотосинтезирующие сероокисляющие автотрофные ("тионовые"), сероокисляющие гетеротрофные бактерии и железобактерии. Фототрофные бактерии, железобактерии и бесцветные серобактерии подсчитывали на неокрашенных фильтрах при микроскопировании в отраженном свете (Кузнецов, Дубинина, 1989), а их принадлежность к группам ориентировочно определяли по морфологическим признакам. Для железобактерий показателем, помимо морфологии, служила отмечаемая при микроскопии орудненность клеток. Относительную численность пурпурных и зеленых серобактерий, нефотосинтезирующих сероокисляющих, а также сульфатредуцирующих бактерий учитывали методом серийных разведений на селективных средах. АФБ учитывали на модифицированной среде Пфеннига (Горленко и соавт., 1980). Сульфатредуцирующие бактерии (СРБ) учитывали на модифицированной среде

Постгейта с лактатом, что позволяло учитывать СРБ с неполным и полным окислением органического субстрата (Widdel, Pfennig, 1981). Автотрофные сероокисляющие бактерии (тионовые), окисляющие тиосульфат, выявляли на среде Баллсруда с нейтральной величиной рН в аэробных и анаэробных условиях с нитратом в качестве акцептора электронов; гетеротрофные бактерии, окисляющие тиосульфат, учитывали по росту на среде Лондона с дрожжевым экстрактом и способности при пересеве расти на рыбо-пептонном агаре (РПА) (Вайнштейн, 1979). Способность к окислению сероводорода у выделенных в культуры гетеротрофных бактерий определяли в лабораторных экспериментах на аппарате Варбурга (Вайнштейн, 1977) в сравнении с культурами автотрофных сероокисляющих (тионовых) бактерий *Thiomonas intermedia* и *Thiobacillus thioparus*, полученными из рабочей коллекции лаборатории водной микробиологии Института биологии внутренних вод РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полевые исследования проводили в конце июня и в начале июля 1974 г. в наиболее глубоких точках водоемов. Гидрохимические характеристики и распределение микроорганизмов во всех озерах выявили отчетливую зональность водной толщи.

Оз. Залив Некрасова. Зона температурного скачка в период исследования простиралась от 1 до 3 м, однако кислород в воде исчезал уже на глубине 2 м, а следы сероводорода обнаруживались на глубине 1.75 м от поверхности. С этой же глубины происходило резкое падение величины окислительно-восстановительного потенциала (рис. 1а, 1б). В эпилимнионе рН был 7.5, а в мономимнионе повышался до 8.3. В неперемешиваемой анаэробной зоне концентрировалась взвесь гидрата окиси железа, оседавшая вместе с орудненными клетками железобактерий. Из-за избытка железа практически весь сероводород находился в виде сульфида железа. Взвесь сульфида железа оседала, его концентрация в воде была неравномерной и составляла у дна 3 мг S^{2-} /л. В августе 1978 г. содержание сульфида возрастало до 4 мг/л при концентрации Fe(II) и Mn(II) 6 и 2 мг/л соответственно (Лаптева и соавт., 1985).

Как видно на рис. 1в, в водоеме отмечена высокая (до $1.2 \text{ мг С л}^{-1} \text{ сут}^{-1}$) скорость фотосинтеза, обусловленная развитием цианобактерий и водорослей до глубины 1.5 м. Пик аноксигенного фотосинтеза ($706 \text{ мкг С л}^{-1} \text{ сут}^{-1}$) был зарегистрирован на глубине 1.5–2.5 м. Внеклеточная продукция фототрофных бактерий составляла 12.5% от клеточной. Пик темновой ассимиляции углекислоты ($146 \text{ мкг С л}^{-1} \text{ сут}^{-1}$) приходился на границу анаэ-

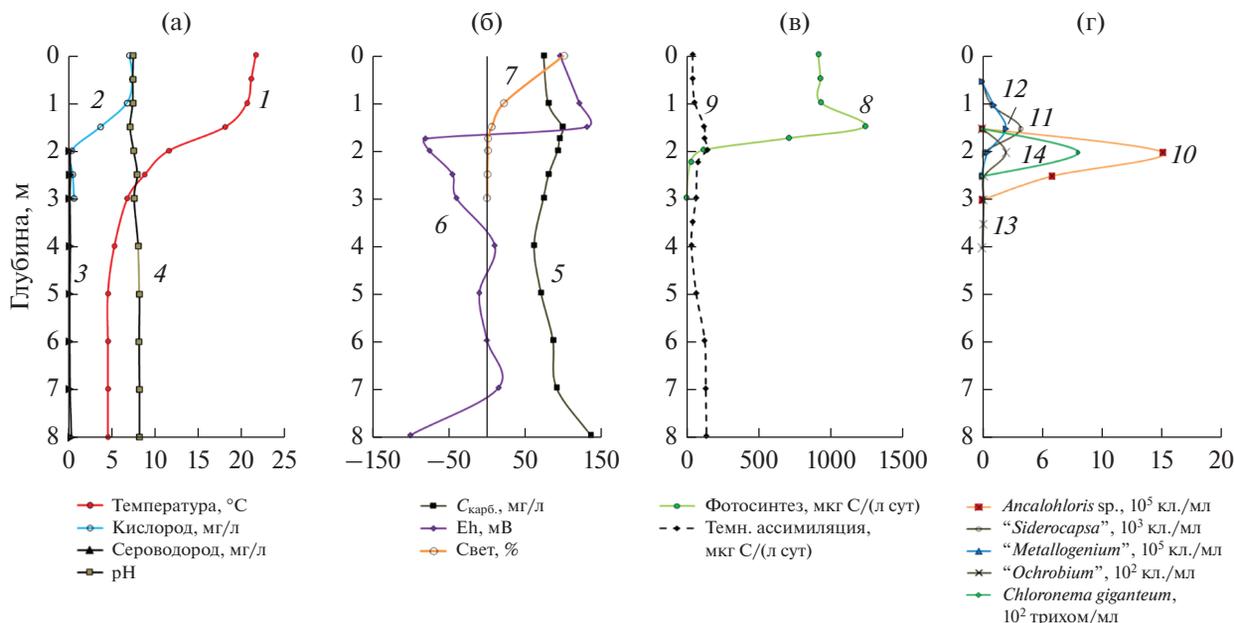


Рис. 1. Гидрохимические характеристики и распределение продукционных процессов и микроорганизмов в водной толще оз. Залив Некрасова. По вертикальной оси – глубина, м. По горизонтальной оси: (а): 1 – температура, °С; 2 – кислород, мг/л; 3 – сероводород, мг/л; 4 – рН; (б): 5 – содержание карбонатов, мг/л; 6 – Eh, мВ; 7 – свет, %; (в): 8 – фотосинтез, мкг С/(л сут); 9 – темновая ассимиляция углерода, мкг С/(л сут); (г): численность бактерий: 10 – *Ancalochloris* sp., 10⁵ кл./мл; 11 – *Siderocapsa*, 10³ кл./мл; 12 – *Metallogenium*, 10⁵ кл./мл; 13 – *Ochrobium*, 10⁵ кл./мл; 14 – *Chloronema giganteum*, 10² трихом/мл.

робной зоны и, вероятно, был обусловлен возрастанием на этом горизонте общей численности микроорганизмов (рис. 1в).

Несмотря на отсутствие свободного сероводорода в воде, на границе мнимоминимума от 1.75 до 2.00 м происходило интенсивное развитие зеленых серобактерий с короткими простеками – *Ancalochloris* sp. – до 1.5×10^6 кл./мл. В меньшем количестве присутствовали агрегированные зеленые бактерии *Chlorobium luteolum* (прежнее название *Pelodictyon luteolum*) и симбиотические консорциумы *Chlorochromatium aggregatum*, нитчатые хлоробактерии *Chloronema giganteum*, а также пурпурные бактерии *Thiocapsa rosea* (прежнее название *Amoebobacter roseus*) (рис. 1г). На верхней границе хемоклина найдены бесцветные серобактерии морфотипов *Macromonas bipunctata* и *Thiospira* sp., а также выявленные на среде Лондона гетеротрофные сероокисляющие бактерии (прежнее название *Thiobacillus trautweini*), у которых окисление тиосульфата сопровождалось подщелачиванием среды. Такое подщелачивание характерно при окислении тиосульфата не до сульфата, а до тетрагидратата и высших полигидрататов (Hutt, 2017). По морфологическим и физиологическим признакам выделенная нами из воды озера культура *Thiobacillus trautweini* соответствовала псевдомонадам (хемогетеротрофные грамотрицательные бесспорные палочки с одним полярным жгутиком, в среде с нитратами микроорганизм

был способен к анаэробному росту). Было обнаружено, что на среде РПА рост выделенных микроорганизмов происходил с образованием мелких матовых колоний, а на среде Лондона рост с образованием мелких бесцветных, росинчатых колоний.

В микроаэробной зоне хемоклина с концентрацией кислорода около 4 мг/л происходило значительное развитие железобактерий морфотипов *Metallogenium* и *Siderocapsa*. Железобактерии *Ochrobium tectum* и хлоробактерии *Chloronema giganteum* с умеренно ожелезненным чехлом размещались на границе анаэробной и микроаэробной зоны с концентрацией кислорода 0.0–0.4 мг/л (рис. 1г).

Оз. Свято. В конце июня и начале июля 1974 г. наблюдалось резкое падение температуры в толще воды от поверхности до глубины 4 м. Далее уменьшение температуры шло плавно, и с 6.5 м она оставалась неизменной, составляя 4.6°C (рис. 2а). Кислород присутствовал до глубины 6.5 м, при этом его концентрация не снижалась равномерно, но были отмечены три пика: у поверхности (8.16 мг/л) и на глубинах 1.5 и 4.5 м (6.80 и 4.00 мг/л соответственно). В интервале от 5 до 7 м вода содержала кислород и сероводород одновременно. Содержание сульфида у дна достигало 3.4 мг/л. К концу лета содержание сульфида у дна увеличивалось до 11 мг/л, а содержание Fe(II) до 25 мг/л в присутствии 10 мг Mn(II)/л (Лаптева и соавт.,

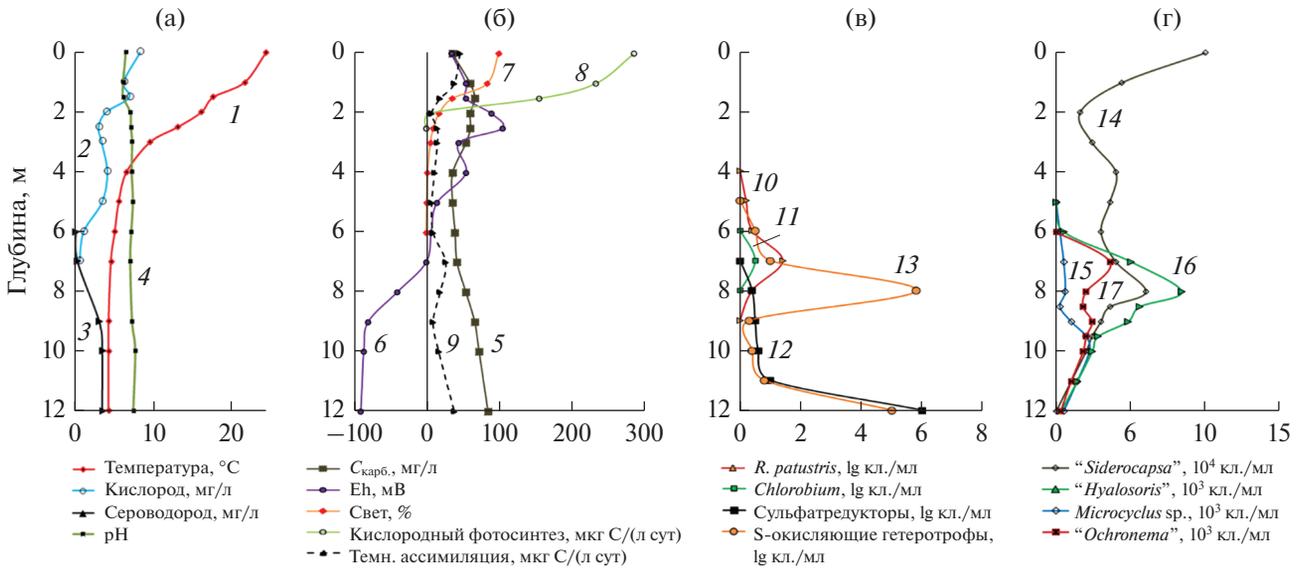


Рис. 2. Гидрохимические характеристики и распределение микроорганизмов в водной толще оз. Свято. По вертикальной оси — глубина, м. По горизонтальной оси: (а): 1 — температура, °С; 2 — кислород, мг/л; 3 — сероводород, мг/л; 4 — рН; (б): 5 — содержание карбонатов, мг/л; 6 — Eh, мВ; 7 — свет, %; 8 — фотосинтез, мкг С л⁻¹ сут⁻¹; 9 — темновая ассимиляция углерода, мкг С/(л сут); (в): численность бактерий: 10 — *R. palustris*, lg кл./мл; 11 — *Chlorobium* sp., lg кл./мл; 12 — сульфатредуцирующие бактерии, lg кл./мл; 13 — сероокисляющие гетеротрофные бактерии, lg кл./мл; (г): численность бактерий: 14 — “*Siderocapsa*”, 10⁴ кл./мл; 15 — *Microcyclus* sp., 10³ кл./мл; 16 — “*Hyalosoris*”, 10³ кл./мл; 17 — “*Ochronema*”, 10³ нитей/мл.

1985). Окислительно-восстановительный потенциал в период наших исследований имел отрицательные значения в анаэробной зоне от 7 м до дна, величина рН повышалась в нижележащих горизонтах до нейтральных и слабощелочных значений (рис. 2а, 2б). Связанная и свободная углекислота в вертикальном распределении имела два пика: в зоне угасания фотосинтеза и у дна (рис. 2б).

Интенсивность фотосинтеза была максимальной у поверхности (286 мкг С л⁻¹ сут⁻¹) и плавно убывала до полного отсутствия на глубине 2.5 м (рис. 2б). Основными первичными продуцентами в исследованный период были диатомеи и одноклеточные цианобактерии. Проникающий в водную толщу свет в середине лета не достигал границы сероводородной зоны, поэтому бактериальный фотосинтез здесь не был зарегистрирован. Из проб этой зоны на элективных средах были обнаружены лишь единичные палочковидные зеленые серобактерии, характерные для некоторых видов рода *Chlorobium*, а также несерные пурпурные бактерии, морфологически сходные с *R. palustris* (50 кл./мл).

Основной группой бактерий, хемотрофно окисляющих сульфид, как и в оз. Свято, в июне–июле 1974 г. были гетеротрофные бактерии, не способные к автотрофному росту на среде Баалсруда по типу классических тионовых (с подкислением среды за счет образования сульфатов и/или внеклеточным отложением элементной серы), но росшие на среде Лондона с окислением тиосульфата с защелачиванием среды, что харак-

терно при образовании полиитионатов. Характеристики выделенной культуры полностью совпадали с приведенными выше для псевдомонад “*Thiobacillus trautweini*”, выделенным из воды оз. Залив Некрасова. Численность этих бактерий в оз. Свято была наивысшей — около 100×10^3 кл./мл — в зоне совместного присутствия H₂S и O₂ на глубине 7–8 м и в иловых отложениях (рис. 2в).

Низкая концентрация сероводорода в молимонии оз. Свято объясняется незначительной численностью сульфатредуцирующих бактерий: в водной толще их обнаружили в количестве не более 10 кл./мл. Однако в поверхностном слое ила численность сульфатредукторов была выше и составляла примерно 100×10^3 кл./см³.

Поверхностные воды оз. Свято содержат гумусовые комплексы железа. Таким образом, на верхней границе анаэробной зоны создаются благоприятные условия для развития железобактерий. По данным микроскопии в процессах окисления железа доминировали бактерии морфотипа “*Siderocapsa*” (рис. 2г). Численность этих железобактерий образовывала три пика в вертикальном распределении: у поверхности, на уровне температурного скачка и на верхней границе анаэробной зоны.

Другой группой железобактерий, численность которых достигала 32×10^3 нитей/мл, были представители “*Ochronema*”, при этом слизистые чехлы клеток были значительно оруднены, а в зоне контакта аэробной и анаэробной зон можно было

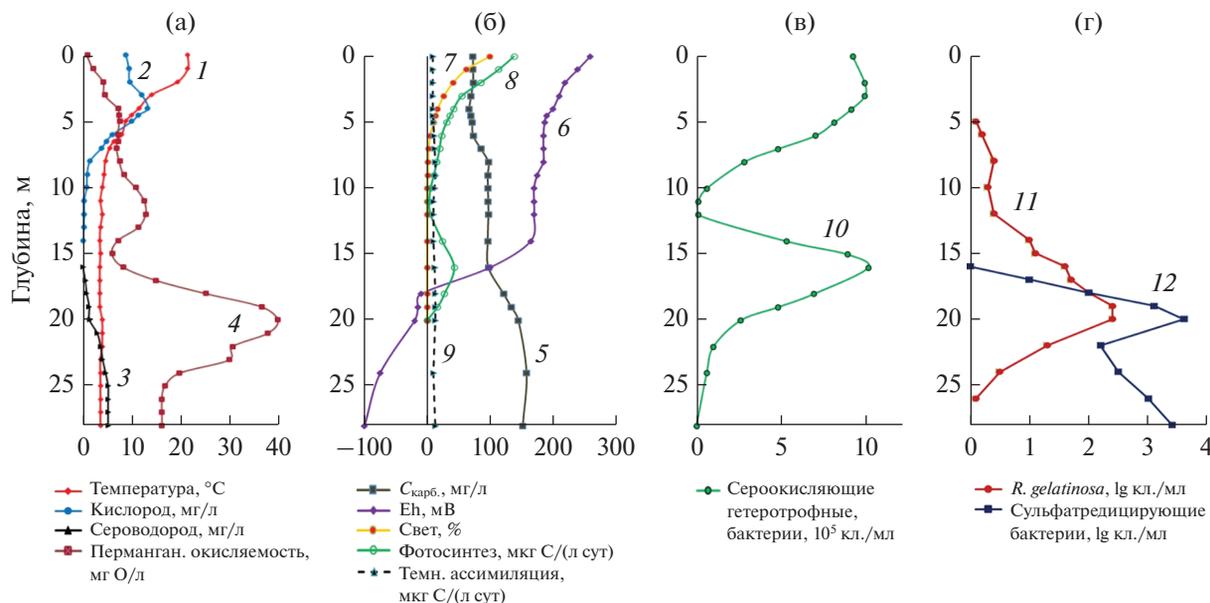


Рис. 3. Гидрохимические характеристики и распределение продукционных процессов и микроорганизмов в водной толще оз. Светлояр. По вертикальной оси – глубина, м. По горизонтальной оси: (а) 1 – температура, °С; 2 – кислород, мг/л; 3 – сероводород, мг/л; 4 – перманганатная окисляемость, мг О/л; (б) 5 – содержание карбонатов, мг/л; 6 – Eh, мВ; 7 – свет, %; 8 – фотосинтез, мкг С/(л сут); 9 – темновая ассимиляция углерода, мкг С/(л сут); (в): 10 – численность сероокисляющих гетеротрофных бактерий, 10⁵ кл./мл; (г): численность бактерий: 11 – *R. gelatinosa*, lg кл./мл; 12 – сульфатредуцирующие бактерии, lg кл./мл.

наблюдать “выползание” нитей из сильно орудненных чехлов. В целом развитие бактерий “*Ochronema*” было приурочено к микроаэробной зоне (рис. 2г). В миксолимнионе были также обнаружены железобактерии “*Spirothrix pseudovaculata*”.

Кроме железобактерий в микроаэрофильных условиях концентрировались одноклеточные кокковидные бактерии с газовыми вакуолями, сходные с “*Hyalosiris*” и “*Plectonema*”. У этой группы бактерий отложение окисного железа в слизистых капсулах не наблюдали. Две другие группы бактерий с газовыми вакуолями, не относящиеся к железобактериям и морфологически сходные с *Microcycilus* и “*Pelonema*”, обнаружили максимумы численности в анаэробной зоне водной толщи (рис. 2г).

Оз. Светлояр. В середине лета 1974 г. свет в водоем проникал до глубины 10 м при прозрачности по диску Секки 3 м, температурный перепад был хорошо выражен и располагался на глубине от 2 до 10 м (рис. 3а, табл. 1). Температура воды гипolimниона составляла 4°С. Кислородная зона распространялась от поверхности до 14 м, при этом максимум содержания O₂ находился на глубине 4 м и совпал с верхней границей температурного скачка. От 14 до 16 м простиралась зона, не содержащая ни кислорода, ни сероводорода. Следы H₂S появлялись ниже, и его концентрация увеличивалась ко дну до 5 мг/л. Резкое снижение окис-

лительно-восстановительного потенциала в воде совпадало с появлением сульфида, достигая в придонной области величины Eh –100 мВ. Содержание карбонатных форм углерода в сульфидсодержащей зоне почти вдвое превышало их концентрации в верхних водных горизонтах. Значения рН в эуфотической зоне колебались от 7.5 до 8.2, в свободной от H₂S зоне гипolimниона были близки 7.0, а в ее сероводородной части – 7.5.

В соответствии со световыми условиями значительный фотосинтез водорослей зарегистрирован до глубины 10 м с максимумом 150 мкг С л⁻¹ сут⁻¹ у поверхности (рис. 3б). Небольшое увеличение фотосинтеза обнаружено также в бескислородной зоне. Добавление в пробы ингибитора второй системы фотосинтеза диурона полностью подавляло световую фиксацию углекислоты. На этом основании сделан вывод, что на глубине 16 м локально происходит, хотя и с небольшой интенсивностью, кислородный фотосинтез. При микроскопии отобранных проб здесь обнаружены одноклеточные цианобактерии. Таким образом, образование кислорода без его существенного накопления происходило и в формально бескислородной зоне. В целом первичная продукция в оз. Светлояр синтезировалась преимущественно в зоне миксолимниона и на границе металимниона.

Перманганатная окисляемость, суммарно регистрирующая как легко окисляемое органическое вещество, так и восстановленные минераль-

Таблица 1. Сравнительная характеристика условий, численности фототрофных, железо и сульфид-окисляющих бактерий в Старопустыньских озерах в летний период (1974 г. — наши данные; 1978 г. — по: Лаптева и соавт., 1985)

Характеристики	Оз. Залив Некрасова		Оз. Свято	
	Июнь 1974	Август 1978	Июнь 1974	Август 1978
Период исследований				
Верхняя граница анаэробной зоны, м	1.75	2.00	6.50	2.00
Прозрачность по диску Секки, м	1.0	1.0	1.2	1.0
Сульфид у дна, мг/л	3.0	4.0	3.6	12.0
Содержание Fe(II), мг/л	0.0	6.0	0.0	25.0
Содержание Mn(II), мг/л	0.0	1.2	0.0	10.0
“ <i>Ancalochloris perfilevii</i> ”, кл./мл	1.5×10^6	0.5×10^6	0.0	6×10^3
“ <i>Ancalochloris</i> sp.”, кл./мл	>10	0.0	0.0	3.3×10^5
<i>Chlorobium luteolum</i> (ранее <i>P. luteolum</i>), кл./мл	>10	>10	0.0	5×10^5
“ <i>Chlorochromatium aggregatum</i> ”, кл./мл	>10	2×10^6	0.0	0.0
“ <i>Chloronema giganteum</i> ”, трихомы/мл	8×10^2	2×10^4	0.0	>10
<i>Thiocapsa rosea</i> , кл./мл	>10	0.0	0.0	0.0
Сульфид/тиосульфат-окисляющие гетеротрофные бактерии, кл./мл	>10	0.0	1×10^5	0.0
<i>Arthrobacter</i> sp., кл./мл	4.5×10^3	8×10^4	0.0	7×10^4
“ <i>Ochrobium tectum</i> ”, кл./мл	2×10^5	8.5×10^4	0.0	3×10^4
“ <i>Siderococcus limoniticus</i> ”, кл./мл	>10	>10	>10	>10
“ <i>Metallogenium</i> ”, кл./мл	2×10^5	0.0	0.0	0.0
“ <i>Ochronema</i> ”, трихомы/мл	0.0	0.0	32×10^3	0.0
Фотосинтез кислородный, мкг С л ⁻¹ сут ⁻¹	1234	50	120	17
Фотосинтез аноксигенный, мкг С л ⁻¹ сут ⁻¹	54	270	286	130
Темновая фиксация CO ₂ в хемоклине, мкг С л ⁻¹ сут ⁻¹	124	15	14	10

ные соединения, была наибольшей под горизонтами фотосинтеза (рис. 3а). Ее нижний пик на глубине 28 м был особенно большим, отражающим присутствие восстановленных соединений, связанных с анаэробными биологическими процессами. В этой области наблюдалась повышенная для данного озера темновая фиксация углекислоты — 15 мкг С л⁻¹ сут⁻¹ (рис. 3б).

Аноксигенные фотосинтезирующие бактерии, ввиду неблагоприятных световых условий, практически отсутствовали в зоне появления сульфида. Небольшое количество несерных пурпурных бактерий, сходных с *Rhodocyclus gelatinosus*, — до 100 кл./мл на глубине 20–22 м, указывает на незначительную роль этих бактерий в круговороте веществ в водоеме.

Хемолитоавтотрофные бактерии, окисляющие серные соединения на среде Баалсруда, обнаружены не были. Основная роль в аэробном окислении сероводорода могла принадлежать бактериям, которые вырастали на среде Лондона с подщелачиванием среды, в количестве до 1.5×10^6 кл./мл

(рис. 3в). По морфологическим и физиологическим признакам выделенная из воды озера культура “*Thiobacillus trautweini*” соответствовала псевдомонадам: грамотрицательные бесспорные палочки с одним полярным жгутиком, в среде с нитратами способны к анаэробному росту. На среде Лондона рост с образованием мелких бесцветных, росинчатых колоний. В отличие от культур, выделенных из воды Старопустыньских озер, мы наблюдали на среде РПА рост с образованием бледно-зеленых колоний. Эти бактерии были сосредоточены на верхней границе распространения H₂S, то есть в зоне, где цианобактерии продуцировали кислород без его накопления.

Численность сульфатредуцирующих бактерий в озере не превышала тысяч клеток в 1 см³ как в воде, так и в иловых отложениях (рис. 3г). По-видимому, главным фактором, ограничивающим численность СРБ, было низкое содержание сульфатов в мнимомлимнионе.

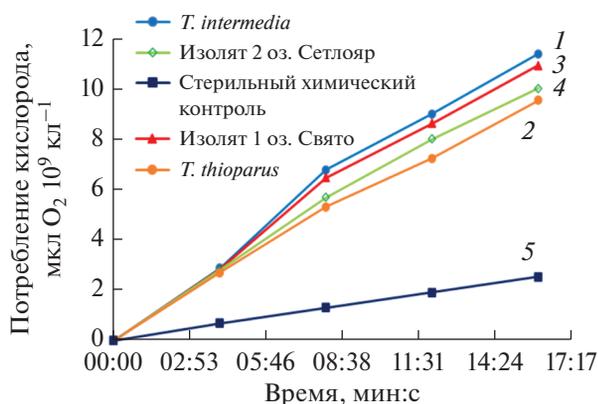


Рис. 4. Окисление сероводорода, измеренное на аппарате Варбурга по потреблению кислорода при 25°C и pH 7 культурами тионовых бактерий *Thiomonas intermedia* (1) и *Thiobacillus thioparus* (2) и двух штаммов выделенных из озера гетеротрофных сероокисляющих бактерий (3 – изолят из оз. Свято и 4 – изолят из оз. Светлояр) в сравнении со стерильным химическим окислением (5) (Вайнштейн, 1977). По вертикальной оси: потребление кислорода, мкл O₂/10⁹ кл.; по горизонтальной оси: время, мин.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованные карстовые озера Нижегородской области – Свято и Залив Некрасова (Старопустыньские озера), а также оз. Светлояр, характеризуются устойчивой стратификацией с признаками меромиксии. В анаэробной зоне всех исследованных озера содержится сульфид, при этом его концентрация в период исследований даже в придонной области не превышала 5.1 мг/л.

Старопустыньские озера Залив Некрасова и Свято подпитываются стоками из прибрежных болот и торфяников, содержащих гумусовые вещества, хелатирующие железо, что заметно повышает цветность воды. В этих озерах наряду с сульфидом в мониомолимнионе накапливалось значительное количество свободного закисного железа, оседающего вместе с орудненными клетками железобактерий. Сульфид связывает железо, с образованием практически нерастворимых сульфидов железа, выпадающих в осадок. Подобные реакции происходили в истории Земли в переходный период в процессе формирования сульфидсодержащего Протерозойского стратифицированного океана (Negler et al., 2008; Poulton, Canfield, 2011).

Отметим, что гидрологические и световые условия в июне–июле 1974 г. были благоприятны для развития анаэробных фототрофных бактерий только в оз. Залив Некрасова, защищенном от ветрового перемешивания. Интенсивность процессов круговорота серы и железа в нем особенно велика из-за высокого трофического уровня водоема. В летний период в нем в хемоклине происходит массовое развитие зеленых серобактерий

и многочисленных морфотипов железобактерий. В окислении сероводорода принимали участие также хемолитотрофные бесцветные серобактерии *Macromonas bipunctatum* и *Thiospira* sp. В озере Свято световые условия становятся благоприятными для развития АФБ в конце лета (табл. 1). В этот период в хемоклине появляются планктонные виды фототрофов, которые были обнаружены в оз. Залив Некрасова.

В окислении железа в Старопустыньских озерах активно участвовали железобактерии, среди которых имеются как хемоорганотрофные, так и хемоавтотрофные виды (Дубинина, Сорокина, 2014). Орудненные клетки железобактерий были отмечены именно в зоне оксиклина. Участие анаэробных фототрофных бактерий в окислении солей закисного железа в исследованных водоемах нами не доказано, однако следует обратить внимание на обнаруженные отложения оксидов железа в чехлах нитчатых хлоробактерий “*Chloronema giganteum*”, обитающих как в оз. Залив Некрасова, так и в оз. Свято. Ранее оруднение чехлов “*Chloronema*” отмечали в дистрофных димиктических озерах Карелии (Дубинина, Горленко, 1975; Gorlenko et al., 1983). Можно предположить, что эти фототрофные бактерии способны к феррофототрофии – использованию Fe⁺² в качестве донора электронов при фотосинтезе.

Несмотря на геологическое единство Старопустыньских озера и выявленное в период исследования расслоение воды, гидрохимический режим оз. Свято близок к димиктическому типу. АФБ в этом озере появлялись позже, в августе, когда граница анаэробной зоны поднималась до уровня проникновения света (табл. 1). В целом видовой состав фототрофных и железобактерий в Старопустыньских озерах типичен для продуктивных полигумозных димиктических озера с высоким содержанием железа (Gorlenko et al., 1983, Дубинина, Сорокина, 2014).

Оз. Светлояр среди исследованных озера имеет самый низкий трофический статус, относительно невысокую цветность и практически не содержит в мониомолимнионе закисного железа. Граница распространения сероводорода в этом озере находится ниже эфотической зоны, что обуславливает отсутствие в нем слоя АФБ.

Отметим, что, основными аэробными бактериями, окисляющими сероводород в оксиклине исследованных озера, являлись хемогетеротрофные сероокисляющие бактерии, численность которых в максимальном случае достигала 1.5 × 10⁶, тогда как хемолитоавтотрофные сероокисляющие бактерии, окисляющие серные соединения с преимущественным образованием сульфатов и подкислением среды, отсутствовали. В 90-х годах при исследовании Черного моря (Сорокин, 2003) были получены аналогичные результаты, свидетельству-

ющие, что гетеротрофные бактерии, окисляющие сульфид/тиосульфат до полиотионатов, играют значительную роль в биогеохимическом цикле серы. Наиболее подробно на настоящий момент эта тема рассмотрена в диссертации Л.П. Хатта (Hutt, 2017), но вопрос о возможности получения достаточной для роста энергии при реакции окисления до полиотионатов и механизмы этого процесса остаются неясными (Hutt, 2017). Тем не менее, нами была проведена проверка способности выделенных гетеротрофных серных бактерий к активному окислению сероводорода в культурах: полиотионат-образующие штаммы были сравнены с культурами сульфат-образующих тионовых бактерий: автотрофных *Thiobacillus thioparus* и миксотрофных *Thiomonas intermedia*. Полученные данные (рис. 4) позволяют заключить, что физиологическая группа гетеротрофных бактерий действительно активно окисляет сероводород и может играть важную роль в серном цикле озер.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы приносят благодарность руководителям Биостанции Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского за предоставленную возможность использования базы биостанции при проведении полевых работ на Старопустынских озерах.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эта статья не содержит результатов каких-либо исследований с участием животных или людей, выполненных кем-либо из авторов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алекин О.А., Семенов А.Д., Скопинцев Б.А. Руководство по химическому анализу вод суши. Л.: Гидрометеиздат, 1973. 272 с.

Alekin O.A., Semenov A.D., Skopintsev B.A. Guide to the Chemical Analysis of Land Waters. Leningrad: Gidrometeoizdat, 1973. 272 p. (in Russian)

Баянов Н.Г., Никишин В.И. Светлояр. По следам былых экспедиций // Нижний Новгород, Комитет охраны природы и управления природопользованием Нижегородской области. 2005. 152 с.

Bayanov N.G., Nikishin V.I. Svetloyar. In the footsteps of erstwhile expeditions // Nizhny Novgorod, Committee for

Nature Protection and Environmental Management of the Nizhny Novgorod Region. 2005. 152 p. (in Russian)

Вайнштейн М.Б. Окисление сероводорода тионовыми бактериями // Микробиология. 1977. Т. 46. С. 1114–1116.

Vainshtein M.B. Oxidation of hydrogen sulfide by thionic bacteria. // Microbiology (Moscow). 1977. V. 46. P. 988–999.

Вайнштейн М.Б. Распространение тионовых бактерий в озерах // Микробиологические и химические процессы деструкции органического вещества в водоемах / Под ред. Романенко В.И., Скопинцева Б.А. Л.: Наука, 1979. С. 115–128.

Vainshtein M.B. Distribution of thionic bacteria in lakes // Microbiological and Chemical Processes of Destruction of Organic Matter in Water Bodies / Eds. Romanenko V.I., Skopintsev B.A. L.: Nauka, 1979. P. 115–128. (in Russian)

Горленко В.М., Вайнштейн М.Б., Чеботарев Е.Н. Бактерии круговорота серы и железа в низкосульфатном меромиктическом озере Кузнециха // Микробиология. 1980. Т. 49. С. 804–812.

Gorlenko V.M., Vainshtein M.B., Chebotarev E.N. Bacteria of the sulfur and iron cycle in the low sulfate meromictic lake Kuznechikha // Microbiology (Moscow). 1980. V. 49. P. 653–659.

Горленко В.М., Локк С.И. Вертикальное распределение и особенности видового состава микроорганизмов некоторых стратифицированных озер Эстонии // Микробиология. 1979. Т. 48. С. 351–359.

Gorlenko V.M., Lokk S.I. Vertical distribution and species composition of microorganisms in some stratified lakes in Estonia // Microbiology (Moscow). 1979. V. 48. P. 283–351.

Дубинина Г.А., Горленко В.М. Новые нитчатые скользящие зеленые бактерии с газовыми вакуолями // Микробиология. 1975. Т. 44. С. 511–517.

Dubinina G.A., Gorlenko V.M. New filamentous gliding green bacteria with gas vacuoles // Microbiology (Moscow). 1975. V. 44. P. 511–517. (in Russian)

Дубинина Г.А., Сорокина А.Ю. Нейтрофильные литотрофные железоокисляющие прокариоты и их участие в биогеохимических процессах цикла железа // Микробиология. 2014. Т. 83. С. 127–142.

Dubinina G.A., Sorokina A.Yu. Neutrophilic lithotrophic iron-oxidizing prokaryotes and their participation in the biogeochemical processes of the iron cycle // Microbiology (Moscow). 2014. V. 83. P. 1–14.

Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М.: Наука, 1989. 288 с.

Kuznetsov S.I., Dubinina G.A. Methods for Studying Aquatic Microorganisms. M.: Nauka, 1989. 288 p. (in Russian)

Лаптева Н.А., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Микробиологическая характеристика некоторых карстовых озер Горьковской области // Гидробиол. журн. 1985. Т. 21. № 2. С. 61–68.

Lapteva N.A., Dubinina G.A., Kuznetsov S.I. Microbiological characteristics of some karst lakes in the Gorky region // Hydrobiol. J. 1985. V. 21. № 2. P. 61–68. (in Russian)

Рогозин Д.Ю. Меромиктические озера Северо-Минусинской котловины: закономерности стратификации и экология фототрофных серных бактерий. Красноярск: КНЦ СО РАН, 2019. 241 с.

- Rogozin D.Yu. Meromictic Lakes of the North Minusinsk Basin: Regularities of Stratification and Ecology of Phototrophic Sulfur Bacteria. Krasnoyarsk: KSC SB RAS, 2019. 241 p. (in Russian)
- Сорокин Д.Ю. Окисление неорганических серных соединений облигатно хемолитотрофными бактериями // Микробиология. 2003. Т. 72. С. 725–739.
- Sorokin D.Yu. Oxidation of inorganic sulfur compounds is obligatory by chemolithotrophic bacteria // Microbiology (Moscow). 2003. V. 72. P. 641–653.
- Bura-Nakic E., Viollier E., Jezequel D., Thiam A., Ciglenecki I. Reduced sulfur and iron species in anoxic water column of meromictic crater Lake Pavin (Massif Centre France) // Chem. Geol. 2009. V. 266. P. 320–326.
- Canfield D.E., Poulton S.W., Knoll A.H., Narbonne G.M., Ross G., Goldberg T., Strauss H. Ferruginous conditions dominated later Neoproterozoic deep-water chemistry // Science. New Series. 2008. V. 321. P. 949–952.
- Crowe S.A., Maresca J.A., Jones C., Strum A., Henny C., Fowle D.A., Cox R.P., Delong E.F., Canfield D.E. Deep-water anoxygenic photosynthesis in a ferruginous chemocline // Geobiology. 2014. V. 12. P. 322–339.
- Gorlenko V.M. Ecological niches of green sulfur and gliding bacteria // Green Photosynthetic Bacteria / Eds. Olson J.M., Ormerod J.G., Amesz J., Stackebrandt E., Truper H.G. N.Y.: Plenum, 1988. P. 257–267.
- Gorlenko V.M., Dubinina G.A., Kuznetsov S.I. The Ecology of Aquatic Microorganisms. Stuttgart: E. Schweizerbart-sche Verlagsbuchhandlung, 1983. 252 p.
- Hamilton T.L., Bovee R.J., Thiel V., Sattin R., Mohr W., Schaperdoth I., Vogl K., Gilhooly W.P., Lyons T.W., Tomsho L.P., Schuster S.C., Overmann J., Bryant D.A., Pearson A., Macalady J.L. Coupled reductive and oxidative sulfur cycling in the phototrophic plate of a meromictic lake // Geobiology. 2014. V. 12. P. 451–468.
- Hegler F., Posth N.R., Jiang J., Kappler A. Physiology of phototrophic iron(II)-oxidizing bacteria: implications for modern and ancient environments // FEMS Microbiol. Ecol. 2008. V. 66. P. 250–260.
- Heising S., Richter L., Ludwig W., Schink B. *Chlorobium ferrooxidans* sp. nov., a phototrophic green sulfur bacterium that oxidizes ferrous iron in coculture with a “*Geospirillum*” sp. strain // Arch. Microbiol. 1999. V. 172. P. 116–124.
- Hutt L.P. Taxonomy, physiology and biochemistry of the sulfur Bacteria // Ph.D. Theses. Plymouth: University of Plymouth, 2017. 300 p. <https://pearl.plymouth.ac.uk/handle/10026.1/8612>
- Lambrech N., Stevenson Z., Sheik C.S., Pronschinske M.A., Tong H., Swanner E.D. “*Candidatus Chlorobium masyuteum*”, a novel photoferrotrophic green sulfur bacterium enriched from a ferruginous meromictic lake // Front. Microbiol. 2021. V. 12. Art. 695260.
- Poulton S.W., Canfield D.E. Ferruginous conditions: a dominant feature of the ocean through Earth’s history // Elements. 2011. V. 7. P. 107–112.
- Savichev A.S., Kokryatskaya N.M., Zabelina S.A., Rusanov I.I., Zakharova E.E., Veslopolova E.F., Lunina O.N., Patutina E.O., Bumazhkin B.K., Gruzdev D.S., Sigalevich P.A., Pimenov N.V., Kuznetsov B.B., Gorlenko V.M. Microbial processes of the carbon and sulfur cycles in an ice-covered, iron-rich meromictic Lake Svetloe (Arkhangelsk region, Russia) // Environ. Microbiol. 2017. V. 19. P. 659–672.
- Sorokin Y.I., Kadota H. Techniques for the assessment of microbial production and decomposition in fresh waters // IBP Handbook no. 23. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications, 1972. 112 p.
- Straub K.L., Rainey F.A., Widdel F. *Rhodovulum indosum* sp. nov. and *Rhodovulum robiginosum* sp. nov., two new marine phototrophic ferrous-iron-oxidizing purple bacteria // Int. J. Syst. Bacteriol. 1999. V. 49. P. 729–735.
- Van Gernerden H., Mass J. Ecology of phototrophic sulfur bacteria // Anoxygenic Photosynthetic Bacteria / Eds. Blankenship R.E., Madigan M.T., Bauer C.E. Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1995. P. 49–85.
- Walter X.A., Picazo A., Miracle M.R., Vicente E., Camacho A., Aragno M., Zopf J. Phototrophic Fe(II)-oxidation in the chemocline of a ferruginous meromictic lake // Front. Microbiol. 2014. V. 5. Art. 713.
- Widdel F., Pfennig N. Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids // Arch. Microbiol. 1981. V. 129. P. 395–400.
- Widdel F., Schnell S., Heising S., Ehrenreich A., Assmus B., Schink B. Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria // Nature. 1993. V. 362. P. 834–836.

Microbiological Characteristics of Three Stratified Lakes in the Nizhny Novgorod Region

V. M. Gorlenko^{1,*} and M. B. Vainshtein²

¹Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

²Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Pushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia
*e-mail: vgorlenko@mail.ru

Received October 20, 2022; revised November 7, 2022; accepted November 8, 2022

Abstract—Three karst lakes were investigated in the Nizhny Novgorod region: Staropustynskie lakes Svyato and Nekrasov Bay and Lake Svetloyar. The studied lakes belonged to the mesotrophic-eutrophic polyhumous type and were characterized by stable stratification with signs of meromixia. Their water columns were divided into aerobic and anaerobic zones, with the bottom water containing sulfide. Fe(II) compounds were also present in the Staropustynskie lakes. In the Lake Nekrasov Bay, the mixolimnion showed a high rate of oxy-

genic photosynthesis, up to $1.2 \mu\text{g C L}^{-1} \text{ day}^{-1}$, as well as a maximum of anoxygenic photosynthesis in the chemocline ($0.030\text{--}0.706 \mu\text{g C L}^{-1} \text{ day}^{-1}$) at a depth of 1.5–2.5 m. The peak of dark CO_2 assimilation ($0.146 \mu\text{g C L}^{-1} \text{ day}^{-1}$) occurred at a depth of 1.5 m in the oxycline zone. Anoxygenic phototrophic bacteria (APB) were found in the Lakes Zaliv Nekrasova and Svyato at the boundary of light penetration. Green sulfur bacteria with short cell prosthecae outgrowths, "*Ancalochloris* sp.," predominated. Consortia "*Chlorochromatium aggregatum*" and filamentous chlorobacteria "*Chloronema giganteum*" were also found, their cell sheaths accumulated ferric iron salts. In the Staropustynskie lakes, various morphotypes of iron bacteria formed clusters in the microaerobic zone. In Lake Svetloyar the chemocline was located at a depth of 16 m, outside the photic zone, and the conditions were unfavorable for APB growth. In the studied lakes, heterotrophic aerobic bacteria played the main role in the aerobic oxidation of sulfur compounds in the chemocline zone.

Keywords: stratified karst lakes, sulfur and iron cycles, anoxygenic phototrophic bacteria, sulfur-oxidizing heterotrophic bacteria, iron bacteria