

# Phototrophic bacterioplankton of four stratified boreal ferruginous lakes of the Northern Hemisphere: comparative analysis of vertical 16S rRNA profiles

Short communication  
LIMNOLOGY  
FRESHWATER  
BIOLOGY

Gorbunov M.Yu.\*

Samara Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Institute of Ecology of the Volga Basin of the Russian Academy of Sciences, st. Komzina, 10, Togliatti, 445003 Russia

**ABSTRACT.** The aim of the study was to analyze the phototrophic bacterioplankton composition and vertical structure of Lake Linevo, a polyhumic iron-rich lake in the Raifa section of the Volga-Kama Nature Reserve (Tatarstan, Russia), and three other ferruginous boreal lakes in Russia, Finland, and Canada. The results demonstrated the presence of identical phylogenetic groups and dominant operational taxonomic units, but the intensity of development and overall structure of the phototrophic bacterioplankton community was nevertheless different. Highest abundance was detected in Lake Linevo which had a number of unique features when compared to the other studied lakes. In particular, it had the largest number of phototrophic bacteria and a significant abundance and diversity of phototrophic Chloroflexales that were scarce in the other lakes. It seems desirable to further characterize the oxygen-depleted zone of this lake in more detail and, if possibly, to apply metagenomic and whole-genome analysis methods that have already been used in lakes Lovojärvi and L227 as well as many other boreal brown-water lakes.

**Keywords:** boreal lakes, ferruginous hypolimnion, bacterioplankton, phototrophic bacteria

**For citation:** Gorbunov M.Yu. Phototrophic bacterioplankton of four stratified boreal ferruginous lakes of the Northern Hemisphere: comparative analysis of vertical 16S rRNA profiles // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 900-907. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-900](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-900)

## 1. Introduction

Many stratified lakes in the temperate forest zone have a ferruginous hypolimnion (Schiff et al., 2017). Such lakes are relatively rare in the Middle Volga region, and sporadically found mainly in the Mari and Nizhny Novgorod Polesie regions. However, there are several lakes of this type on the territory of the Raifa section of the Volga-Kama Nature Reserve, near Kazan city. The most characteristic of these is Lake Linevo. Since 2006, we have been studying the vertical structure of phototrophic bacterioplankton of this lake using “classical” methods. In 2022, we also determined the phylogenetic composition of microorganisms for the first time based on metabarcoding data from the hypervariable V4 region of the 16S rRNA gene at five different horizons.

This study aims to compare the phototrophic bacterioplankton composition and vertical structure of this particular lake with the available data from three other ferruginous forest lakes: Lake Svetloe (Arkhangel'sk region, Russia), Lake Lovojärvi (Finland) and Lake

L227 (Experimental Lake Area, Ontario, Canada), to evaluate the similarities and differences between these lakes, and particularly the typical and unique features of Lake Linevo.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Physicochemical conditions

Lake Linevo is a flow-through lake on the Ser-Bulak creek with maximum depth of 5.75 m and surface area of about 0.07 km<sup>2</sup>. (Unkovskaya et al., 2009) Its water has a high color, 270 oPt, low mineralization and even in the surface layer contains high concentrations of iron (more than 10-20 µM). In summer, the lake is stratified; water layers below 1.5-2 m are sharply hypoxic or completely deprived of oxygen. Iron concentration in the near-bottom layers varied from 0.27 mM (2006) to 0.17 mM (2019) while the sulfide concentrations were always less than 10 µM.

The characteristics of lakes L227, Lovojärvi and Svetloe are given in the respective articles (Schiff et

\*Corresponding author.

E-mail address: [myugor1960@gmail.com](mailto:myugor1960@gmail.com) (M.Yu. Gorbunov)

Received: June 05, 2024; Accepted: June 20, 2024;

Available online: August 30, 2024

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



al., 2017; van Grinsven et al., 2021, Kallistova et al., 2018). All these lakes have a high content of Fe (II) in the bottom layers, which reaches 0.17 mM, 0.83 mM and 0.24 mM, respectively. Lakes L227 and Lovojärvi are polyhumic, Lake Svetloe is clear-water and has confirmed meromixis. Lake Lovojärvi has a halocline from 12 to 15 m, below which, apparently, there is a small monimolimnion, which was not mentioned in (van Grinsven et al., 2021).

Deposition of the results of high-throughput sequencing of bacterioplankton samples from Lake Linevo is in preparation; archived results from the remaining lakes have been downloaded from the public SRA archives database (NCBI). Run numbers are: Lake L227 (2014) – SRR5050827, SRR5050844, SRR5050836, SRR5050838, SRR5050833 and SRR5050835; Lake Lovojärvi – SRR14118646 - SRR14118649, SRR14118651 - SRR14118658; Lake Svetloe – SRR6059086 - SRR6059086.

## 2.2. Bioinformatics processing

Paired sequences from lakes L227, Lovojärvi and Linevo were initially merged using the Usearch program (Edgar, 2010). The positions of primer sequences 515f and 806r (Walters et al., 2015) were determined; the fragments delimited by primers sequences were extracted, and the reads in which these sequences were not found were discarded. Further processing and clustering into operational taxonomic units (OTUs) was carried out using the Usearch program according to the standard pipeline.

The taxonomy of the obtained OTUs was assigned using the SINA online service on the Arb-Silva platform (database v.138.0) and refined using the databases PR2 and RDP v.19 and 16S-rRNA gene collection GTDB\_bac120\_arc53\_ssu\_r214\_fullTaxo.fa (Ali, 2023) as well as by search in Genbank using BLAST. OTUs identified as belonging to eukaryotes, mitochondria and chloroplasts were excluded from further analysis.

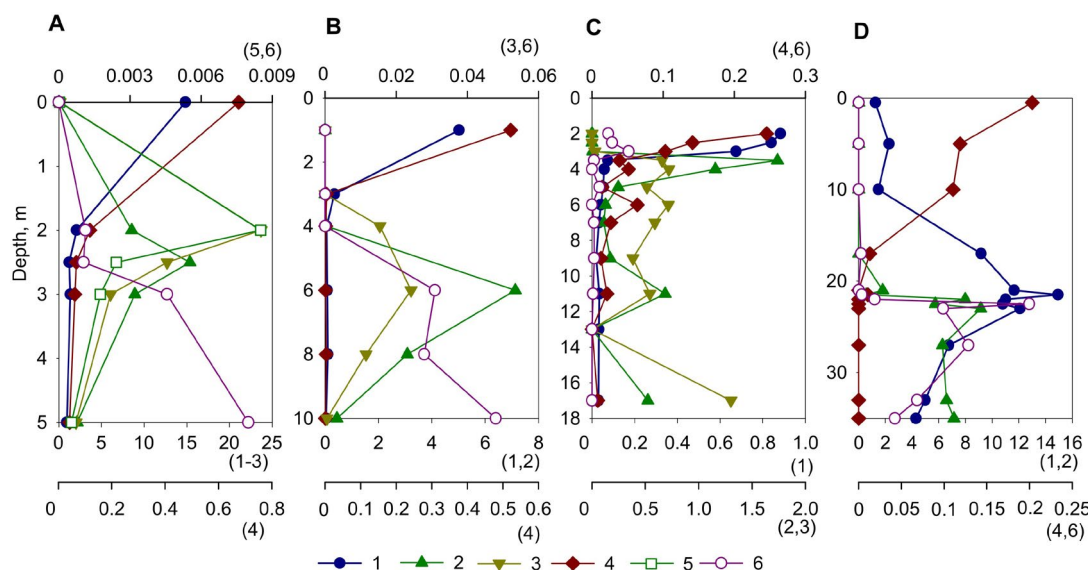
## 3. Results and discussion

The pooled library sequences were clustered into 7,717 prokaryotic operational taxonomic units (OTUs); 520 of these belonged to Archaea (10 phyla), 7,039 belonged to Bacteria (58 phyla) and 158 were unclassified at the kingdom level. The average number of ten bacterial phyla (in descending order: Pseudomonadota, Bacteroidetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Chloroflexi, Desulfobacteria, Patescibacteria, Cyanobacteria, Planctomycota and Acidobacteria) and one archaeal phylum (Halobacteria) exceeded 1%.

Phototrophic bacteria in lakes were represented mainly by oxygenic cyanobacteria and anoxygenic Chlorobiaceae and Chloroflexaceae. Purple sulfur bacteria, Chromatiaceae, were almost absent. Identification of non-sulfur and aerobic APBs from the phyla Pseudomonadota and Gemmatimonadota, using the V4 region of the 16S rRNA, is hardly possible.

Cyanobacteria except for clear-water Lake Svetloe, were most numerous in the epilimnion; below their abundance decreases sharply (Figure A-C). In Lake Svetloye, their share was maximal in the chemocline zone, at 20-23 m (Figure D). The dominant group in all lakes was the family Cyanobiaceae, which includes single-celled picocyanobacteria and small-celled colonial forms, traditionally assigned to genera *Anathece*, *Aphanocapsa*, *Merismopedia*, *Cyanodictyon* and even some *Microcystis* (Callieri et al., 2012). In L227 Cyanobiaceae accounted for about half of all cyanobacteria, while in other lakes its abundance usually exceeds 80–90%. The rest of the cyanobacterial OTUs belonged mostly to filamentous forms, among which two families, Pseudanabaenaceae and Nostocaceae, were prominent. Although a total of 46 OTU belonging to Cyanobacteria were detected, only five, four *Cyanobia* and *Dolichospermium* sp. (Nostocaceae), were found in all lakes, and four other OTU were present in three of four studied lakes.

Among anoxygenic phototrophs, Chlorobia was the most important in all lakes. The dominant OTU-8



**Fig.** Vertical distribution of taxonomic groups of phototrophic bacteria in the studied lakes: A - lake. Linevo, B - lake L227, N - lake Lovojärvi, D - lake Svetloe. Designations of taxa: 1 - Cyanobacteriia, 2 - Chlorobiales, 3 - Chloroflexales, 4 - Roseflexaceae, 5 - Ca. Chloroheliales (54-19), 6 - Chromatiaceae. The scale along the x-axes is given as a percentage of total reads. The taxa associated with these axes is indicated in parentheses.

sequence matches the *Chlorobium* sp903851385 and is similar to the common *Pelodictyon clathratiforme* 4DE and two photoferrotrophs, *C. feroxidans* Kofox and *Ca. Chlorobium masyuteum*, suggesting possible iron oxidizing activity; the next most abundant OTU-107, which differs by one nucleotide from the *Chlorobium* sp909394635 (GCA\_90994463.1), is far from a photoferrotrophic species, but was isolated from a small forest lake, Lomtjärnan (Sweden), with a high methane content. This OTU occurs in significant amounts only in Lake Linevo, along with OTU-5599, which has no closely related cultured analogues and may belong to the epibionts of phototrophic consortia (similarity to the clone AJ272091 98.81%).

The most characteristic feature of bacterio-plankton in the anaerobic zone of Lake Linevo from the very beginning of our research there was the presence of planktonic Chloroflexales (Gorbunov, 2011) morphologically identified as “*Chloronema giganteum*”. According to metabarcoding data, fifteen OTUs of the phototrophic Chloroflexia were found in the studied lakes, twelve of them belonged to the Chloroflexaceae family. Eleven of these OTUs were present in Lake Linevo while the remaining one was found only in Lake L227. Only two OTU were registered in each of the lakes, L227 and Lovöjärvi, and they were absent from Lake Svetloe. Only OTU-48 and OTU-636 belonged to the *Chloronema giganteum* phylogenetic lineage GNSB-1. Both of them were found in Lake Linevo and were absent from other lakes. OTE-48 was almost absent at a depth of 2 m, but developed at 2.4 and 3 m, reaching an abundance of 2-3.5%. The share of the OTU-636 did not exceed 0.03%.

Six detected OTUs formed a common group with clone ENRICH SisoF2F (EU918581) from Lake Siso (Bañeras et al., 2009), and are more distantly related to the uncultured clones Um-2 (KP341999) from the microbial mat of the Umkey spring (Buryatia), and CAL M1 (FR675955) from ferruginous sands of Elba Island (Italy). These OTUs are distant from all cultured species. These included OTU-19, the absolute dominant in the lake Linevo at a depth of 2 m, where its abundance exceeded 10% of the total. The remaining five OTUs were sparse. Three more clones, OTU-50, OTU-67 and OTU-1319, belonged to the genus *Oscillochloris*. The first two OTUs reached a population of 4-5% at a depth of 2 m in the lake Linevo, and were found in small quantities in lake Lovöjärvi, and the third OTU was present in lake L227.

Two minor OTUs found in the epilimnion of all lakes belonged to the genus UBA965 (Roseiflexaceae). Since members of this genus contain the *pufM* gene and develop in the aerobic layer of many freshwater bodies (Villena-Aleman et al., 2023), they are likely aerobic APB. Thus, they were present in the epilimnion of the studied lakes and significantly reduced their numbers with depth (Fig.). These OTUs were the only members of Chloroflexales detected in Lake Svetloe. Clone OTU-383 found in the metalimnion of Lake Linevo had 94% similarity to the recently described *Ca. Chlorohelix allophototropa* (L227-S17 sp013390565). Noteworthy, no representatives of this genus were found in Lake L227 itself in 2014.

## 4. Conclusions

The presented data demonstrate that, despite the presence of similar metabolic groups of bacteria and archaea and individual dominant operational taxonomic units (OTUs), the overall structure of bacterio-plankton communities in ferruginous lakes differs. The ratios of metabolic groups and their subgroups are relatively stable within each lake but there is a sharp contrast between lakes which is often difficult to explain.

Lake Linevo has several unique features compared to other studied lakes. It has the largest development of phototrophic bacteria overall, as well as a significant development and diversity of phototrophic Chloroflexota, which are minor even in Lake L227. In future, it would be desirable to obtain more data to fully characterize the oxycline zone of this lake, especially the upper part of the oxycline zone. Given the presence of unidentified dominant sequences, the use of metagenomic and genome-wide analysis methods may have good prospects for studying this lake.

## Acknowledgements

The work was carried out within the framework of a State Assignment #122032500063-0 “Change, sustainability and conservation of biological diversity ... of the Volga basin”.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Ali A. 2023. DADA2 formatted 16S rRNA gene sequences for both bacteria & archaea (4.4) [Data set]. Zenodo. DOI: [10.5281/zenodo.10403693](https://doi.org/10.5281/zenodo.10403693)
- Bañeras L., Gich F., Martinez-Medina M. et al. 2009. New phylotypes of mesophilic filamentous anoxygenic phototrophic bacteria enriched from sulfide-containing environments. *Environmental microbiology reports* 1(1): 86-93. DOI: [10.1111/j.1758-2229.2008.00009.x](https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00009.x)
- Callieri C., Cronberg G., Stockner J.G. 2012. Freshwater picocyanobacteria: single cells, microcolonies and colonial forms. In: *Ecology of Cyanobacteria II: Their diversity in space and time*. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 229-269. DOI: [10.1007/978-94-007-3855-3\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_8)
- Edgar R.C. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26(19): 2460-2461. DOI: [10.1093/bioinformatics/btq461](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461)
- Gorbunov M.Yu. 2011. Vertical distribution of bacteriochlorophylls in humic lakes of the Volga-Kama National Biosphere reserve (Tatarstan Republic). *Povolzhsky Ecologicheskij Zhurnal [Volga Region Ecological Journal]* (3): 280-293. (in Russian)
- Kallistova A., Kadnikov V., Rusanov I. et al. 2018. Microbial communities involved in aerobic and anaerobic methane cycling in a meromictic ferruginous subarctic lake. *Aquatic Microbial Ecology* 82(1): 1-18. DOI: [10.3354/ame01878](https://doi.org/10.3354/ame01878)
- Schiff S.L., Tsuji J.M., Wu L. et al. 2017. Millions of boreal shield lakes can be used to probe Archaeal Ocean biogeochemistry. *Scientific reports* 7(1): 46708. DOI: [10.1038/srep46708](https://doi.org/10.1038/srep46708)

Unkovskaya E.N., Shagidullin R.R., Tarasov O.Yu et al. 2009. The dynamics of the chemical composition of the lakes of the Volga-Kama Reserve. Samarskaya Luka: problemy regional'noj i global'noj ekologii [Samarskaya Luka: problems of regional and global ecology]. 18(3): 114-120. (in Russian)

Van Grinsven S., Oswald K., Wehrli B. et al. 2021. Methane oxidation in the waters of a humics-rich boreal lake stimulated by photosynthesis, nitrite, Fe (III) and humics. *Biogeosciences* 18: 3087–3101. DOI: [10.5194/bg-18-3087-2021](https://doi.org/10.5194/bg-18-3087-2021)

Villena-Aleman C., Mujakić I., Porcal P. et al. 2023. Diversity dynamics of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in a freshwater lake. *Environmental Microbiology Reports* 15(1): 60-71. DOI: [10.1111/1758-2229.13131](https://doi.org/10.1111/1758-2229.13131)

Walters W., Hyde E.R., Berg-Lyons D. et al. 2015. Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys. *mSystems* 1(1): e00009-15. DOI: [10.1128/mSystems.00009-15](https://doi.org/10.1128/mSystems.00009-15)



# Фототрофный бактериопланктон четырех стратифицированных ферругинозных озер лесной зоны Северного полушария: сравнительный анализ вертикальных профилей 16S рРНК

Краткое сообщение

LIMNOLOGY  
FRESHWATER  
BIOLOGY

Горбунов М.Ю.\*

Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, 445003 Россия

**АННОТАЦИЯ.** Целью исследования был анализ состава и вертикальной структуры фототрофного бактериопланктона полигумозного ферругинозного озера Линево Раифского участка Волжско-Камского заповедника (Татарстан, Россия) и трех других ферругинозных бореальных озер России, Финляндии и Канады. Результаты анализа продемонстрировали преобладание идентичных филогенетических групп и доминирующих операционных таксономических единиц фототрофных бактерий. Однако степень развития и структура фототрофного бактериопланктона, тем не менее, была различной. Наибольшая численность фототрофных бактерий отмечена в озере Линево, которое имело ряд уникальных особенностей по сравнению с другими изученными озерами. В частности, в нем значительная численность и разнообразие фототрофных Chloroflexales, которые были редки в других озерах. Представляется перспективным более детально охарактеризовать зону окислина этого озера и, по возможности, применить методы метагеномного и полногеномного анализа, которые уже были использованы в исследованиях озер Ловоярви и L227, а также многих других темноводных бореальных озер.

**Ключевые слова:** лесные озера, ферругинозный гиполимнион, бактериопланктон, фототрофные бактерии

Для цитирования: Горбунов М.Ю. Фототрофный бактериопланктон четырех стратифицированных ферругинозных озер лесной зоны Северного полушария: сравнительный анализ вертикальных профилей 16S рРНК // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 900-907. DOI: [10.31951/2658-3518-2024-A-4-900](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2024-A-4-900)

## 1. Введение

Многие стратифицированные озера умеренной лесной зоны имеют ферругинозный гиполимнион (Schiff et al., 2017). В Среднем Поволжье они довольно редки, и спорадически встречаются в основном в Марийском и Нижегородском Полесье, однако имеется несколько озер этого типа в окрестностях г. Казани, на территории Раифского участка Волжско-Камского заповедника. Наиболее характерным из них является озеро Линево; с 2006 г. мы исследовали вертикальную структуру фототрофных бактерий этого озера «классическими» методами; в 2022 г., наряду с этим, впервые был определен филогенетический состав микроорганизмов по данным метабаркодинга гипервариабильного участка V4 гена 16S-рРНК на пяти горизонтах.

Целью настоящей работы является сравнение состава и вертикальной структуры фототрофного бактериопланктона этого озера с тремя другими лесными ферругинозными озерами, для которых доступны данные метабаркодинга: оз. Светлое (Архангельская обл., Россия), оз. Ловоярви (Финляндия) и оз. L227 (Экспериментальная Озерная Область (IISD-ELA), Онтарио, Канада), чтобы оценить его типичные и уникальные черты среди этой очень своеобразной группы озер.

## 2. Материалы и методы.

### 2.1. Физико-химические условия в озерах

Озеро Линево – это русловое озеро на ручье Сер-Булак, площадью около 7 га с максимальной

\*Автор для переписки.

Адрес e-mail: [myugor1960@gmail.com](mailto:myugor1960@gmail.com) (М.Ю. Горбунов)

Поступила: 05 июня 2024; Принята: 20 июня 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

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



глубиной 5.75 м (Унковская и др., 2009). Вода имеет высокую цветность, 270 оPt, низкоминерализована и даже в поверхностном слое содержит высокие концентрации железа (более 10-20 мкМ). Концентрация Fe в гипolimнионе в разные годы варьировала от 0.27 мМ (2006) до 0.17 мМ (2019), а концентрация сульфидов не превышала 10 мкМ. В летний период озеро стратифицировано; водные слои ниже 1.5-2 м резко гипоксичны или полностью лишены кислорода.

Характеристики озер L227, Ловоярви и Светлое даны в статьях, посвященных их исследованию (Schiff et al., 2017; van Grinsven et al., 2021, Kallistova et al., 2018). Все эти озера имеют высокое содержание Fe (II) в придонном слое, которое достигает, соответственно, 0.17, 0.83 и 0.24 мМ. Озеро Светлое – единственное достоверно меромиктическое и светловодное, L227 и Ловоярви – полигузмозные. Оз. Ловоярви имеет галоклин от 12 до 15 м, ниже которого, возможно, расположен небольшой по объему мнимолимнион.

Результаты высокопроизводительного секвенирования проб бактериопланктона из оз. Линево готовятся к депонированию, архивные результаты из остальных озер загружены из общедоступной базы данных SRA-архивов NCBI (оз. L227 (данные 2014 г.) – SRR5050827, SRR5050844, SRR5050836, SRR5050838, SRR5050833 и SRR5050835; оз. Ловоярви – SRR14118646 - SRR14118649, SRR14118651 - SRR14118658; оз. Светлое – SRR6059086 - SRR6059086).

## 2.2. Биоинформатическая обработка

Парные последовательности из озер L227, Ловоярви и Линево были предварительно объединены с помощью программы Usearch (Edgar, 2010). Из всех последовательностей были выделены участки, ограниченные снаружи праймерами 515f и 806r (Walters et al., 2015); последовательности, в

которых они не были обнаружены, отбрасывались. Дальнейшая обработка и выделение операционных таксономических единиц проводилась в программе Usearch по стандартной схеме.

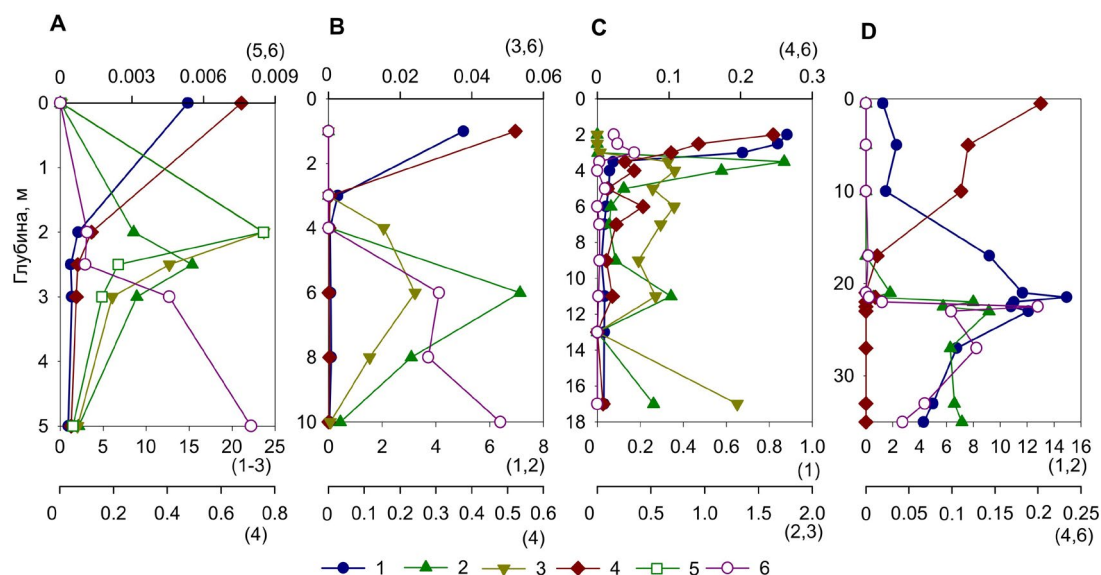
Таксономия полученных ОТЕ была присвоена с помощью online-сервиса SINA на платформе arb-silva (база данных v.138.0) и уточнена с использованием баз данных PR2, RDP v.19 и GTDB\_bac120\_arc53\_ssu\_r214\_fullTaxo.fa (Ali, 2023) и поиска в Genbank с помощью Blast. ОТЕ, идентифицированные как принадлежащие эукариотам, их митохондриям и хлоропластам были исключены из анализа.

## 3. Результаты и обсуждение

Последовательности объединенной библиотеки были кластеризованы в 7717 ОТЕ прокариот; 520 из них принадлежали археям (10 филумов), 7039 – бактериям (58 филумов) и 158 остались неклассифицированными до царства. Представители 10 филумов бактерий, в порядке убывания: Pseudomonadota, Bacteroidota (включая Chlorobia), Actinobacteriota, Verrucomicrobiota, Chloroflexota, Desulfobacterota, Patescibacteria, Cyanobacterota, Planctomycetota и Acidobacteriota, и одного филума архей, Halobacterota, по средней доле в исследованных пробах превышают порог 1%.

Фототрофные бактерии в озерах представлены кислородными цианобактериями и анаэробными Chlorobiaceae и Chloroflexaceae. Chromatiaceae практически отсутствуют; определение несерных и аэробных АФБ филумов Pseudomonadota и Gemmatimonadota по данным о V4-фрагменте 16S рРНК практически невозможно.

Цианобактерии, за исключением оз. Светлое, наиболее многочисленны в эпилимнионе и резко снижают вклад в общую численность с глубиной (Рис. А-С). В оз. Светлое их доля максимальна в зоне хемоклина, 20-23 м (Рис. D). Доминирующей группой в озерах является сем. Cyanobiaceae, объе-



**Рис.** Вертикальное распределение таксономических групп фототрофных бактерий в исследованных озерах: А- оз. Линево, В – оз. L227, С – оз. Ловоярви, D – оз. Светлое. Обозначения таксонов: 1- Cyanobacteria, 2 – Chlorobiales, 3 – Chloroflexaceae, 4 – Roseiflexaceae, 5 – Chlorohelicaceae, 6 – Chromatiaceae. По осям «х» - доли в общей численности, %.

диняющее одноклеточные и колониальные формы пикоцианобактерий, включая мелкоклеточные формы, традиционно относимые к родам *Anathece*, *Aphanocapsa*, *Merismopedia*, *Microcystis* и *Cyanodictyon* (Callieri et al., 2012). В оз. L227 Cyanobiaceae составляют около половины всех цианобактерий, в остальных озерах их численность, как правило, превышает 80-90% всех цианобактерий. Остальные ОТЕ принадлежат в основном к нитчатым формам, среди которых выделяются два семейства, Pseudanabaenaceae и Nostocaceae. Хотя в сумме обнаружено 46 ОТЕ, принадлежащих к Cyanobacteria, лишь пять из них – четыре Cyanobiaceae и *Dolichospermum* sp. (Nostocaceae) присутствуют во всех озерах, и еще четыре – в трех из четырех исследованных озерах.

Среди аноксигенных фототрофов наибольшее значение играют Chlorobiaceae. Последовательность доминирующего ОТЕ-8 совпадает с *Chlorobium* sp903851385 и близка к *C. feroxidans* KofoX и *Ca. Chlorobium masyuteum* и *Pelodictyon clathratiforme* 4DE, что указывает на возможную фотоферротрофию; следующий по численности и распространению ОТЕ-107 отличается одним нуклеотидом от *Chlorobium* sp903994635 (GCA\_903994635.1), далекого от фотоферротрофных видов, однако выделенного из небольшого лесного оз. Lomtjärnan (Швеция) с высокой концентрацией метана в воде. Этот ОТЕ присутствует в заметных количествах только в оз. Линево, как и еще один ОТЕ-5599. Последний не имеет близких культивируемых аналогов, и, возможно, принадлежит к эпибионтам фототрофных консорциев (сходство с клоном AJ272091 – 98.81%).

Самым характерным признаком бактериопланктона анаэробной зоны оз. Линево с самого начала наших исследований было присутствие планктонных Chloroflexales морфологически определенных как "*Chloronema giganteum*" (Горбунов, 2011). По данным метабаркодинга, в исследованных озерах обнаружены пятнадцать ОТЕ отряда Chloroflexales двенадцать из них относились к семейству Chloroflexaceae. Одиннадцать из этих OTU присутствовали в озере Линево, а отсутствовавший в нем OTU был обнаружен только в озере L227. В каждом из озерах L227 и Ловоярви было зарегистрировано только по два OTU, а в озере Светлое они отсутствовали. Только OTU-48 и OTU-636 принадлежат к филогенетической линии *Chloronema giganteum* GNSB-1. Оба они были обнаружены только в озере Линево и отсутствовали в других озерах. ОТЕ-48 практически отсутствовал на глубине 2 м, но развивался на глубине 2,4 и 3 м, достигая численности 2-3,5%. Доля OTU-636 не превышала 0,03%.

Шесть обнаруженных ОТЕ входят в общую группу с клоном ENRICH SisoF2F (EU918581) из оз. Siso (Bañeras et al., 2009), более отдаленно родственны некультивируемым клонам Um-2 (KP341999) из микробного мата источника Умкей (Бурятия), и CAL M1 (FR675955) из железистых песков острова Эльба (Италия), и далеки от известных культивируемых видов. К этой группе при-

надлежал абсолютный доминант на глубине 2 м в оз. Линево, численность которого на этой глубине превышала 10% от общей, ОТЕ-19. Остальные пять ОТЕ были немногочисленны. Еще три клон, ОТЕ-50, ОТЕ-67 и ОТЕ-1319, принадлежали к роду *Oscillochloris*. Первые два из них достигали численности 4-5% на глубине 2 м в оз. Линево, и в небольших количествах обнаруживались в оз. Ловоярви, а третий – в оз. L227.

Два минорных ОТЕ, встречавшихся в эпилимнионе всех озерах, относились к роду UBA965 (Roseiflexaceae). Поскольку представители этого рода содержат ген *rufM* и развиваются в аэробном слое многих пресных водоемов (Villena-Alemanu et al., 2023), они, вероятно, являются аэробными АФБ. Действительно, они присутствовали в эпилимнионе исследованных озерах и снижали численность с глубиной (Рис.). Эти ОТЕ были единственными обнаруженными Chloroflexales в оз. Светлое. Клон ОТЕ-383, встречавшийся в металимнионе оз. Линево, имел 94% сходство с недавно описанным *Ca. Chlorohelix allophototropha* (L227-S17 sp013390565). Интересно, что в самом оз. L227 представители этого рода в 2014 г. не обнаруживались.

#### 4. Выводы

Представленные данные показывают, что несмотря на присутствие одних и тех же доминирующих ОТЕ, структура фоторофного бактериопланктона ферругинозных озерах различна. Хотя в каждом из озерах его вертикальная структура закономерно изменяется с глубиной, существует резкий и не всегда объяснимый контраст между озерами.

Озеро Линево имеет несколько уникальных черт: в нем наблюдаются высокие численности фототрофных бактерий в целом, а также массовое развитие и разнообразие фототрофных Chloroflexota, которые почти полностью отсутствуют даже в оз. L227. В будущем было бы желательно получить дополнительные данные для более подробной характеристики зоны оксиклина этого озера, и особенно его верхней части. Учитывая присутствие нескольких фототрофных клонов, далеких от известных видов, при дальнейшем изучении озера может иметь хорошие перспективы использование методов метагеномного и полногеномного анализа.

#### Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Изменение, устойчивость и сохранение биологического разнообразия...» № 122032500063-0

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы

Горбунов М.Ю. 2011. Вертикальное распределение бактериохлорофиллов в гумозных озёрах Волжско-Камского заповедника (Республика Татарстан). Поволжский экологический журнал (3): 280-293.

Унковская Е.Н., Шагидуллин Р.Р., Тарасов О.Ю. и др. 2009. Динамика химического состава озёр Волжско-Камского заповедника. Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии 18(3): 114-120.

Ali A. 2023. DADA2 formatted 16S rRNA gene sequences for both bacteria & archaea (4.4) [Data set]. Zenodo. DOI: [10.5281/zenodo.10403693](https://doi.org/10.5281/zenodo.10403693)

Bañeras L., Gich F., Martinez-Medina M. et al. 2009. New phylotypes of mesophilic filamentous anoxygenic phototrophic bacteria enriched from sulfide-containing environments. Environmental microbiology reports 1(1): 86-93.

Callieri C., Cronberg G., Stockner J.G. 2012. Freshwater picocyanobacteria: single cells, microcolonies and colonial forms. In: Ecology of Cyanobacteria II: Their diversity in space and time. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 229-269.

Edgar R.C. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. Bioinformatics 26(19): 2460-2461. DOI: [10.1093/bioinformatics/btq461](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461)

Kallistova A., Kadnikov V., Rusanov I. et al. 2018. Microbial communities involved in aerobic and anaerobic methane cycling in a meromictic ferruginous subarctic lake. Aquatic Microbial Ecology 82(1): 1-18. DOI: [10.3354/ame01878](https://doi.org/10.3354/ame01878)

Schiff S.L., Tsuji J.M., Wu L. et al. 2017. Millions of boreal shield lakes can be used to probe Archaean Ocean biogeochemistry. Scientific reports 7(1): 46708. DOI: [10.1038/srep46708](https://doi.org/10.1038/srep46708)

Van Grinsven S., Oswald K., Wehrli B. et al. 2021. Methane oxidation in the waters of a humics-rich boreal lake stimulated by photosynthesis, nitrite, Fe (III) and humics. Biogeosciences 18: 3087-3101. DOI: [10.5194/bg-18-3087-2021](https://doi.org/10.5194/bg-18-3087-2021)

Villena-Aleman C., Mujakić I., Porcal P. et al. 2023. Diversity dynamics of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in a freshwater lake. Environmental Microbiology Reports 15(1): 60-71. DOI: [10.1111/1758-2229.13131](https://doi.org/10.1111/1758-2229.13131)

Walters W., Hyde E.R., Berg-Lyons D. et al. 2015. Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys. mSystems 1(1): e00009-15. DOI: [10.1128/mSystems.00009-15](https://doi.org/10.1128/mSystems.00009-15)