

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

АНОКСИГЕННЫЕ ФОТОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ МЕРОМИКТИЧЕСКОГО
ОЗЕРА БОЛЬШИЕ ХРУСЛОМЫ (О. ОЛЕНИЙ, КАНДАЛАКШСКИЙ
ЗАЛИВ, МУРМАНСКАЯ ОБЛАСТЬ, РОССИЯ)

© 2023 г. О. Н. Лунина^{а, *}, Д. С. Груздев^б, С. В. Пацаева^с, А. А. Жильцова^с, Н. Е. Сузина^д,
Е. Д. Краснова^е, Д. А. Воронов^в, Н. М. Кокрятская^г, Е. Ф. Веслополова^а, А. С. Саввичев^а

^а Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ

“Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, 117312 Россия

^б ciBear OU, Tartu Mnt 67/1-13b, Kesklinna Linnaosa, Tallinn, 10115 Estonia

^с Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия

^д Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, ФИЦ “Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук” (ФИЦ ПНЦБИ РАН), Пушкино, 142290 Россия

^е Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия

^в Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, 127051 Россия

^г Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН, Архангельск, 163020 Россия

*e-mail: onlun@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.05.2023 г.

После доработки 03.07.2023 г.

Принята к публикации 04.07.2023 г.

Проведено исследование сообщества анаэробных фототрофных бактерий водной толщи меромиктического оз. Большие Хрусломы в зимнее время, определен его состав и структура. Сообщество развивалось на глубине 4.25 м, в подледный период его активность была крайне низкой ($6.2 \text{ мкмоль С л}^{-1} \text{ сут}^{-1}$). Цвет воды в зоне максимального развития фототрофных бактерий был необычным, лимонно-желтым, предположительно за счет образования и накопления в ней полисульфидов. Цвет придонной воды также был лимонно-желтым, придонная вода была устойчива к окислению кислородом воздуха. В слое максимального развития АФБ содержание Бхл *d* зелено-окрашенных зеленых серобактерий существенно превышало содержание Бхл *e* коричнево-окрашенных зеленых серобактерий и составляло 77 и 23% соответственно. Из воды озера выделены культуры зеленых и пурпурных серобактерий, определены их физиологические и генетические характеристики. Два штамма зеленых серных бактерий (коричнево-окрашенный *BrKhr17* и зелено-окрашенный *GrKhr17*) содержали в клетках газовые вакуоли. Филогенетически они оказались наиболее близки к зелено-окрашенному штамму *Chlorobium phaeovibrioides* DSM 265 и по совокупности свойств были причислены к новым штаммам вида *Chlorobium phaeovibrioides*.

Ключевые слова: арктические экосистемы, Белое море, меромиктические озера, полисульфиды, зеленые серные бактерии, *Chlorobium phaeovibrioides*, пурпурные серобактерии, *Thiocapsa*, *Thiocystis gelatinosa*, бактериохлорофиллы *d* и *e*, флуоресцентное разделение пигментов

DOI: 10.31857/S0026365623600268, EDN: CZCZEV

Анаэробные фототрофные бактерии (АФБ) являются типичными обитателями освещенной границы сероводородной зоны водной толщи стратифицированных водоемов. Сообщества АФБ разнообразны, и их видовой состав, плотность и структура определяются типом водоема и совокупностью физико-химических факторов, из которых наиболее существенное значение имеют минерализация воды, pH, освещенность, наличие

биогеохимических элементов, а также прозрачность и цветность расположенной выше толщи воды.

Участвуя в процессах круговорота углерода и серы, АФБ являются продуцентами органического вещества и осуществляют светозависимое окисление сероводорода. Вместе с нефототрофными серобактериями, АФБ предотвращают проникновение сероводорода в верхние слои воды и отравление водоема. Продукция АФБ часто сопоставима с продукцией анаэробных фототрофов, а

нередко и значительно превышает ее, например, в оз. Могильное (Горленко и соавт., 1977). Для зеленых серных бактерий (ЗСБ), развивающихся в условиях постоянного присутствия сероводорода, характерно окисление сероводорода до этапа образования молекулярной серы.

Сера, продуцируемая микробами серного цикла в процессе окисления сульфидов, имеет разнообразные формы. К настоящему времени в бактериях, накапливающих серу, было идентифицировано множество химических соединений, отличных от циклооктасеры (S_8), включая неорганические полисульфиды (S_n^{2-}), политионаты ($-O_3S-S_n-SO_3^-$) и длинноцепочечные органосульфаны ($R-S_n-R$). Растворимость этих соединений S^0 в воде различна: от почти нерастворимых колец S_8 до чрезвычайно растворимых неорганических полисульфидов (Berg et al., 2014). Известно, что глобулы серы, продуцируемые фототрофными бактериями, состоят из длинных цепей, оканчивающихся органическими группами, тогда как хемотрофные бактерии производят глобулы, состоящие из серных колец (S_8) (Kleinjan et al., 2003).

При доминировании ЗСБ в стратифицированных водоемах часто развиваются как зелено-окрашенные (з/о) так и коричнево-окрашенные (к/о) виды, соотношение их клеток может сильно варьировать. В настоящий момент в научной литературе нет четкого объяснения тому факту, что в одних озерах развиваются преимущественно з/о ЗСБ, а в других — к/о ЗСБ.

Данная работа является продолжением микробиологических исследований структуры и состава сообщества АФБ водной толщи меромиктических озер в районе Беломорской биологической станции МГУ им. М.В. Ломоносова. Ранее нами были подробно исследованы состав и структура сообществ АФБ из озер Кисло-Сладкое (Лунина и соавт., 2014; 2016) и Трехцветное (Лунина и соавт., 2019). В исследованиях этих и других меромиктических озер данного региона, проводимых на протяжении 20 лет, было неоднократно показано, что для хемоклина водной толщи характерно массовое развитие ЗСБ (Краснова и соавт., 2015; Krasnova et al., 2018). При этом в сообществах АФБ наблюдается совместное развитие з/о и к/о ЗСБ в различных соотношениях (Kharcheva et al., 2016; Жильцова и соавт., 2018; Харчева и соавт., 2018).

Микробиологические исследования оз. Большие Хрусломены начаты в 2017 г. Были определены состав и функциональная активность микробных сообществ озера в зимний и летний сезоны, а также скорости проходящих в нем микробных процессов (автотрофная и гетеротрофная фиксация CO_2 , сульфатредукция, метаногенез и окисление метана) (Федулов и соавт., 2018; Саввичев

и соавт., 2019; Savvichev et al., 2020). Также был проведен метагеномный анализ состава микробного сообщества хемоклина озера (Kadnikov et al., 2019) и выполнен полный сиквенс геномов двух штаммов ЗСБ, выделенных нами из хемоклина оз. Большие Хрусломены (Grouzdev et al., 2019).

Задачами данной работы было определить классическими методами микробиологии состав фототрофного сообщества зоны хемоклина оз. Большие Хрусломены и попытаться проанализировать причины доминирования одной из окрашенных форм зеленых серных бактерий (зеленой или коричневой). В работе были использованы метод расчета содержания бактериохлорофиллов ($d + e$) по спектрам поглощения природной воды, и метод разделения содержания Бхл d и Бхл e с помощью флуоресценцентной спектроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оз. Большие Хрусломены ($66^{\circ}43'01''$ N $32^{\circ}51'31''$) расположено на острове Олений, губа Ковда, пос. Лесозаводский, Кандалакшский залив Белого моря (рис. 1). В отличие от ранее исследованных нами прибрежных озер, отделившихся от Белого моря благодаря постепенному поднятию суши, оз. Большие Хрусломены и рядом расположенное оз. Малые Хрусломены (ныне оз. Банное), были созданы искусственно при постройке лесозавода на о. Олений в 1895 г. До постройки лесозавода оба этих озера представляли собой глубоко врезающиеся в сушу морские заливы (рис. 2) (Сент-Илер, 1909). Отсюда понятна необычная форма оз. Большие Хрусломены: 1000×280 м, с сильно изрезанной береговой линией, включающей также три больших залива (длиной 300, 300 и 600 м). По сравнению с другими исследованными водоемами на побережье Белого моря, это озеро по-настоящему глубокое: его глубина достигает 21 м.

Отбор проб воды осуществляли в марте 2017 г. со льда в точке с глубиной 17–18 м с помощью портативного насоса Whale Premium Submersible Pump GP1352 (США) с силиконовой трубкой и калиброванным тросом.

Физико-химическая характеристика воды. Общую соленость воды определяли кондуктометром WTW Condi 3110 (Германия). Концентрацию кислорода измеряли *in situ* кислородомером “Марк 302 Е” (Россия) с погружным зондом, с поправкой на температуру и соленость; pH определяли портативным pH-метром WaterLiner (Китай). Освещенность измеряли люксметром AR813A (Китай), модифицированным для погружения регистрирующего элемента под воду, с калиброванным тросом. Содержание сероводорода и общую численность микроорганизмов определяли по методикам, описанным ранее (Лунина и соавт., 2019).

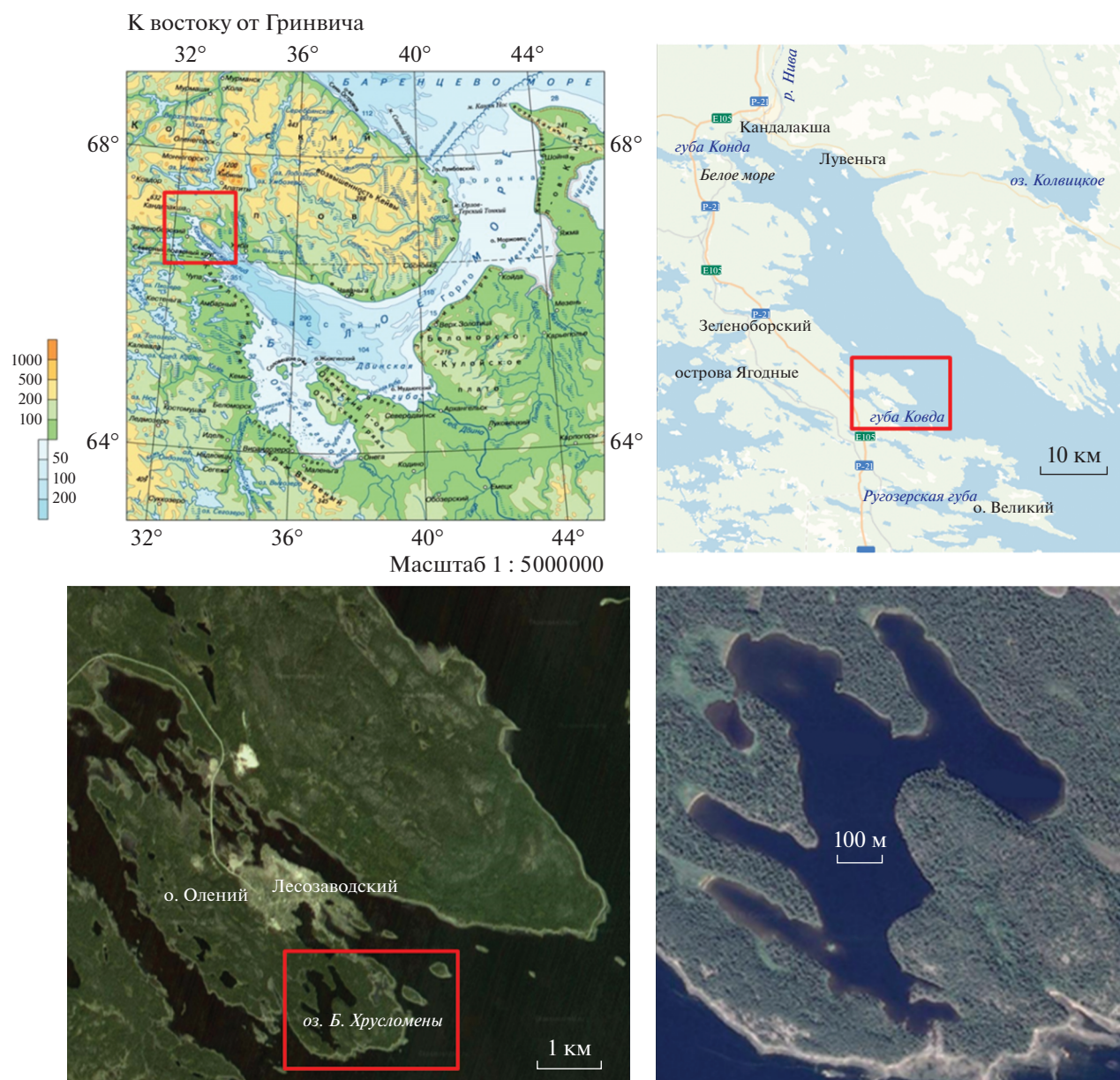


Рис. 1. Географическое расположение озера Большие Хрусломены: пос. Лесозаводский, о. Олений, губа Ковда, Кандалакшский залив Белого моря, Мурманская область, Россия.

Содержание бактериохлорофиллов. Суммарное содержание Бхл ($d + e$) в каждой пробе воды рассчитывали по методике, описанной в статьях (Емельянцева и соавт., 2020; Жильцова и соавт., 2022). Для этого регистрировали спектры поглощения воды с микроорганизмами в кюветах с длиной оптического пути 3 см. По площади длинноволновой полосы поглощения Бхл в спектральном диапазоне 650–800 нм определяли суммарную концентрацию хлоросомных бактериохлорофиллов, Бхл ($d + e$). Данный метод оценки Бхл применим не только к пробам с ЗСБ одного типа (или только з/о, или только к/о), но и к их

смеси в любой пропорции, поскольку эмпирические коэффициенты расчета концентрации Бхл по длинноволновой полосе поглощения одинаковы для обоих типов пигмента, Бхл d или Бхл e . (Емельянцева и соавт., 2020). Для определения процентного соотношения Бхл d и e были измерены спектры флуоресценции Бхл с помощью флуориметра Solar CM2203 при возбуждении светом с длиной волны 440 нм. В спектрах наблюдается полоса свечения хлоросомных Бхл с максимумом от 740 до 770 нм в зависимости от процентного содержания Бхл d и e , а также более длинноволновая флуоресценция Бхл a (Kharcheva et al., 2016b).

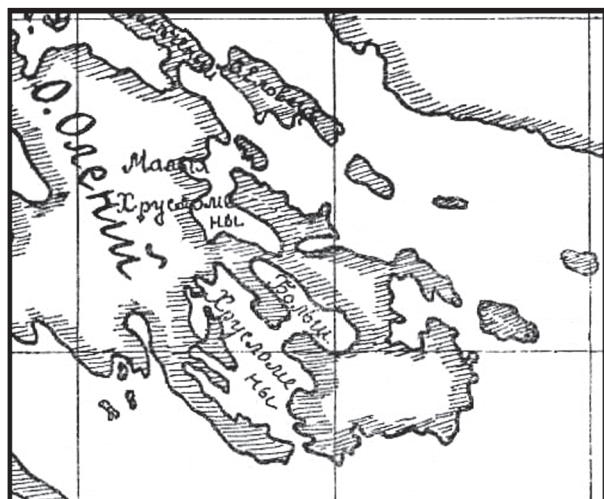


Рис. 2. Карта о. Олений (из отчета К.К. Сент-Илера, 1909 г.).

Разложение полосы флуоресценции хлоросомных Бхл на компоненты гауссовой формы позволяет оценить относительное содержание каждого пигмента (Бхл *d* и Бхл *e*) по площади соответствующего спектрального компонента с фиксированной длиной волны максимума и шириной (Жильцова и соавт., 2018). Относительную долю Бхл *d* и Бхл *e* находили как отношение площади соответствующего гауссиана к общей площади спектра флуоресценции. Далее, зная суммарное содержание Бхл (*d* + *e*), а также процентное содержание каждого пигмента, мы смогли рассчитать количественное содержание Бхл *d* и Бхл *e* в исходных пробах природной воды.

Содержание Хл *a* находили из спектров поглощения ацетон-метанольных экстрактов по методу (Overmann, Tilzer, 1989).

Для получения накопительных культур АФБ в полевых условиях свежесобранную озерную воду закрывали без доступа воздуха в бутылки объемом 0.5 л. Посев производили в лабораторных условиях, на 5 сут. после отбора проб. Для получения накопительных культур пробы озерной воды объемом 5 мл добавляли в герметично закрытые стеклянные флаконы со средой объемом 30 мл. Использовали среду следующего состава (на 1 л дистиллированной воды): KH_2PO_4 – 0.7 г; NaCl – 15 г для проб воды с глубины 3.25 и 3.75 м, 17.5 г для проб воды с глубины 4.25 и 4.75 м, 25 г для проб воды с глубины 3.25 и 3.75 м для проб воды с глубины 18 м и осадка; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.5 г; NH_4Cl – 0.7 г; KCl – 0.33 г; NaHCO_3 – 0.15 г; CaCl_2 – 0.1 г; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 1 г; $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ – 0.5 г; Na -ацетат – 0.5 г; дрожжевой экстракт – 0.1 г; раствор микроэлементов – 1 мл (Pfennig, Lippert, 1966); витамин B_{12} – 20 мкг; pH среды 7.0. Для по-

давления оксигенного фотосинтеза в среду добавляли диурон в концентрации 50 мг л^{-1} .

Культивирование проводили анаэробно в течение месяца в люминостате при освещенности 2000 люкс и температуре $20\text{--}25^\circ\text{C}$. Выделение и очистку культур проводили методом предельных разведений посевного материала с использованием жидких и агаризованных (0.5% агара) сред, содержащих $15 \text{ г л}^{-1} \text{ NaCl}$.

Первичную идентификацию микроорганизмов производили с учетом формы, размера, цвета клеток и микроколоний, наличию газовых вакуолей, каплей серы и по спектрам поглощения пигментов.

Пигментный состав полученных культур АФБ исследовали в препаратах целых клеток в 50% глицерине, в ацетон-метанольных (7 : 2) экстрактах. Спектры поглощения снимали на спектрофотометре Cary 100 (“Varian”, Австралия) в диапазоне длин волн 350–900 нм. О присутствии каротиноида хлоробактина, характерного для з/о ЗСБ, судили по появлению в экстрактах пика в области 430 нм. О присутствии каротиноида изорениератина, характерного для к/о ЗСБ, судили по появлению в экстрактах пика в области 470 нм.

Микрофотографии клеток бактерий получали с помощью светового микроскопа Olympus BX 41 (“Olympus”, Япония) с объективом $\times 100$ с фазовым контрастом, с использованием фотонасадки OLIMPUS C5060-ADU; 5G 10064 JAPAN.

Электронно-микроскопические исследования проводили описанными ранее стандартными методами (Лунина и соавт., 2014). Препараты просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100B (“JEOL”, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Филогенетический анализ штаммов. Выделение ДНК проводили с помощью модифицированной методики щелочного выделения Бирнбойма–Доли (Булыгина и соавт., 2002). Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) и дальнейшей секвенирования ПЦР-фрагментов гена 16S рРНК была использована универсальная праймерная система (Lane, 1991). Секвенирование продуктов амплификации проводили по методу Сэнгера (Sanger et al., 1977) на генетическом анализаторе ABI PRIZM 3730 (“Applied Biosystems, Inc.”, США). Последовательности выравнивали в MAFFT (Kato, Standley, 2013), а филогенетический анализ проводили с помощью IQ-TREE (Nguyen et al., 2015), с выбором модели через ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) и подсчетом поддержки ветвей с помощью UFBoot2 (Hoang et al., 2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В марте 2017 г. верхние слои воды до глубины 2 м имели соленость 6.5–7.3 г/л. На глубине 1–5 м наблюдалось резкое увеличение солености от 7.5 до

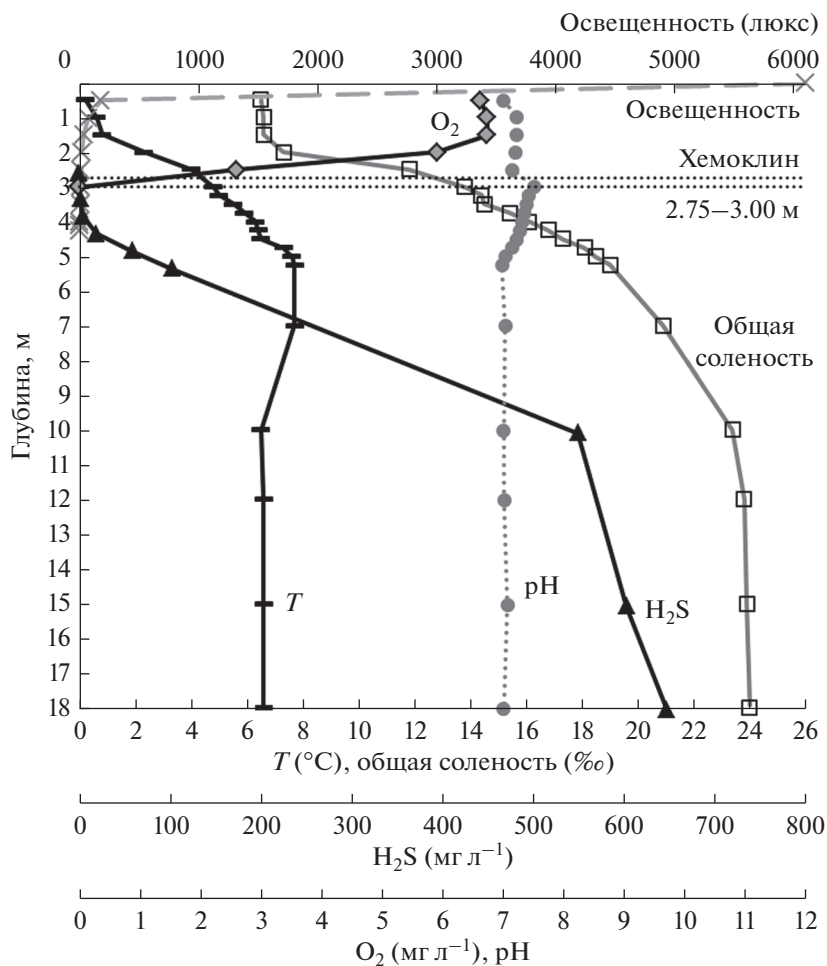


Рис. 3. Гидрохимические характеристики воды оз. Большие Хрусломены, март 2017.

18.5 г/л (галоклин). Соленость у дна составляла 24–24.3 г/л. Кислородная зона достигала глубины 2.5 м. Граница кислородной и сероводородной зон (хемоклин) находилась в интервале глубин 2.75–3.0 м. Начиная с 2.6 м, содержание сероводорода в воде возрастало и возле дна достигало 647 мг/л. Значения pH по всей глубине были около 7. Температура воды у поверхности была отрицательной, в зоне хемоклина около 5°C, у дна 6.6°C. Озеро было покрыто льдом, солнечный свет проникал до глубины 4.25 м. Освещенность на глубине 3.5 м составляла 7 люкс, а на глубине 4.1 м – 1 люкс (рис. 3).

Пробы озерной воды различались по окраске на разной глубине. До глубины 1.5 м вода имела слабую коричневатую окраску, по-видимому, за счет содержания в ней небольшого количества гуминовых веществ. С глубины 2.5 м и до хемоклина (3 м) вода была бесцветной. Развитие АФБ зафиксировано в сероводородной зоне ниже хемоклина на глубине 3.75–4.25 м. Цвет озерной воды в слое максимального развития АФБ был необычно

желтый, слегка зеленоватый, и не был похож на цвет, обычно образуемый сообществом к/о или з/о ЗСБ. Вода расположенных ниже слоев была светлая, она не мутнела при фильтрации, но цветность ее увеличивалась с глубиной. На глубине 10–18 м окраска озерной воды практически не отличалась от окраски воды с глубины 4.25 м. Вода нижних слоев озера, несмотря на присутствие в ней сероводорода, была устойчива к окислению кислородом воздуха и не мутнела при фильтрации.

На глубине 4.25 м зарегистрирована максимальная численность микроорганизмов и максимум анаэробного фотосинтеза (АнФ). Продукция АнФ в оз. Большие Хрусломены была крайне низкой и составляла 6.2 мкмоль С л⁻¹ сут⁻¹, что было связано с сильным затенением ледовым покровом. Продукция АнФ более чем в 2 раза превышала продукцию оксигенного фотосинтеза (рис. 4).

На спектрах воды, начиная с глубины 3.25 м и до дна, одновременно присутствуют пики пигментов, характерные для з/о (430 нм) и к/о (465 нм) ЗСБ (рис. 5). На этой же глубине уменьшается содер-

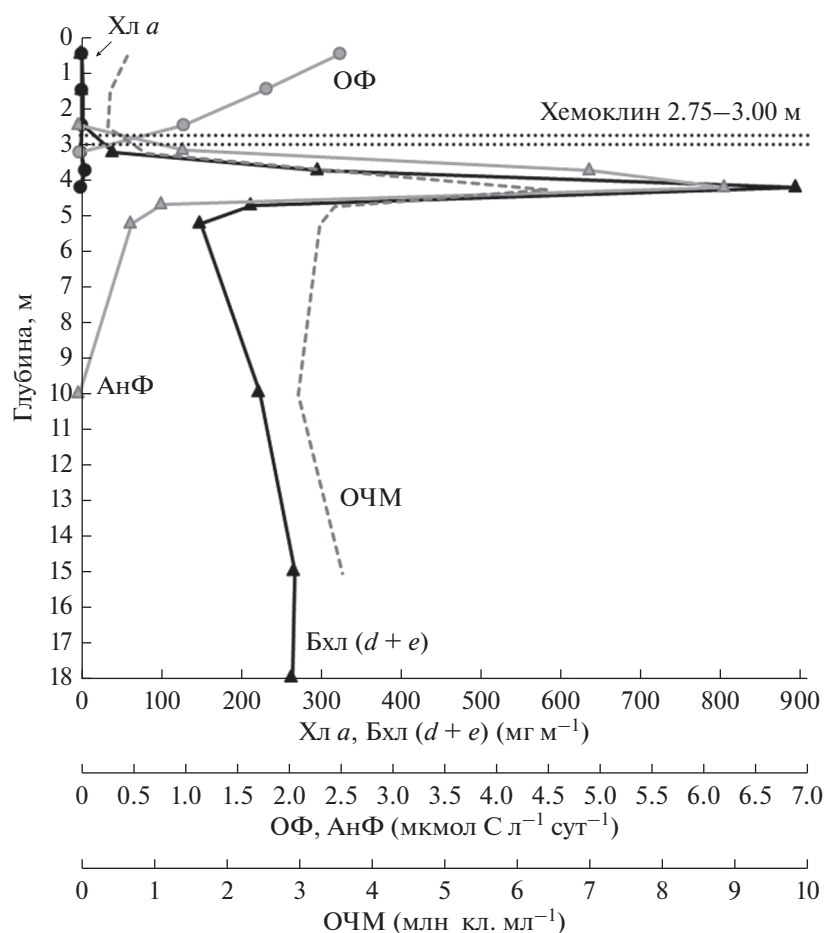


Рис. 4. Профили интенсивности фотосинтеза, содержания пигментов и общего числа клеток бактерий в воде оз. Большие Хрусломены, март 2017. Обозначения: ОФ — оксигенный фотосинтез; АнФ — аноксигенный фотосинтез; Хл *a* — хлорофилл *a*; Бхл (*d + e*) — суммарно содержание бактериохлорофиллов *d* и *e* зеленых серобактерий; ОЧМ — общая численность микроорганизмов.

жение в воде Хл *a* и появляется заметное количество Бхл (*d + e*) (рис. 4; табл. 1).

При микроскопировании проб воды практически все наблюдаемые клетки содержали газовые вакуоли. Преимущественно это были мелкие вибриоидные клетки 0.3×0.3 – 0.5 мкм с газовыми вакуолями (рис. 6а), а также палочки 0.3 – 0.4×0.3 – 0.7 мкм с газовыми вакуолями, собранные по 2–3 клетки или в короткие цепочки и агрегаты (рис. 6б–6д).

Из озерной воды с глубины 3.25 м было выделено 4 монокультуры АФБ, отдельные колонии которых были взяты для проведения филогенетического анализа. Таким образом, выделены: з/о ЗСБ штамм *GrKhr17*, к/о ЗСБ штамм *BrKhr17*, ПСБ штамм *AmKhr17*, ПСБ штамм *TcgKhr17*. Все штаммы оказались медленно растущими и витаминно-зависимыми, за исключением штамма *AmKhr17*, который был способен к росту на среде без органических добавок.

Клетки з/о ЗСБ штамма *GrKhr17* представляли собой короткие неподвижные палочки 0.6 – 0.7 мкм $\times$ 1.5 – 2 мкм с газовыми вакуолями (рис. 6е–6и). Они располагались либо одиночно, либо были собраны в ветвящиеся цепочки или группы неправильной формы. Фотосинтетическими пигментами у этой культуры были Бхл *d* и каротиноид хлоробактин (рис. 7а). Оптимальная соленость для роста по NaCl составила 5–10 г/л.

Клетки к/о ЗСБ штамма *BrKhr17* были округлой или вибриоидной формы, неподвижные, размером 0.3 мкм $\times$ 0.6 – 0.7 мкм, в культуре обычно располагались одиночно или неправильными группами (рис. 6к–6м). Эти бактерии способны образовывать газовые вакуоли, однако при росте на среде обычно газовых вакуолей не содержали. Фотосинтетическими пигментами у этой культуры были Бхл *e* и каротиноид изорениератин (рис. 7б). Оптимальная соленость для роста культуры составила 10–15 г/л.

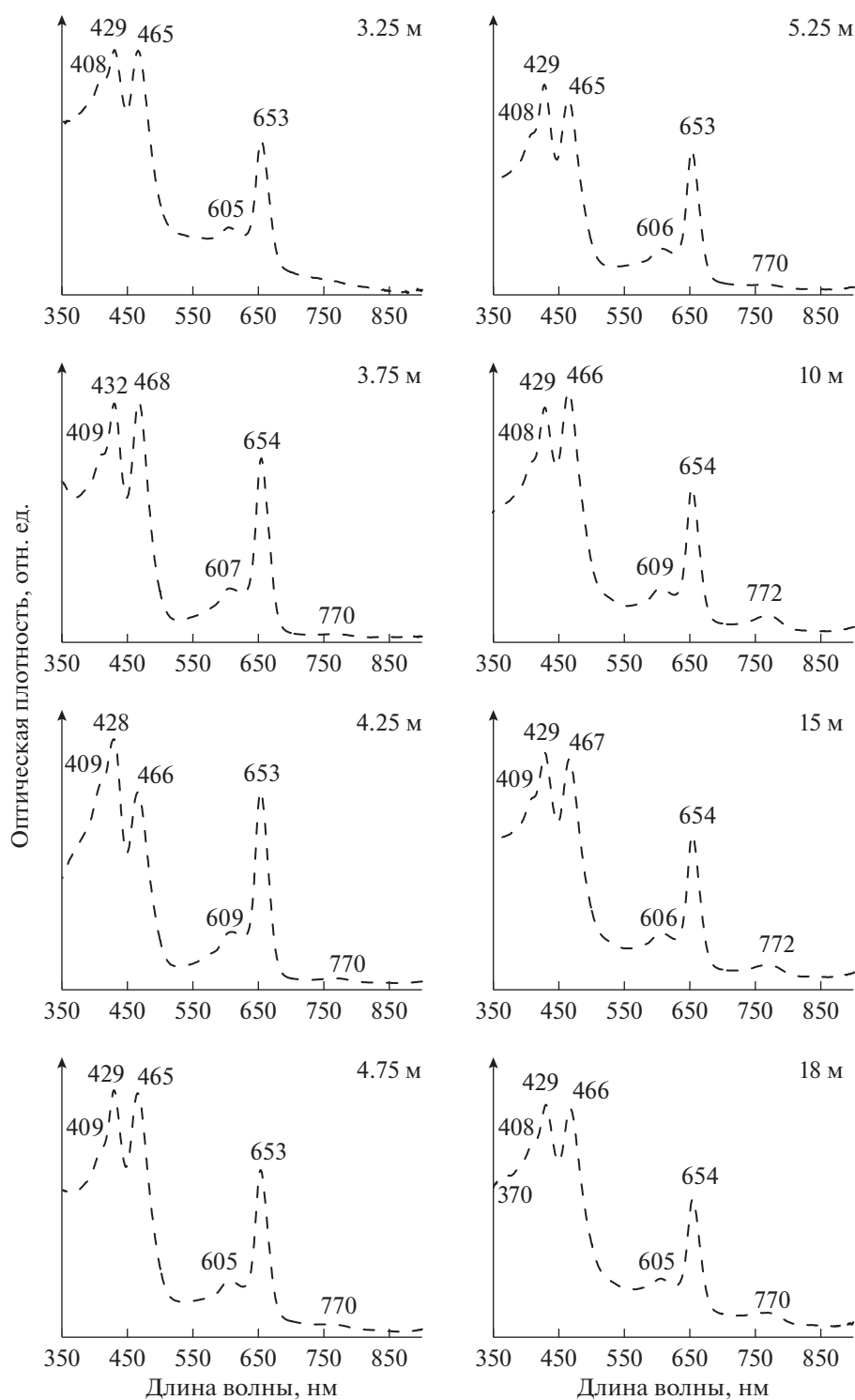


Рис. 5. Спектры поглощения ацетон-метанольных (7 : 2) экстрактов пигментов из взвеси в воде Большие Хрусломены, март 2017.

Идентификация и сравнение полных геномов зеленого и коричневого штаммов ЗСБ из оз. Большие Хрусломены показало, что они различаются наличием кластера генов, кодирующих коричне-

вую окраску у коричневого штамма. В геномах выделенных нами штаммов ЗСБ *sox*-система, ответственная за окисление тиосульфата, обнаружена не была. По совокупности свойств оба выде-

Таблица 1. Распределение хлоросомных бактериохлорофиллов (в клетках) зеленых серобактерий по глубине в воде оз. Большие Хрусломены в марте 2017 г.

Глубина, м	Общее содержание Бхл ($d + e$), мг/м ³	Соотношение Бхл по спектрам флуоресценции проб воды, %		Расчетное содержание Бхл, мг/м ³	
		Бхл d	Бхл e	Бхл d	Бхл e
3.25	41	Нд	Нд	Нд	Нд
3.75	298	Нд	Нд	Нд	Нд
4.25	895	77	23	689	206
4.75	215	66	34	142	73
5.25	151	64	36	97	54
10	224	65	35	146	79
15	268	64	36	171	96
18	265	62	38	164	101

Примечание. Нд — нет данных. Зеленым цветом выделена строка с глубиной, на которой отмечено максимальное развитие зеленых серных бактерий.

ленные штамма ЗСБ были причислены к новым штаммам вида *Chlorobium phaeovibrioides* (Grouzdev et al., 2019).

Филогенетический анализ последовательностей гена 16S рРНК для штаммов з/о GrKhr17 (номер в Генбанке MG065693) и к/о BrKhr17 (MG065694) показал их наибольшее родство с з/о штаммом *C. phaeovibrioides* DSM 265 (бывший *Chlorobium vibrioforme* f. thiosulfatophilum DSM 265) (рис. 8). Аналогичные по цвету и филогении пары ЗСБ были выделены нами ранее из озер Кисло-Сладкое и Трехцветное (рис. 8), однако, в отличие от них и от *C. phaeovibrioides* DSM 265, оба штамма ЗСБ из оз. Большие Хрусломены содержали в клетках газовые вакуоли. Еще одной отличительной особенностью штаммов ЗСБ из оз. Большие Хрусломены от ранее выделенных нами ЗСБ являлось то, что в отсутствие тиосульфата в среде их рост в культурах не наблюдался.

Пурпурные серобактерии (ПСБ) были в воде озера минорным компонентом. Однако в накопительных культурах, за счет малых потребностей и высокой скорости роста, они часто начинали доминировать, полностью вытесняя ЗСБ.

Клетки ПСБ штамм AmKhr17 были неподвижные, округлой формы, обычно с газовыми вакуолями и включениями в виде капель серы. Они располагались одиночно, парами или тетрадами (рис. 9а–9в). Размер клеток сильно варьировал в зависимости от условий роста. В оптимальных условиях диаметр клеток составлял 1.5–2 мкм, также встречались крупные овальные делящиеся клетки размером до 5–6 мкм. В неоптимальных условиях размер клеток мог уменьшаться до 0.5–0.7 мкм. Фотосинтетическими пигментами были Бхл a и каротиноид окенон (рис. 7в). Оптимальная соленость для роста культуры составила 10–

25 г/л NaCl, максимальный рост наблюдался при 15 г/л. По данным филогенетического анализа, штамм AmKhr17 (номер в Генбанке MK272776) имел 99% сходства со спириллоксантин-содержащим штаммом *T. rosea* DSM 235^T (AJ002798.2). Также штамм AmKhr17 имел по 99% сходства с ранее выделенными беломорскими штаммами AmPS10 (KC702856.1) и TcyrPS10 (KC702858) из оз. Кисло-Сладкое и AmTcv13 (MG193753.1) из оз. Трехцветное (рис. 10).

ПСБ штамм TcgKhr17 представляли собой одиночные клетки округлой или овальной формы размером 2–3 мкм, без газовых вакуолей (рис. 9г–9ж), подвижные за счет жгутика. Однако чаще всего культура была представлена неподвижными клетками, обраставшими дно и стенки флаконов. Также встречались более крупные клетки 2.5–3 × 5–5.5 мкм и даже тяжи из 10 и более неотделившихся клеток. Фотосинтетическими пигментами были Бхл a и каротиноид окенон (рис. 7г). Оптимальная соленость составляла 15–20 г/л NaCl, максимальный рост наблюдался при 20 г/л. Наибольшее филогенетическое сходство в 99% у штамма TcgKhr17 (номер в Генбанке MK278671) отмечено с типовым штаммом *Thiocystis gelatinosa* (Y11317.1) и *Thiocystis* sp. Mog3 (EF149014) из оз. Могильное (рис. 10).

При посеве пробы верхнего слоя осадка на твердую питательную среду вырастали колонии ПСБ с клетками морфологии TcgKhr17 размером 1–1.5 мкм, пронизанные крупными нитями зеленых несерных бактерий (*Chloroflexi*) морфологически похожих на *Chloroploca* sp. семейства *Chloroflexaceae* (рис. 11). Бактерии *Chloroflexi* в дальнейшем были выделены в монокультуру на среде с низкой соленостью, их изучение продолжается.

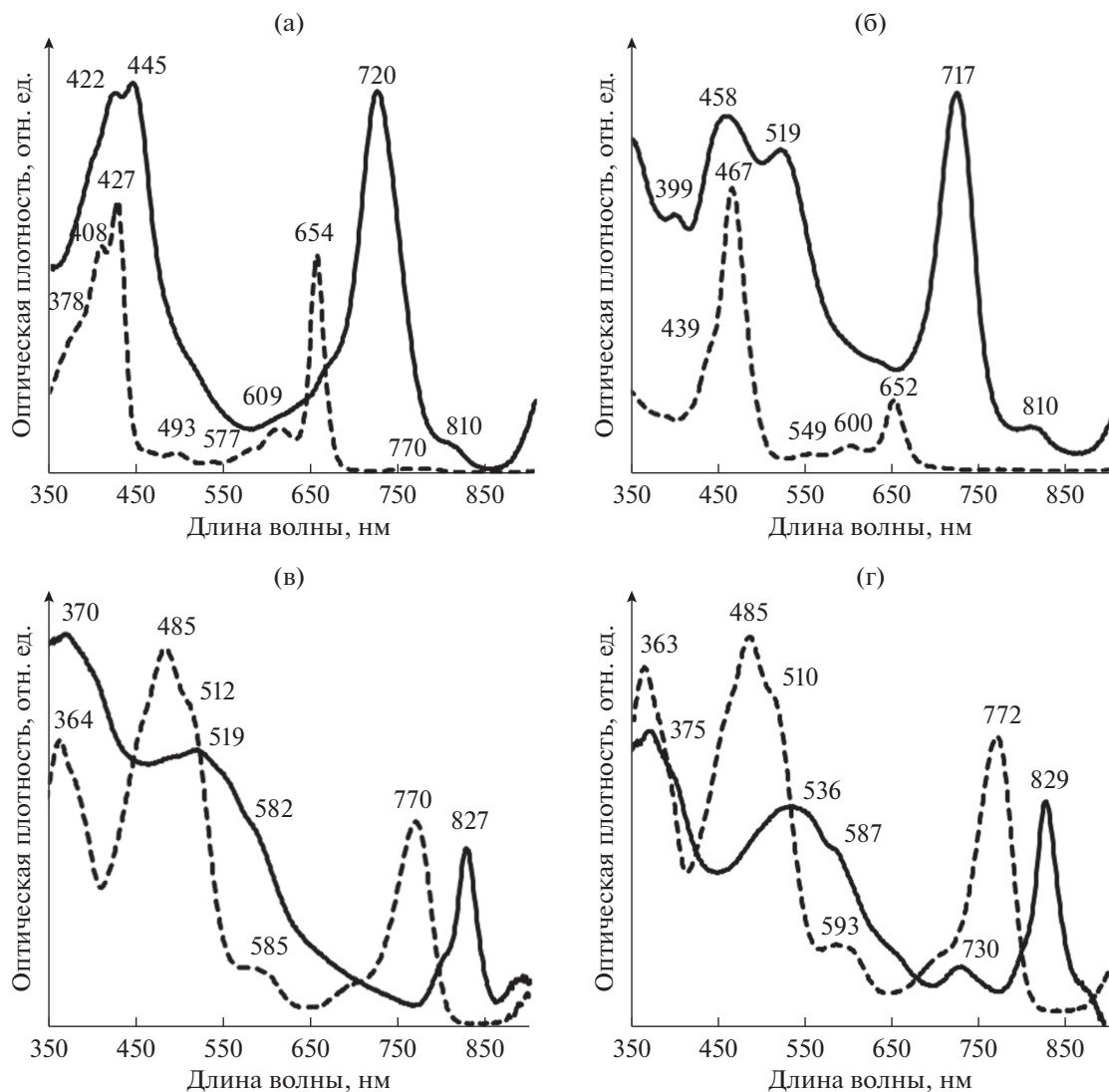


Рис. 7. Спектры поглощения света пигментами анаоксигенных фототрофных бактерий из оз. Большие Хрусломены: а – зелено-окрашенные зеленые серобактерии штамм *GrKhr17*; б – коричнево-окрашенные зеленые серобактерии штамм *BrKhr17*; в – пурпурные серобактерии штамм *AmKhr17*; г – пурпурные серобактерии штамм *TgKhr17*. Сплошная линия – спектр живой культуры в глицерине, пунктирная линия – спектр ацетон-метанольного экстракта пигментов (7 : 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Особенностью оз. Большие Хрусломены является его изоляция от моря искусственной валунной дамбой, которая ограничивает поступление воды из моря во время прилива, и питание пресной водой за счет осадков и с водосбора. Озеро подвержено приливно-отливным течениям, в процессе которых морская вода переливается через дамбу, поступает в мелководную часть озера, где смешивается с опресненной водой верхних слоев, благодаря чему соленость наиболее опресненного слоя в озере поддерживается на уровне 6.5–7.3 г/л (Savichev et al., 2020). Низкая и узкая перемычка, отделяющая оз. Большие Хрусломены от рядом расположенного оз. Банного, испытывающего сильное антропо-

генное влияние, не исключает проникновение из последнего биогенных соединений, стимулирующих развитие водорослей и цианобактерий. Таким образом, в оз. Большие Хрусломены создается стабильное равновесие гидрохимических параметров, основанное на динамическом уравнивании естественных процессов опреснения и заболачивания (за счет затрудненного водообмена с морем и поступления биогенов с поверхностным стоком) и постоянного притока соленой морской воды (разбавляющей и обновляющей поверхностный слой). В озере произошло быстрое (по сравнению с водоемами, отделяющимися естественным путем за счет поднятия суши) развитие застойных процессов: в нижних слоях воды накопился серо-

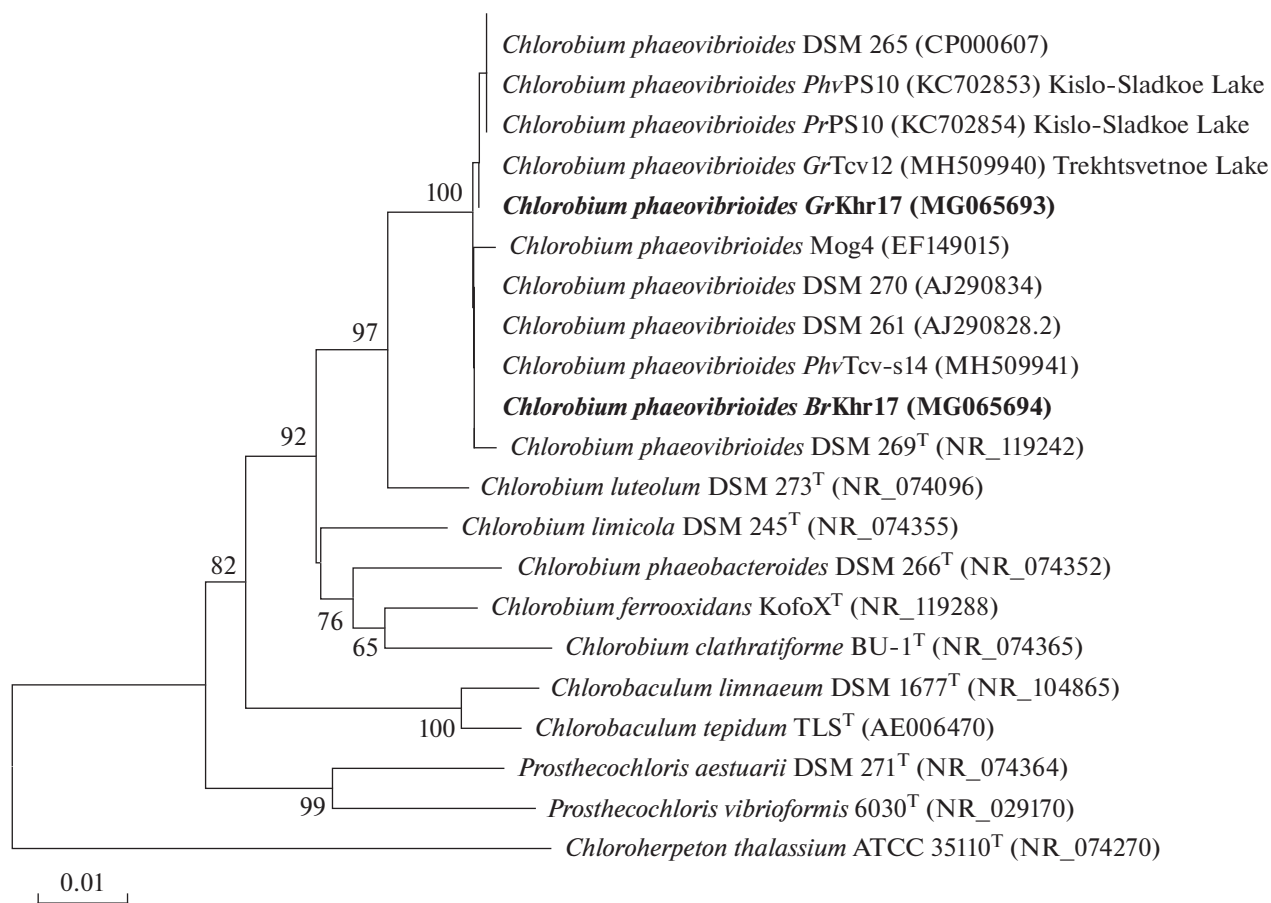


Рис. 8. Филогенетическое дерево, построенное на основе последовательностей генов 16S рРНК (1241 п. н.) филума *Chlorobi*, отражающее филогенетическое положение штаммов *GrKhr17* и *BrKhr17*. Дерево построено с помощью алгоритма maximum likelihood с применением эволюционной модели TN + F + I + G4. Масштабный отрезок соответствует 1 замене на 100 нуклеотидов.

водород и установилась устойчивая стратификация с развитием сообщества АФБ в освещенной зоне хемоклина.

По термохалинным характеристикам оз. Большие Хрусломены походит на оз. Могильное (о. Кильдин, Баренцево море). За счет глубоко залегающего и достаточно соленого мнимоминиона (28‰) в хемоклине оз. Могильное развиваются к/о ЗСБ и небольшое количество ПСБ. Развитие к/о форм АФБ также характерно для морских стратифицированных водоемов. В хемоклине водной толщи Черного моря на глубине 150–180 м (соленость 20.7–21.0‰) найдены к/о ЗСБ (Горленко и соавт., 2005). В зоне хемоклина Бухты Биофильтров (в районе Беломорской биологической станции МГУ) с соленостью 25–27‰ тоже происходит развитие преимущественно к/о видов ЗСБ, а также ПСБ, в то время как з/о ЗСБ вырастали из проб воды только в виде редких колоний (Краснова, Воронов, 2019; Саввичев и соавт., 2022).

В данной работе мы проанализировали содержание пигментов АФБ в оз. Большие Хрусломе-

ны в подледный период в марте 2017 г., когда, на наш взгляд, благодаря затенению воды ледовым покровом, развитие к/о бактерий в хемоклине должно было быть максимальным. Однако, по полученным нами результатам, в слое максимального развития АФБ содержание Бхл *d* з/о ЗСБ существенно превышало содержание Бхл *e* к/о ЗСБ и составляло 77 и 23% соответственно.

Наши работы по озерам Кисло-Сладкое (Лунина и соавт., 2014) и Трехцветное (Лунина и соавт., 2019), находящимся на разных стадиях изоляции от Белого моря, показывают тенденцию развития и доминирования зеленых форм ЗСБ в хемоклине по мере опреснения поверхностного слоя воды. Развитию з/о форм ЗСБ в отделяющихся водоемах также способствует близкое к поверхности нахождение зоны хемоклина и, следовательно, относительно высокая его освещенность. Так, оз. Кисло-Сладкое сообщается с морем во время сизигийных приливов, что прямо сказывается на солености воды и глубине расположения хемоклина в этом водоеме. После таяния льда и

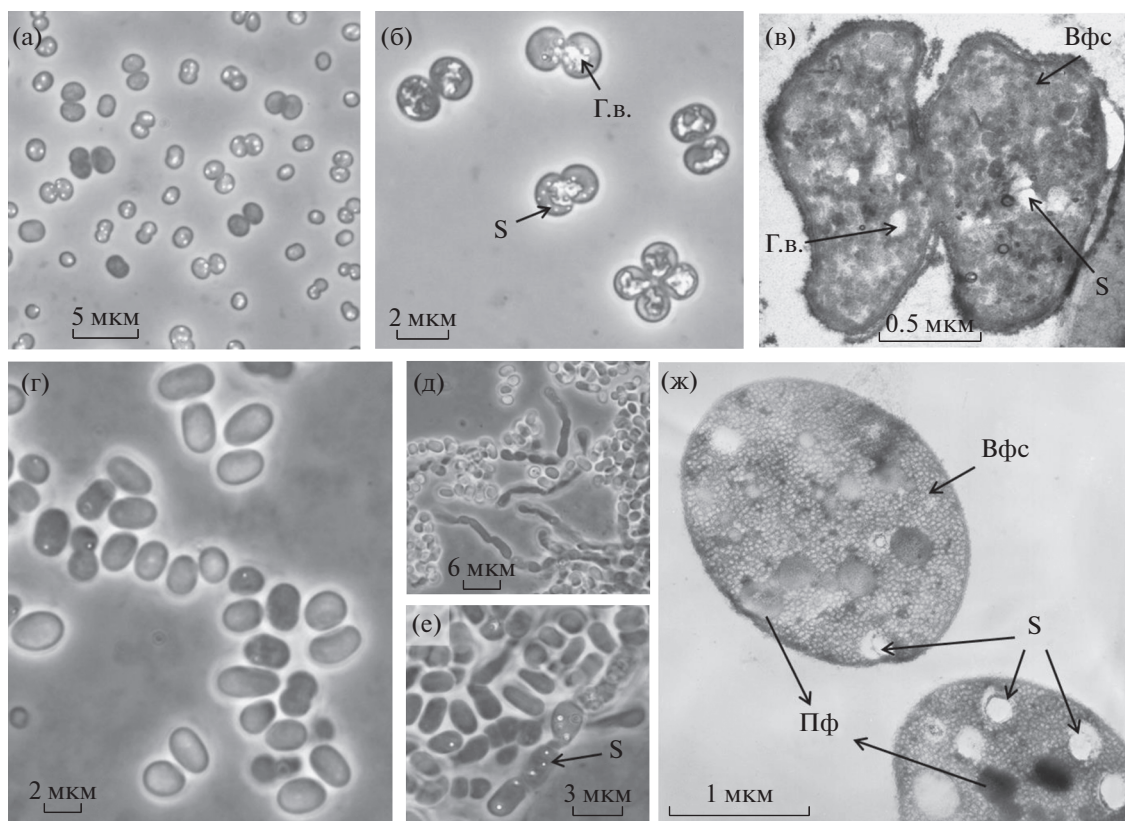


Рис. 9. Морфология и ультратонкое строение клеток пурпурных серобактерий из оз. Большие Хрусломены: штамм *AmKhr17* (а–в), штамм *TcgKhr17* (г–ж). Видны стадии деления крупной клетки с образованием диплококков и тетрад (а), в клетках хорошо различимы мелкие круглые капли серы и крупные неправильной формы газовые вакуоли (б), на срезе видны мелкие газовые вакуоли, характерной для этого увеличения, полигональной формы и везикулярный фотосинтетический аппарат (в). Световая микроскопия, фазовый контраст (а, б, г, д, е); электронные микрофотографии ультратонких срезов клеток бактерий (в, ж). Обозначения: Г.в. – газовые вакуоли; Вфс – везикулярные фотосинтетические мембраны; S – отложения элементарной серы; Пф – предположительно, полифосфаты.

снега соленость поверхностного слоя воды в этом водоеме снижается до 4–7‰, постепенно возрастает в течение лета и достигает морских значений к осени. Глубина залегания хемоклина варьирует, и в разные годы в нем могут доминировать как з/о, так и к/о ЗСБ. Оз. Трехцветное совсем отделилось от моря, поверхностный слой воды в нем полностью опреснен. В оз. Трехцветное сформировалась меромиксия с постоянным хемоклином на глубине 2 м, в котором доминируют з/о ЗСБ, в то время как к/о ЗСБ встречаются в минорном или в единичном количестве.

В оз. Большие Хрусломены в период наших исследований водная толща в зоне максимального развития АФБ и в придонных слоях имела необычный желто-лимонный цвет. Тот же цвет наблюдался нами ранее в придонных слоях оз. Трехцветное, тогда как в хемоклине оз. Трехцветное вода была во все сезоны исследований окрашена в зеленый цвет за счет массового развития з/о ЗСБ. Поскольку в оз. Большие Хрусломены ак-

тивность сообщества АФБ в хемоклине в зимний сезон была крайне низкой, и желтый цвет воды хемоклина не может быть объяснен накоплением биомассы АФБ, мы предположили, что на цвет воды и ее устойчивость к окислению кислородом воздуха могут влиять полисульфиды, образующиеся в результате деятельности микроорганизмов.

Полисульфиды, по-видимому, представляют собой универсальный пул активированной серы, используемой микроорганизмами как в окислительной, так и в восстановительной частях цикла серы. Метод прижизненной рентгеновской абсорбционной спектроскопии, примененный в работе (Prange et al., 2002) для культур бактерий *Chlorobium vibrioforme* (f. *thiosulfatophilum*) DSM 263 (ныне штамм вида *C. phaeovibrioides*) и *Halorhodospira halophila* DSMZ 244T (выделяющих серу вне клеток), а также для культур *Allochroium vinosum* DSMZ 180T, *Thiocapsa roseopersicina* DSMZ 219 и *Marichromatium purpuratum* (ранее *Chromatium purpuratum*) DSMZ 1591T (откладыва-

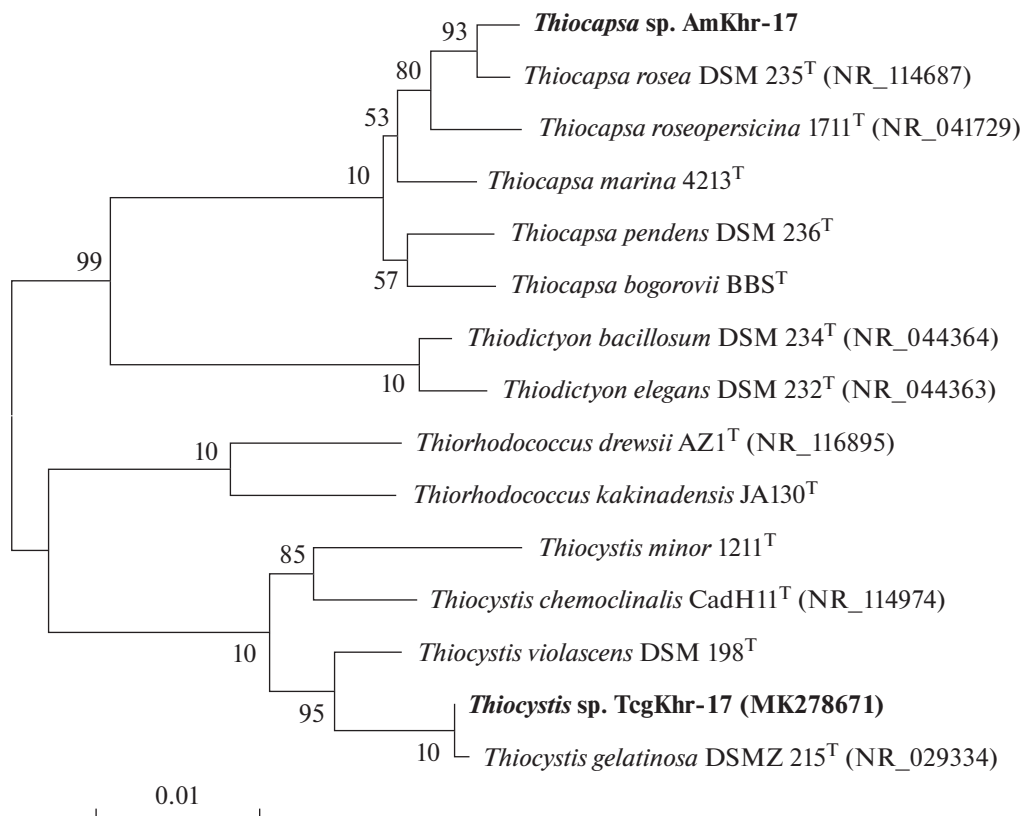


Рис. 10. Филогенетическое дерево, построенное на основе последовательностей генов 16S рРНК (1314 п. н.) семейства *Chromatiaceae*, показывающее филогенетическое положение штаммов *AmKhr-17* и *TcgKhr-17*. Дерево построено с помощью алгоритма maximum likelihood с применением эволюционной модели TN + F + I + G4. Масштабный отрезок соответствует 1 замене на 100 нуклеотидов.

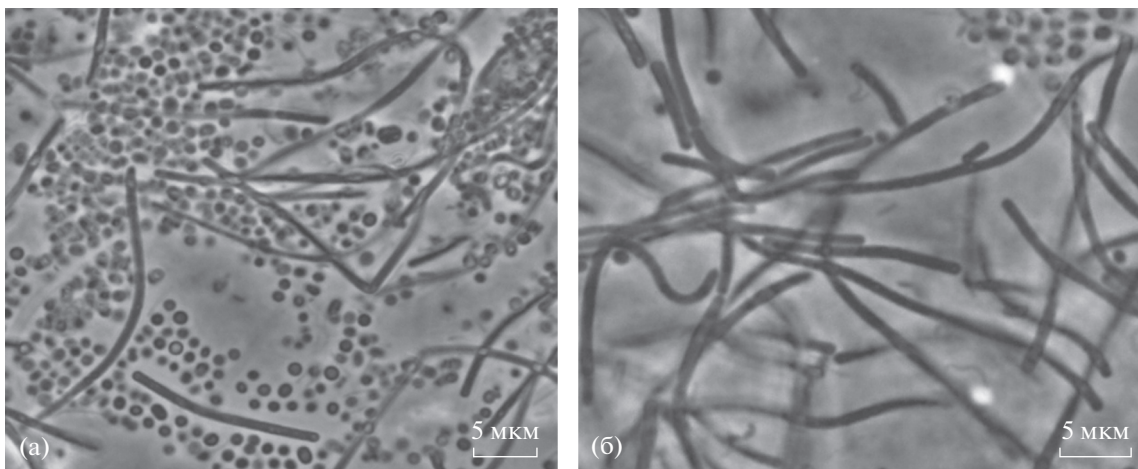


Рис. 11. Зеленые несерные бактерии *Chloroploca* sp. из оз. Большие Хрусломены. Колония пурпурных серобактерий, пронизанная нитями зеленых несерных бактерий (а), нити *Chloroploca* sp. Световая микроскопия, фазовый контраст.

ющих серу внутри клеток), показал высокую вероятность того, что выделяемая этими микроорганизмами сера представлена в виде длинных це-

почек, оканчивающихся атомами углерода ($R-S_n-R$; где $n > 3$). Авторами было показано, что у всех этих бактерий образуются полисульфидные

цепи сопоставимого химического состава, а также было отмечено, что при окислении серы в глобулах полисульфидные цепи укорачиваются.

В пользу выдвигаемых нами предположений также говорит тот факт, что для морских штаммов *Chlorobium vibrioforme* (Горленко и соавт., 1977) (ныне штаммы вида *C. phaeovibrioides*) и для штамма *Chlorobium thiosulfatophilum* (Лис, 1958) (позднее *C. vibrioforme* f. *thiosulfatophilum*, ныне *C. phaeovibrioides* DSM 265, который оказался наиболее филогенетически близким к выделенным нами штаммам) в лабораторных условиях была показана возможность доокисления выделенной ранее серы до сульфата при исчерпании сероводорода в среде.

Поскольку выделенные нами штаммы не используют тиосульфат, но при этом их рост в отсутствие тиосульфата не происходит (что не было замечено для близкородственных штаммов ЗСБ, выделенных нами из ранее изученных озер), мы предполагаем, что промежуточные продукты окисления сульфидов могут быть не только результатом их биогеохимической деятельности, но и играть важную роль для развития самого сообщества АФБ в оз. Большие Хрусломены. Преобладающие продукты окисления сульфидов (полисульфиды, элементная сера, тиосульфат, сульфит и тетратионат) различаются в зависимости от того, является ли процесс биотическим или абиотическим, от типа окислителя и соотношения окислителя к сульфиду (Jørgensen et al., 2019). Для выяснения природы необычной окраски воды хемоклина оз. Большие Хрусломены и химического состава серных соединений в ней требуются дополнительные исследования.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность В.М. Горленко за всестороннюю поддержку в процессе работы, Т.В. Колгановой, И.И. Русанову за консультации, оказанные в процессе подготовки статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (госзадание ФИЦ Биотехнологии РАН). Биогеохимические и молекулярно-генетические исследования проведены за счет средств гранта РНФ № 23-24-00208.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Статья не содержит результатов исследований, где в качестве объектов использовались животные.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Булыгина Е.С., Кузнецов Б.Б., Марусина А.И., Кравченко И.К., Быкова С.А., Колганова Т.В., Гальченко В.Ф. Изучение нуклеотидных последовательностей *nifH* генов у представителей метанотрофных бактерий // Микробиология. 2002. Т. 71. С. 500–508.
- Bulygina E.S., Kuznetsov B.B., Marusina A.I., Turova T.P., Kravchenko I.K., Bykova S.A., Kolganova T.V., Gal'chenko V.F. Study of nucleotide sequences of *nifH* genes in methanotrophic bacteria // Microbiology (Moscow). 2002. V. 71. P. 425–432.
- Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Экология водных микроорганизмов. М.: Наука, 1977. С. 62, 119–130, 151–200.
- Горленко В.М., Михеев П.В., Русанов И.И., Пименов Н.В., Иванов М.В. Экофизиологические свойства фотосинтезирующих бактерий из зоны хемоклина Черного моря // Микробиология. 2005. Т. 74. С. 239–247.
- Gorlenko V.M., Mikheev P.V., Rusanov I.I., Pimenov N.V., Ivanov M.V. Ecophysiological properties of photosynthetic bacteria from the Black Sea chemocline zone // Microbiology (Moscow). 2005. V. 74. P. 201–209.
- Емельянец П.С., Жильцова А.А., Краснова Е.Д., Воронов Д.А., Рымарь В.В., Пацаева С.В. Определение концентрации хлоросомных бактериохлорофиллов по спектрам поглощения клеток зеленых серных бактерий в пробах природной воды // Вестн. Московского ун-та. Сер. 3: Физика, астрономия. 2020. № 2. С. 25–30.
- Emeliantsev P.S., Zhiltsova A.A., Krasnova E.D., Voronov D.A., Rymar V.V., Patsaeva S.V. Quantification of chlorosomal bacteriochlorophylls using absorption spectra of green sulfur bacteria in natural water // Moscow University Physics Bull. 2020. V. 75. № 2. P. 137–142.
- <https://doi.org/10.3103/S0027134920020046>
- Жильцова А.А., Харчева А.В., Краснова Е.Д., Лунина О.Н., Воронов Д.А., Саввичев А.С., Горшкова О.М., Пацаева С.В. Спектральное исследование зеленых серных бактерий в стратифицированных водоемах Кандалакшского залива Белого моря // Оптика атмосферы и океана. 2018. Т. 31. С. 233–239.
- Zhiltsova A.A., Kharcheva A.V., Krasnova E.D., Lunina O.N., Voronov D.A., Savvichev A.S., Gorshkova O.M., Patsaeva S.V. Spectroscopic study of green sulfur bacteria in stratified water bodies of the Kandalaksha Gulf of the White Sea // Atmospheric and Oceanic Optics. 2018. V. 31. P. 390–396.
- <https://doi.org/10.15372/AOO20180315>
- Жильцова А.А., Филиппова О.А., Краснова Е.Д., Воронов Д.А., Пацаева С.В. Сравнительный анализ спектральных методов определения концентрации бактериохлорофилла *d* зеленых серных бактерий в воде // Оптика атмосферы и океана. 2022. Т. 35. С. 312–318.
- Zhiltsova A.A., Filippova O.A., Krasnova E.D., Voronov D.A., Patsaeva S.V. Comparative analysis of spectral methods for determining bacteriochlorophyll *d* concentration in green sulfur bacteria in water // Atmospheric and Oceanic Optics. 2022. V. 35. P. 5627–568.
- <https://doi.org/10.15372/AOO20220411>
- Краснова Е.Д., Воронов Д.А., Демиденко Н.А., Кокрятская Н.М., Пантюлин А.Н., Рогатых Т.А., Самсонов Т.Е., Фролова Н.Л., Шапоренко С.И. К инвентаризации реликтовых водоемов, отделяющихся от Белого моря // Комплексные исследования Бабы моря, полу-изо-

- лированной беломорской лагуны: геология, гидрология, биота — изменения на фоне трансгрессии берегов. Труды Беломорской биостанции МГУ. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2016. Т. 12. С. 211–241.
- Краснова Е.Д., Воронов Д.А. Подводное меромиктическое озеро в бухте Биофильтров (Белое море, Канда-лакшский залив, окрестности Беломорской биостанции МГУ) // Геология морей и океанов: Материалы XXII Международной научной конференции (Школы) по морской геологии. М.: ИО РАН, 2019. Т. 3. С. 165–169.
- Лис Г. Биохимия автотрофных бактерий. М.: Изд-во иностранной литературы, 1958.
- Лунина О.Н., Саввичев А.С., Кузнецов Б.Б., Пименов Н.В., Горленко В.М. Аноксигенные фототрофные бактерии стратифицированного озера Кисло-Сладкое, (Канда-лакшский залив Белого моря) // Микробиология. 2014. Т. 83. С. 90–108.
- Lunina O.N., Savvichev A.S., Kuznetsov B.B., Pimenov N.V., Gorlenko V.M. Anoxic phototrophic bacteria of the Kislo-Sladkoe stratified lake (White Sea, Kandalaksha Bay) // Microbiology (Moscow). 2013. V. 82. P. 815–832. <https://doi.org/10.1134/S0026261714010081>
- Лунина О.Н., Саввичев А.С., Краснова Е.Д., Коктытская Н.М., Веслополова Е.Ф., Кузнецов Б.Б., Горленко В.М. Сукцессионная динамика развития сообщества аноксигенных фототрофных бактерий в озере Кисло-Сладкое (Кандалакшский залив Белого моря) // Микробиология. 2016. Т. 85. С. 531–544.
- Lunina O.N., Savvichev A.S., Krasnova E.D., Kokryatskaya N.M., Veslopolova E.F., Kuznetsov B.B., Gorlenko V.M. Succession processes in the anoxygenic phototrophic bacterial community in Lake Kislo-Sladkoe (Kandalaksha Bay, White Sea) // Microbiology (Moscow). 2016. V. 85. P. 570–582. <https://doi.org/10.1134/S0026261716050118>
- Лунина О.Н., Саввичев А.С., Бабенко В.В., Болдырева Д.И., Кузнецов Б.Б., Краснова Е.Д., Кокрятская Н.М., Веслополова Е.Ф., Воронов Д.А., Демиденко Н.А., Летарова М.А., Летаров А.В., Горленко В.М. Сезонные изменения структуры сообщества аноксигенных фототрофных бактерий меромиктического озера Трехцветное (Кандалакшский залив, Белого моря) // Микробиология. 2019. Т. 88. С. 100–115.
- Lunina O.N., Savvichev A.S., Babenko V.V., Boldyreva D.I., Kuznetsov B.B., Kolganova T.V., Krasnova E.D., Kokryatskaya N.M., Veslopolova E.F., Voronov D.A., Demidenko N.A., Letarova M.A., Letarov A.V., Gorlenko V.M. Seasonal changes in the community structure of anoxygenic phototrophic bacteria in meromictic Trekhtsvetnoe Lake (Kandalaksha Bay, White sea) // Microbiology (Moscow). 2019. V. 88. P. 100–114. <https://doi.org/10.1134/S0026261719010041>
- Саввичев А.С., Кадников В.В., Каллистова А.Ю., Русанов И.И., Воронов Д.А., Краснова Е.Д., Равин Н.В., Пименов Н.В. Фотозависимое окисление метана — важнейший процесс цикла метана в водной толще полярного озера Большие Хрусломены // Микробиология. 2019. Т. 88. С. 367–371.
- Savvichev A.S., Kadnikov V.V., Kallistova A.Yu., Rusanov I.I., Voronov D.A., Krasnova E.D., Ravin N.V., Pimenov N.V. Light-dependent methane oxidation is the major process of the methane cycle in the water column of the Bol'shie Khruslomeny Polar Lake // Microbiology (Moscow). 2019. V. 88. P. 370–374. <https://doi.org/10.1134/S0026365619030108>
- Саввичев А.С., Кулакова А.А., Краснова Е.Д., Воронов Д.А., Кадников В.В., Белецкий А.В., Козяева В.В., Русанов И.И., Летарова М.А., Веслополова Е.Ф., Беленкова В.В., Демиденко Н.А., Горленко В.М. Микробное сообщество морского меромиктического желоба (Бухта Биофильтров), расположенного в Кандалакшском заливе Белого моря // Микробиология. 2022. Т. 91. С. 492–506.
- Savvichev A.S., Kulakova A.A., Krasnova E.D., Voronov D.A., Kadnikov V.V., Beletskii A.V., Kozyaeva V.V., Rusanov I.I., Letarova M.A., Veslopolova E.F., Belenkova V.V., Demidenko N.A., Gorlenko V.M. Microbial community of a marine meromictic trough (Biofilter Bay) in the Kandalaksha Bay, White Sea // Microbiology (Moscow). 2022. V. 91. P. 432–444. <https://doi.org/10.1134/S0026261722100940>
- Сент-Илер К.К. Отчет об экскурсии на Белое море студентом естественников Юрьевского университета летом 1908 года // Ученые записки Императорского Юрьевского Университета. 1909. Т. 17. С. 1–67.
- Федулов В.Ю., Беляев Н.А., Коновалов Б.В. Геохимические исследования оз. Большие Хрусломены // Процессы в геосредах. 2018. Т. 17. С. 143–144.
- Харчева А.В., Жильцова А.А., Лунина О.Н., Краснова Е.Д., Воронов Д.А., Саввичев А.С., Пацаева С.В. Флуоресценция бактериохлорофиллов зеленых серных бактерий в анаэробной зоне двух природных водоемов // Вестн. Московского ун-та. Сер. 3: Физика, астрономия. 2018. № 4. С. 40–45.
- Kharcheva A.V., Zhiltsova A.A., Lunina O.N., Krasnova E.D., Voronov D.A., Savvichev A.S., Patsaeva S.V. Bacteriochlorophyll fluorescence of green sulfur bacteria in the anaerobic zone of two natural water bodies // Moscow University Physics Bull. 2018. V. 73. № 4. P. 377–381. <https://doi.org/10.3103/S0027134918040082>
- Berg J.S., Schwedt A., Kreutzmann A.-C., Kuypers M.M.M., Milucka J. Polysulfides as intermediates in the oxidation of sulfide to sulfate by *Beggiatoa* spp. // Appl. Environ. Microbiol. 2014. V. 80. P. 629–636.
- Grouzdev D.S., Lunina O.N., Gaisin V.A., Krutkina M.S., Baslerov R.V., Savvichev A.S., Gorlenko V.M. Genome sequences of green- and brown-colored strains of *Chlorobium phaeovibrioides* with gas vesicles // Microbiol. Resour. Anounc. 2019. V. 8. e00711–19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00711-19>
- Hoang D.T., Chernomor O., von Haeseler A., Minh B.Q., Vinh L.S. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation // Mol. Biol. Evol. 2017. V. 35. P. 518–522. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>
- Jørgensen B.B., Findlay A.J., Pellerin A. The Biogeochemical sulfur cycle of marine sediments // Front. Microbiol. 2019. V. 10. Art. 849. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00849>
- Kadnikov V.V., Savvichev A.S., Mardanov A.V., Beletsky A.V., Ravin N.V., Pimenov N.V. Metagenomic data of the microbial community of the chemocline layer of the meromictic subarctic Lake Bolshie Hruslomeny, North European Russia // Data in Brief. 2019. V. 23. P. 103800. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.103800>
- Kalyanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F., von Haeseler A., Jermiin L.S. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates // Nat. Methods. 2017. V. 14.

P. 587–589.

<https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>

Katoh K., Standley D.M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability // *Mol. Biol. Evol.* 2013. V. 30. P. 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

Kharcheva A.V., Krasnova E.D., Gorlenko V.M., Lunina O.N., Savvichev A.S., Voronov D.A., Zhiltsova A.A., Patsaeva S.V. Depth profiles of spectral and hydrological characteristics of water and their relation to abundances of green sulfur bacteria in the stratified lakes of the White sea // *Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering*. 2016. V. 9917. P. 99170Q-1–99170Q-16. <https://doi.org/10.1117/12.2229855>

Kharcheva A.V., Zhiltsova A.A., Lunina O.N., Savvichev A.S., Patsaeva S.V. Quantification of two forms of green sulfur bacteria in their natural habitat using bacteriochlorophyll fluorescence spectra // *Proc. SPIE*. 2016b. V. 9917. P. 99170P-0–99170P-8. <https://doi.org/10.1117/12.2229848>

Kleinjan W.E., Keizer A., Janssen A.J.H. Biologically produced sulfur // *Top. Curr. Chem.* 2003. V. 230. P. 167–188. <https://doi.org/10.1007/b12114>

Krasnova E., Matorin D., Belevich T., Efimova L., Kharcheva A., Kokryatskaya N., Losyuk G., Todorenko D., Voronov D., Patsaeva S. The characteristic pattern of multiple colored layers in coastal stratified lakes in the process of separation from the White sea // *Chinese J. Oceanol. Limnol.* 2018. P. 1–16. <https://doi.org/10.1007/s00343-018-7323-2>

Lane D.J. 16S/23S sequencing // *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* / Eds. Stackebrandt E., Goodfellow M. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. New York. 1991. P. 115–175.

<https://doi.org/10.12691/jaem-2-4-11>

Montesinos E., Guerrero R., Abella C., Esteve I. Ecology and physiology of the competition for light between *Chlorobium*

limicola and *Chlorobium paeobacteroides* in natural habitats // *Appl. Environ. Microbiol.* 1983. V. 46. P. 1008. <https://doi.org/10.1128/aem.46.5.1007-1016.1983>

Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 2015. V. 32. P. 268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>

Overmann J., Tilzer M.M. Control of primary productivity and the significance of photosynthetic bacteria in a meromictic kettle lake Mitterer Buchensee, West-Germany // *Aquatic Sci.* 1989. V. 51. P. 4. <https://doi.org/10.1007/bf00877171>

Pfennig N., Lippert K.D. Über das Vitamin B₁₂-Bedürfnis phototropher Schwefelbakterien // *Arch. Mikrobiol.* 1966. V. 55. P. 245–256. <https://doi.org/10.1007/BF00410246>

Prange A., Arzberger I., Engemann C., Modrow H., Schumann O., Trüper H.G., Steudel R., Dahl C., Hormes J. *In situ* analysis of sulfur in the sulfur globules of phototrophic sulfur bacteria by X-ray absorption near edge spectroscopy // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. V. 1428. P. 446–454.

Savvichev A.S., Kadnikov V.V., Rusanov I.I., Beletsky A.V., Krasnova E.D., Voronov D.A., Kallistova A.Yu., Veslopolova E.F., Zakharova E.E., Kokryatskaya N.M., Losyuk G.N., Demidenko N.A., Belyaev N.A., Sigalevich P.A., Mardanov A.V., Ravin N.V., Pimenov N.V. Microbial processes and microbial communities in the water column of the polar meromictic lake Bol'shie Khruslomeny at the White sea coast // *Front. Microbiol.* 2020. V. 11. P. 1945. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01945>

Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1977. V. 84. P. 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>

Anoxygenic Phototrophic Bacteria of the Meromictic Lake Bol'shie Khruslomeny (Oleniy Island, Kandalaksha Gulf, Murmansk Oblast, Russia)

O. N. Lunina^{1, *}, D. S. Grouzdev², S. V. Patsaeva³, A. A. Zhil'tsova³, N. E. Suzina⁴, E. D. Krasnova⁵, D. A. Voronov⁶, N. M. Kokryatskaya⁷, E. F. Veslopolova¹, and A. S. Savvichev¹

¹ Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117312 Russia

² ciBear OU, Tartu Mnt 67/1-13b, Kesklinna Linnaosa, Tallinn, 10115 Estonia

³ Faculty of Physics, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

⁴ Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences", Pushchino, 142290 Russia

⁵ Pertsov White Sea Biological Station, Biological Faculty, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

⁶ Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, 127051 Russia

⁷ Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Arkhangalsk, 163020 Russia

*e-mail: onlun@yandex.ru

Received May 16, 2023; revised July 3, 2023; accepted July 4, 2023

Abstract—The composition and structure of the anoxygenic phototrophic bacterial (APB) community in the water column of Lake Bol'shie Khruslomeny during winter were investigated. The community developed at the depth of 4.25 m, and its activity during the ice-covered period was very low (6.2 $\mu\text{mol C L}^{-1} \text{ day}^{-1}$). The water in the zone of highest development of phototrophic bacteria was of an unusual lemon-yellow color,

probably due to the production and accumulation of polysulfides. The near-bottom water was also of lemon-yellow color and was resistant to oxidation by the air oxygen. In the zone of peak APB development the content of BChl *d* from green-colored green sulfur bacteria was considerably higher than that of BChl *e* from brown-colored green sulfur bacteria: 77 and 23%, respectively. The cultures of green and purple sulfur bacteria were isolated from lake water, and their physiological and genetic characteristics were determined. Two strains of green sulfur bacteria (brown-colored *BrKhr17* and green-colored *GrKhr17*) contained gas vacuoles in their cells. Phylogenetically they were most closely related to the green-colored strain *Chlorobium phaeovibrioides* DSM 265 and were identified as new *Chlorobium phaeovibrioides* strains.

Keywords: arctic ecosystems, White Sea, meromictic lakes, polysulfides, green sulfur bacteria, *Chlorobium phaeovibrioides*, purple sulfur bacteria, *Thiocapsa*, *Thiocystis gelatinosa*, bacteriochlorophylls *d* and *e*, fluorescent pigment separation