

Phylogenetic diversity of prokaryotes from the Churek-Dorgun cold spring (Tuva Republic)

Kashkak E.S.^{1*}, Lopsan-Endan A.B.¹, Belkova N.L.², Dagurova O.P.³, Danilova E.V.³, Abidueva E.Yu.³

¹Tuva State University, Lenin str., 36, Kyzyl 667000, Russia

²Research Center for Health and Human Reproduction, Institute of Epidemiology and Microbiology, K. Marx str., 3, Irkutsk, 664003, Russia

³Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Sakhyanovoy str., 6, Ulan-Ude, Russia

ABSTRACT. For the first time, the composition of microbial communities in the sediments of the cold freshwater spring Churek-Dorgun, located in the Kaa-Khem district of the Republic of Tuva, was studied using high-throughput sequencing. According to the chemical composition, the water of the Churek-Dorgun spring belonged to the sulfate-hydrocarbonate calcium type with weak mineralization (0.39 g / L) and neutral pH values (6.8 - 7.3). According to the sequencing results, 38,066 reads of 16S rRNA gene belonging to the *Bacteria* and *Archaea* domains were identified in the sediments sample. *Archaea* accounted for 0.27% of the microorganisms, with the phylum *Methanobacteriota* predominating. In total, 23 phyla in the bacterial microbial community were identified. Three bacterial phyla - *Pseudomonadota*, *Bacillota*, and *Bacteroidota* - which are typical of freshwater microbial communities dominated. The basis of the silt microbial community was widespread in different ecosystems microorganisms: *Aeromonas*, *Psychrosinus*, *Malikia*, *Dechloromonas*, *Sunxiuqinia*, *Thiobacillus*, *Geobacter*, *Litorilinea*, *Giesbergeria* and *Rivibacter*. They have different physiological properties and metabolism. Microorganisms involved in the sulfur cycle were also found in the silt, including chemolithotrophic sulfur-oxidizing bacteria of the genus *Thiobacillus* (class *Betaproteobacteria*, 3.02%), microaerophilic sulfur-reducing bacteria of the genus *Geobacter* (class *Deltaproteobacteria*, 2.86%), and sulfate-reducing *Deltaproteobacteria*.

Keywords: metagenomic analysis, bacterial diversity, cold springs, Churek-Dorgun, Republic of Tuva

For citation: Kashkak E.S., Lopsan-Endan A.B., Belkova N.L., Dagurova O.P., Danilova E.V., Abidueva E.Yu. Phylogenetic diversity of prokaryotes from the Churek-Dorgun cold spring (Tuva Republic) // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 931-948. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-931

1. Introduction

Mineral springs are favorable ecosystems for the existence and functioning of microbial communities that actively participate in the production and destruction of organic matter, the transformation of gases, the formation of minerals and biologically active substances (Zavarzin, 2003; Namsaraev et al., 2011; Alsop et al., 2014). Intensive physicochemical processes with the participation of photo- and chemosynthetic bacteria occur in water and sediments, where, along with producers, destructors play a large role in the cycle of carbon, sulfur, and iron (Namsaraev et al., 2011). Metagenomic studies of natural microbial communities have made it possible to determine the putative physiological and metabolic strategies of microorganisms and

their ecological roles (Li et al., 2012; Akimov et al., 2013; Alsop et al. 2014; Fang and Yan, 2022; Wang et al., 2022; etc.). In addition, the accumulated databases provide conditions for analyzing the diversity of cultured and uncultured microorganisms, clarifying the functional activity of microbial communities, and searching for new metabolic complexes with biotechnological and biomedical potential (Streit and Schmitz, 2004; Alsop et al. 2014).

Tuva Republic has numerous natural water healing resources, which are unique testing grounds for studying the microbial communities of aquatic systems. Almost all types of mineral springs are found on its territory: carbonic and nitrogen thermal springs, carbonic and hydrogen sulfide cold springs, salty and acidic, radon, and ferruginous springs (Arakchaa and

*Corresponding author.

E-mail address: klslena@yandex.ru (E.S. Kashkak)

Received: June 03, 2024; **Accepted:** June 17, 2024;

Available online: August 30, 2024

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



Kuzhuget, 2013). Studies of the microbial communities of mineral springs in this region are few, and the diversity of microbial communities by molecular genetic methods to date has not been studied.

The aim of this work was to study the hydrochemical characteristics and taxonomic diversity of microbial communities of silt in the Churek-Dorgun cold spring using high-throughput sequencing.

2. Materials and methods

The objects of the study were water and silt from the Churek-Dorgun fresh spring, located 5-6 km northwest of the former SovTuva state farm in the Kaa-Khem district of the Republic of Tuva (Fig. 1).

For this study, water and silt samples were obtained from two outlets in the studied source according to generally accepted methods corresponding to regulatory documents. For molecular genetic analysis, sediments samples were collected in sterile containers and fixed in a 1:1 volume ratio with 2×DNA/RNA Shield Stabilization Solution reagent (Zymo Research, USA).

Water and sediments analysis were carried out using classical and modern instrumental methods at the Laboratory of Physical and Chemical Research Methods of Tuva State University (Kyzyl). The physicochemical characteristics of water at the sampling sites were determined using portable devices and standard hydrochemistry methods that comply with regulatory documents. The collected sediments samples from the source under study were analyzed by X-ray fluorescence for the content of Mg, Al, Si, Zn, P, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Sr, V, Co, and Cu on a SPECTROSCAN MAX-GV analyzer (Russia).

Total DNA was isolated using commercial DNA-sorb kits (AmpliSens, Russia) and the Bacterial

Genomic DNA kit (Axygen, USA), taking into account the previously proposed modifications (Belkova, 2009). Sequencing of variable regions V3 – V4 of the 16S rRNA gene was performed at the Center for Collective Use of Scientific Equipment “Persistence of Microorganisms” of the Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Orenburg) on a MiSeq sequencer (Illumina, USA). Pyrosequencing pipeline resources (<https://pyro.cme.msu.edu>) were used for bioinformatic analysis of the libraries. The obtained reads were aligned and clustered using the Complete Linkage Clustering program (<https://pyro.cme.msu.edu>). The taxonomic diversity of the community was assessed at different cluster distances corresponding to the following taxa: 0.03 (97%) – species, 0.05 (95%) - genus, and 0.1 (90%) – family, using the Rarefaction program (<https://pyro.cme.msu.edu>). The classification of species was based on the genotypic approach in accordance with the International Code of Nomenclature of Bacteria (ICNB).

3. Results and discussion

3.1. Characteristics of the mineral spring

The Churek-Dorgun spring (51°43' 46.16" E 094°45' 4.46" N) is located at the foot of the mountain in the Kaa-Khem district of the Republic of Tuva at an altitude of 850 m above sea level. The water temperature at the sampling sites reached 5-6°C. The color of the studied waters varied from 3.84 to 9.61 degrees of color (Table 1). Both water outlets had neutral pH values. The spring flow rate is low. The water of the Churek-Dorgun spring belonged to medium-hard waters. The dry residue content reached 0.40 mg/L. The total concentration of consumed oxygen, corresponding to the number of permanganate ions, in the studied water samples reached 3.5 mgO/L.

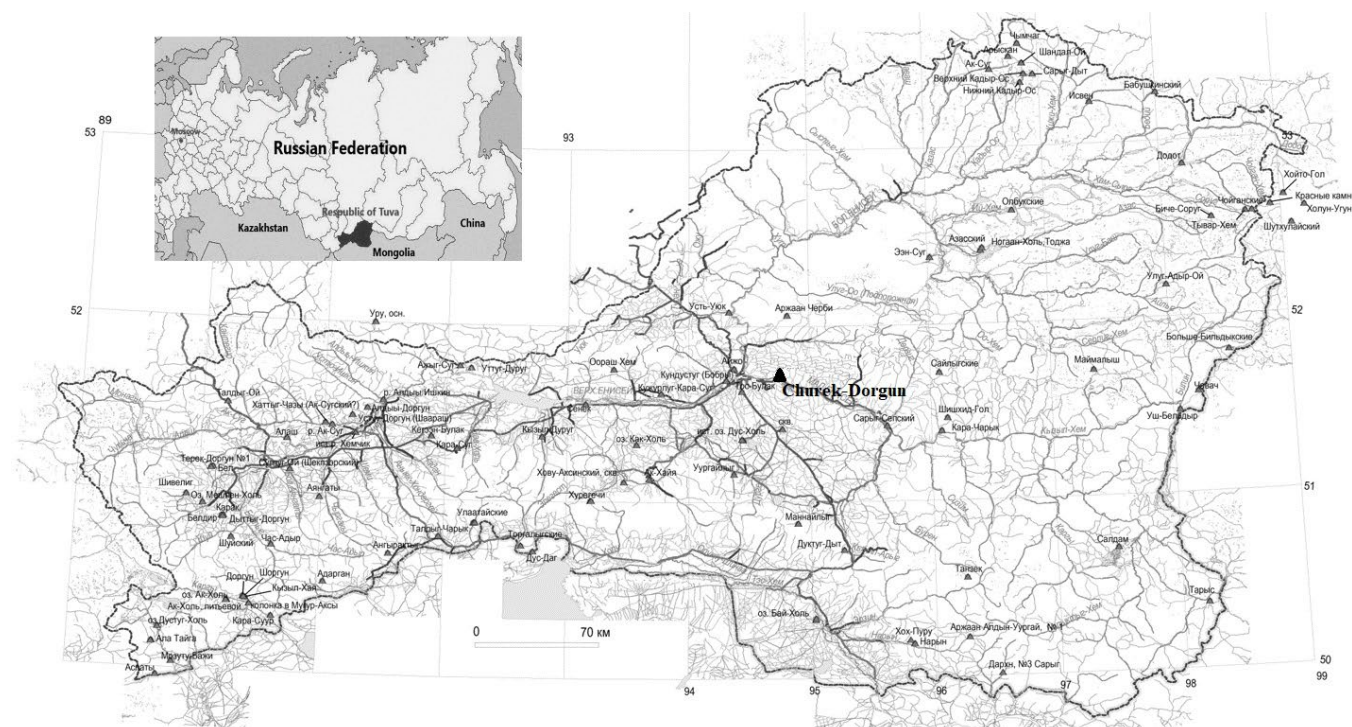


Fig.1. Map of the location of the Churek-Dorgun spring

Table 1. Physicochemical characteristics of the analyzed waters

Parameters	Sample No. 1	Sample No. 2	MAC*
Temperature, °C	5.0	6.0	20
pH	6.8	7.3	6–9
Color, degree of color	3.84	9.61	20
Turbidity, UF	0	0	2.6
Permanganate oxidizability, mgO/L	3.52 ± 0.70	3.44 ± 0.69	3.00
Free carbon dioxide, g/L	30.8 ± 3.0	28.6 ± 2.8	-
Total hardness, °Ж	6.1 ± 1.2	6.4 ± 1.2	7.0
Dry residue, mg/L	0.38 ± 0.07	0.40 ± 0.07	1000

Note: *MAC value is given in accordance with SanPiN 2.1.3684-21

The content of free carbon dioxide was 31.0 mg/L, and hydrocarbonate ions were more than 200 mg/L. The concentration of sulfate ions reached 170 mg/L and that of chloride ions was 9.6 mg/L (Table 2). Nitrate and nitrite ions were present in smaller quantities.

The water contained up to 61 mg/L of calcium ions and up to 30 mg/L of magnesium ions, which play important roles in the functioning of the cardiovascular system, energy metabolism processes, and control of cholesterol levels in the human body. The content of ammonium ions (up to 0.8 mg/L) and total iron (up to 0.06 mg/L) in the studied spring waters was insignificant. All values did not exceed the MAC and corresponded to drinking water. When studying the elemental composition of the sediments samples from the Churek-Dorgun spring using the X-ray fluorescence analysis method, elements were found that can be divided into the following groups: vital (essential, biogenic) – macroelements (magnesium, sodium, phosphorus, sulfur, calcium, potassium, chlorine) and microelements (manganese, zinc, iron, chromium); conditionally essential (silicon); toxic (aluminum, barium) and potentially toxic (strontium, rubidium, titanium, nickel) (Skalny, 2003). In the studied sediments samples, Mg, K, Ca, and P were found among the macroelements (Table 3). The studied samples were dominated by calcium (4.48 – 6.55%) and magnesium (2.24

– 3.4%), which are essential (biogenic) elements that play an important role in the functioning of the cardiovascular system, energy metabolism processes, and control of cholesterol levels in the human body. The silicon content in the studied samples reached 56%, which improves kidney function and metabolism and helps with stomach and liver diseases.

The contents of metals (nickel, zinc, copper, and cobalt) in the studied sediments exceeded the MAC (Table 4), but in accordance with the scheme of standardization of heavy metals in soils adopted by doctors, the migration water index of harmfulness (transition into water) of nickel, copper, and cobalt was higher. This shows that the detected content of nickel, copper, and cobalt in the sediments is not dangerous to human life.

3.2. Phylogenetic diversity and functional characteristics of the microbial community in the sediments of the Churek-Dorgun spring

Based on the sequencing results, 38066 reads belonging to the *Bacteria* and *Archaea* domains were identified in the sediments sample. In the microbial community of the sediments, 104 reads (0.27%) were assigned to the *Archaea* domain, of which 85

Table 2. Ion content in water from the Churek-Dorgun spring

Determined components, mg/L	Sample №1	Sample №2	MAC*
HCO ₃ ⁻	271.5 ± 29.9	274.3 ± 30.2	500
SO ₄ ²⁻	166.5 ± 33.3	169.8 ± 33.9	500
Cl ⁻	9.57 ± 1.53	8.86 ± 1.40	350
NO ₃ ⁻	3.15 ± 0.56	2.85 ± 0.51	45
NO ₂ ⁻	0.08 ± 0.01	0.05 ± 0.01	3.0
K ⁺ + Na ⁺	146.3 ± 29.3	160 ± 32	200
Ca ²⁺	56.2 ± 2.8	60.8 ± 3.0	200
Mg ²⁺	29.6 ± 4.4	27.1 ± 4.0	100
NH ₄ ⁺	0.74 ± 0.19	0.80 ± 0.21	2.5
Fe ²⁺ + Fe ³⁺	0.05 ± 0.013	0.06 ± 0.015	0.3

Note: *MAC value is given in accordance with SanPiN 2.1.3684-21

were assigned to the phylum *Methanobacteriota*, 14 to *Nitrososphaerota*, and 5 to the phylum *Candidatus Pacearchaeota*. It should be noted that the reads were identified at the genus level: *Methanothrix* (class *Methanomicrobia*, *Methanobacteriota*), *Methanosarcina* (class *Methanomicrobia*, *Methanobacteriota*), *Methanomassiliicoccus* (class *Thermoplasmata*, *Methanobacteriota*), and *Nitrososphaera* (class *Nitrososphaeria*, *Nitrososphaerota*), as well as the *Pacearchaeota* *Incertae Sedis* AR13 group (class *Epsilonproteobacteria*, *Candidatus Pacearchaeota*). The genus *Methanomassiliicoccus* is represented by the only culturable species at the time of writing, *Methanomassiliicoccus luminyensis*, which was isolated from human feces (Dridi et al., 2012). This species is a mesophilic, obligately anaerobic methanogen growing in the temperature range of 25–45°C (optimum at 37°C), pH 7.2–8.4 (optimum at pH 7.6), and salinity of 0.1–1.0% (optimum 1.0%). It produces methane from hydrogen and methanol. The genus *Nitrososphaera* is also represented by the only culturable species, *Nitrososphaera viennensis*, isolated from soil. It is a mesophilic, neutrophilic, and aerobic ammonium-oxidizing microorganism with an optimal growth temperature of 42°C and pH 7.5 (Stieglmeier et al., 2014). Thus, archaea comprised 0.27% of the microorganisms in the sediments community and were represented by mesophilic species.

The bacterial community of the sediments was quite diverse and represented by 2365 phylotypes. A total of 23 phyla were identified in the eubacterial microbial community, among which the dominant ones were *Pseudomonadota* (50.9% of the total number of reads), *Bacillota* (17.4%), *Bacteroidota* (15.9%), *Chloroflexota* (5.5%), *Actinomycetota* (3.8%), *Verrucomicrobiota* (1.7%), *Acidobacteriota* (1.3%), and *Mycoplasmata* (1.3%) (Fig. 2). The distribution of these phyla is typical of freshwater microbial communities located in different geographical zones of the world (Newton et al., 2011). The microbial community of the sediments consisted of the genera *Aeromonas*, *Psychrosinus*, *Malikia*,

Table 3. Content of macroelements in the studied samples of sediments from the Churek-Dorgun spring

Elements	Sample №1	Sample №2
Macroelements, %		
Ca	6,55	4,48
Mg	2,24	3,4
K	1,14	0,63
P	0,15	0,26
Conditionally essential elements, %		
Si	55,67	53,05

Note: *MAC values of chemical substances in soils and permissible levels of their harmfulness are given in accordance with SanPiN 4266-87

Dechloromonas, *Sunxiuqinia*, *Thiobacillus*, *Geobacter*, *Litorilinea*, *Giesbergeria*, and *Rivibacter*, which are widespread in different ecosystems and have different physiological properties and metabolisms (Table 5). They have a high adaptive potential for survival under various conditions, including extreme ones. The sediments community is dominated by representatives of the phylum *Pseudomonadota* (50.9%), which is widespread in a variety of habitats and is characterized by high diversity and abundance (Tobler and Benning, 2011; Wang et al., 2012; Parfenova et al., 2013; De Leon et al., 2013; Zinke et al., 2018; Dagurova et al., 2023; etc.). In the bacterial community of the sediments, the class *Gammaproteobacteria* was characterized by the predominance of chemoorganotrophs of the genus *Aeromonas* (9.83%) and microaerophilic sulfur- and iron-reducing bacteria of the genus *Geobacter* (class *Deltaproteobacteria*, 2.86%). The genus *Aeromonas* includes more than 30 Gram-negative bacterial species that naturally inhabit aquatic environments (Aravena-Roman et al., 2013; Marti and Balcazar, 2015; etc.). In addition to water, *Aeromonas* are widely distributed in

Table 4. Trace element content in the studied sediments samples from the Churek-Dorgun spring

Elements	Sample №1	Sample №2	MAC _{sub>} mg/kg soil considering the background	Hazard indicators		
				Translocation	Water	General sanitary
Potentially toxic, mg/kg						
Ni	11.76 ± 0.03	9.82 ± 0.03	4.0	6.7	14.0	4.0
Sr	101.4 ± 0.8	349.3 ± 2.5	600			
Trace elements, mg/kg						
Mn	1472 ± 14	1149 ± 11	1500	3500.0	1500.0	1500.0
Zn	195.8 ± 2.1	196.8 ± 2.0	23.0	23.0	200.0	37.0
V	100.1 ± 0.8	63.1 ± 0.4	150.0	170.0	350.0	150.0
Cu	43.3 ± 3.2	42.6 ± 3.1	3.0	3.5	72.0	3.0
Co	18.4 ± 0.5	14.6 ± 0.2	5.0	25.0	>1000	5.0
Trace elements, %						
Fe	7.56	5.1	-			

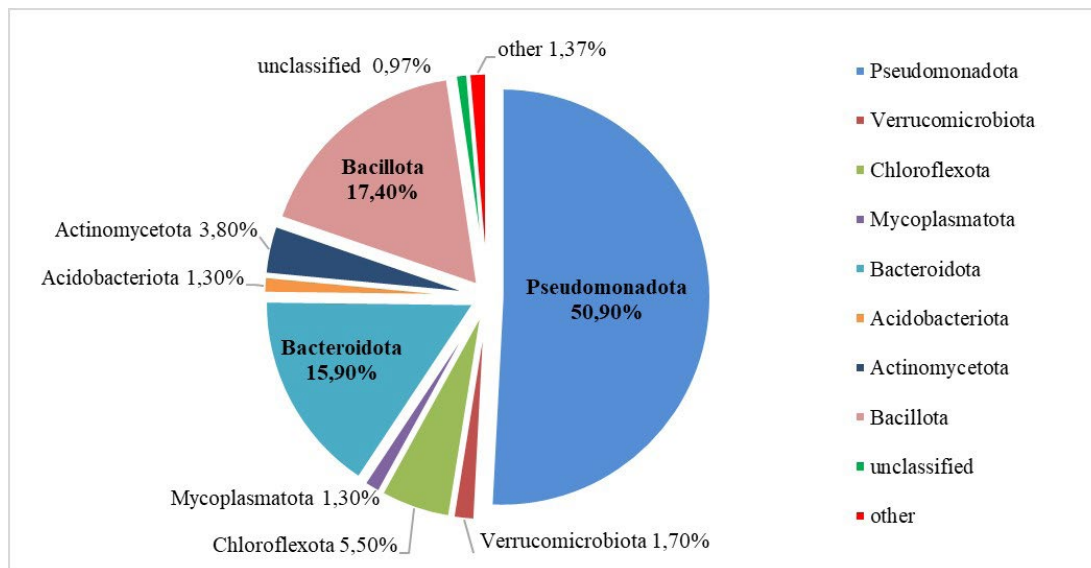


Fig.2. Bacterial community composition of the Churek-Dorgun spring sediments

a wide variety of sources, such as soil, vegetables, and food products (McMahon and Wilson, 2001; Gonçalves Pessoa et al., 2019; Barger et al., 2021; Pérez-García et al., 2021). These microorganisms, usually considered as pathogens of fish and some other animals, are gaining increasing importance in medical research because of their ability to colonize and infect humans (Mohan et al., 2017, Pessoa et al., 2022).

Betaproteobacteria were dominated by bacteria of the genera *Malikia* (5.55%), *Dechloromonas* (4.33%), *Thiobacillus* (3.02%), *Giesbergeria* (1.99%), *Rivibacter* (1.98%), *Rhodoferax* (1.62%), *Sideroxydans* (1.0%), and *Acidovorax* (1.0%). The genus *Malikia* includes two culturable species that accumulate polyhydroxyalkanoates and polyphosphates, *Malikia granosa*, isolated from activated sludge of a municipal waste-

Table 5. Representation of dominant phylotypes in microbial communities of the Churek-Dorgun spring sediments

No	Phylotype	Proportion of reads from the total number, %
1	<i>Aeromonas</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Gammaproteobacteria</i>)	9.83
2	<i>Psychrosinus</i> (<i>Bacillota</i> , class <i>Negativicutes</i>)	8.48
3	<i>Malikia</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Betaproteobacteria</i>)	5.55
4	<i>Dechloromonas</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Betaproteobacteria</i>)	4.33
5	<i>Sunxiuqinia</i> (<i>Bacteroidota</i> , class <i>Bacteroidia</i>)	3.89
6	<i>Thiobacillus</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Betaproteobacteria</i>)	3.02
7	<i>Geobacter</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Deltaproteobacteria</i>)	2.86
8	<i>Litorilinea</i> (<i>Chloroflexota</i> , class <i>Caldilineae</i>)	2.17
9	<i>Giesbergeria</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Betaproteobacteria</i>)	1.99
10	<i>Rivibacter</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Betaproteobacteria</i>)	1.98
11	<i>Mariniphaga</i> (<i>Bacteroidota</i> , class <i>Bacteroidia</i>)	1.67
12	<i>Rhodoferax</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Betaproteobacteria</i>)	1.62
13	<i>Prolixibacter</i> (<i>Bacteroidota</i> , class <i>Bacteroidia</i>)	1.57
14	<i>Ornatilinea</i> (<i>Chloroflexota</i> , class <i>Anaerolineae</i>)	1.53
15	<i>Mangrovibacterium</i> (<i>Bacteroidota</i> , class <i>Bacteroidia</i>)	1.51
16	<i>Clostridium sensu stricto</i> (<i>Bacillota</i> , class <i>Clostridia</i>)	1.45
17	<i>Ilumatobacter</i> (<i>Actinomycetota</i> , class <i>Acidimicrobiia</i>)	1.04
18	<i>Tabrizicola</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Alphaproteobacteria</i>)	1.01
19	<i>Sideroxydans</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Betaproteobacteria</i>)	1.0
20	<i>Acidovorax</i> (<i>Pseudomonadota</i> , class <i>Betaproteobacteria</i>)	1.0

water treatment plant, and *Malikia spinosa*, isolated from river in USA (Spring et al., 2005). The genus *Dechloromonas* is represented by chlorate-reducing bacteria (Achenbach et al., 2001; Wolterink et al., 2005). Representatives of *Betaproteobacteria* also include sulfur chemolithotrophic sulfur-oxidizing bacteria of the genera *Thiobacillus* (3.02%), heterotrophic bacteria of the genera *Giesbergeria* (1.99%), and *Rivibacter* (1.98%), moderately psychrophilic non-sulfur bacteria of the genus *Rhodoferrax* (1.62%), and freshwater iron-oxidizing bacteria *Sideroxydans* (1.0%). The genus *Acidovorax* belongs to the *Comamonadaceae*, which contains some plant pathogens such as *Acidovorax avenae*, which cause bacterial fruit spots on melons (Willems et al., 1992). Other *Acidovorax* species oxidize ferrous iron under anaerobic conditions, forming iron minerals in the soil. Among them, psychrophilic hydrogen bacteria from tundra soil (Vasilyeva et al., 1998) and aerobic bacteria from the Collins Ice Front soil on the Fildes Peninsula, Antarctica (Xu et al., 2019) were also identified.

The *Alphaproteobacteria* class is represented by the genus *Tabrizicola* (family *Rhodobacteraceae*), the presence of which is usually associated with the biogeochemical cycling of sulfur (Chen et al., 2014).

It should be noted that in total, representatives of twenty dominant phylotypes in the microbial community account for approximately 58% of the total number of reads analyzed, and the remaining 42% are minor groups, which include bacteria of different phyla.

The phylum *Bacteroidota* accounts for 15.9% and is mainly represented by the phylotypes *Sunxiuqinia* (3.89%), *Mariniphaga* (1.67%), *Prolixibacter* (1.57%), and *Mangrovibacterium* (1.51%). Representatives of the genus *Prolixibacter* include a psychrotolerant anaerobe isolated from the surface of an electrode incubated in marine sediments. It is a facultative anaerobe that can ferment sugars by the mixed acid fermentation

pathway, and it can grow in a wide range of temperatures (4-42°C) (Holmes et al., 2007). The genus *Mangrovibacterium* is represented by lignin-degrading and nitrogen-fixing bacteria isolated from sediments under mangrove trees (Huang et al., 2014; Sun et al., 2020; Wu et al., 2014).

The phylum *Bacillota* include representatives of the genera *Psychrosinus* (8.48%, class *Negativicutes*). The genus *Psychrosinus* is currently represented by a single psychrophilic obligate anaerobic lactate-fermenting species *Psychrosinus fermentans* isolated from water sample from permanently ice-covered meromictic Lake Fryxell, Antarctica (Sattley et al., 2008).

The community structure at the top 20 phylotype level also includes *Chloroflexota* and *Actinomycetota*, accounting for 5.5% and 3.8% of the total reads, respectively.

The phylum *Chloroflexota* includes two genera, *Litorilinea* (2.17%) and *Ornatilinea* (1.57%), each of which currently has a single representative. The cellulolytic member of the class *Anaerolineae*, *Ornatilinea apprima*, is an obligate anaerobic, mesophilic, organotrophic bacterium that was isolated from a microbial mat formed in hot water from deep borehole in Western Siberia (Podosokorskaya et al., 2013). *Litorilinea aerophila* is an aerobic member of the class *Caldilineae*, isolated from a tidal hot spring in northwest Iceland (Kale et al., 2013).

The phylum *Actinomycetota* is represented by the genus *Ilumatobacter* isolated from estuarine sediments of Kuira-Gava River in Japan and coastal sand collected from the sea coast of Japan (Matsumoto et al., 2009; 2013).

The microbial community contains chemotrophic bacteria involved in the sulfur cycle. They are sulfur-reducing bacteria *Geobacter* (*Geobacteraceae*) and *Hippea* (*Desulfobacterales*), sulfur-oxidizing bacteria *Thiobacillus*

Table 6. Representation of functionally significant phylotypes of sulfur cycle bacteria in the microbial community of the Churek-Dorgun spring sediments

Phylotype	Number of reads, pcs.
Sulfur-reducing bacteria	
<i>Geobacter</i> (<i>Geobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	1089
<i>Hippea</i> (<i>Desulfobacterales</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	6
Sulfate-reducing bacteria	
<i>Desulfocapsa</i> (<i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	232
<i>Desulfobulbus</i> (<i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	191
<i>Subdivision3 genera incertae sedis</i> (<i>Thermodesulfobiaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	180
<i>Desulfobacterium</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	176
<i>Desulfoprunum</i> (<i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	151
<i>Desulfosalsimonas</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	116
<i>Desulfatirhabdium</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	44
<i>Aminicenantes genera incertae sedis</i> (<i>Desulfovibrionaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	35
<i>Desulfovibrio</i> (<i>Desulfovibrionaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	34
<i>Desulfonatronum</i> (<i>Desulfovibrionaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	25

Phylotype	Number of reads, pcs.
<i>Desulfopila</i> (<i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	23
<i>Desulforhabdus</i> (<i>Syntrophobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	19
<i>Desulfofaba</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	17
<i>Desulfotomaculum</i> (<i>Peptococcaceae_2</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	17
<i>Desulforegula</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	16
<i>Desulfomonile</i> (<i>Syntrophaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	13
<i>Desulfomicrobium</i> (<i>Desulfomicrobiaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	13
<i>Desulfobacca</i> (<i>Syntrophaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	10
<i>Thermodesulfobivrio</i> (<i>Nitrospiraceae</i> , <i>Nitrospira</i>)	7
<i>Desulfatiferula</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	6
<i>Syntrophobacter</i> (<i>Syntrophobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	6
<i>Desulfotalea</i> (<i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	6
<i>Desulforhopalus</i> (<i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	3
<i>Desulfococcus</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	3
<i>Desulfatiglans</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	3
Sulfur-oxidizing bacteria	
<i>Thiobacillus</i> (<i>Hydrogenophilaceae</i> , <i>Betaproteobacteria</i>)	1147
<i>Sulfuritalea</i> (<i>Rhodocyclaceae</i> , <i>Betaproteobacteria</i>)	111
<i>Thiohalomonas</i> (<i>Ectothiorhodospiraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	78
<i>Sulfurisoma</i> (<i>Rhodocyclaceae</i> , <i>Betaproteobacteria</i>)	54
<i>Sulfuricurvum</i> (<i>Helicobacteraceae</i> , <i>Epsilonproteobacteria</i>)	34
<i>Thiohalocapsa</i> (<i>Chromatiaceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	32
<i>Thioalkalibacter</i> (<i>Halothiobacillaceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	30
<i>Thiohalophilus</i> (<i>Ectothiorhodospiraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	26
<i>Thiogramum</i> (<i>Ectothiorhodospiraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	12
<i>Halothiobacillus</i> (<i>Sinobacteraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	11
<i>Thiopfundum</i> (<i>Thioalkalispiraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	7
Purple sulfur bacteria	
<i>Thiocapsa</i> (<i>Chromatiaceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	4
Heterotrophic microorganisms that are potentially involved in the oxidation of hydrogen sulfide, molecular sulfur, and thiosulfate	
<i>Pseudomonas</i> (<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	26

(*Hydrogenophilaceae*), *Sulfuritalea* (*Rhodocyclaceae*), purple sulfur bacteria *Thiocapsa* (*Chromatiaceae*), and sulfate-reducing bacteria (Table 6).

4. Conclusions

The Churek-Dorgun spring is a cold fresh spring with a mineralization of 0.39 g/L and neutral pH. The spring water is of medium hardness and belongs to the calcium sulfate-bicarbonate type. The element composition in silt was determined by the X-ray fluorescence method: calcium and magnesium dominated. Manganese, zinc and vanadium dominated among microelements. Balneological recommendations allow the use of the waters of the Churek-Dorgun spring in procedures for the treatment of cardiovascular diseases, hypertension, and headaches (Arakchaa, 1995).

For the first time, the taxonomic diversity of prokaryotes in sediments samples from the Churek-Dorgun spring was determined. Because of the analysis

of the obtained 16S rRNA gene sequencing, phylotypes belonging to the *Bacteria* and *Archaea* domains were identified. Archaea comprised 0.27% of the microorganisms in the sediments community and were represented by mesophilic species. The bacterial microbial community of the Churek-Dorgun cold spring the phyla typical of freshwater microbial communities *Pseudomonadota*, *Bacillota*, *Bacteroidota*, *Chloroflexota*, *Actinomycetota*, *Verrucomicrobiota*, *Acidobacteriota*, and *Mycoplasmata* dominated. At a lower taxonomic level, bacterial phylotypes that are widespread in aquatic and soil ecosystems and completely ensure closed cycles of biogenic elements were dominated.

Acknowledgements

This study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-24-10026.

References

- Achenbach L.A., Michaelidou U., Bruce R.A. et al. 2001. *Dechloromonas agitate* gen. nov., sp. nov. and *Dechlorosoma suillum* gen. nov., sp. nov., two novel environmentally dominant (per)chlorate-reducing bacteria and their phylogenetic position. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 527-533. DOI: [10.1099/00207713-51-2-527](https://doi.org/10.1099/00207713-51-2-527)
- Akimov V.N., Shlyapnikov M.G., Podosokorskaya O.A. et al. 2013. Dominant phylotypes in the 16S rRNA gene clone libraries from bacterial mats of the Uzon caldera (Kamchatka, Russia) hydrothermal springs. *Microbiology (Moscow)* 82:6: 721-727. DOI: [10.7868/S0026365613060025](https://doi.org/10.7868/S0026365613060025) (in Russian)
- Alsop E.B., Boyd E.S., Raymond J. 2014. Merging metagenomics and geochemistry reveals environmental controls on biological diversity and evolution // *BMC Ecology* 14:16: 1-12. DOI: [10.1186/1472-6785-14-16](https://doi.org/10.1186/1472-6785-14-16)
- Arakchaa K.D. 1995. The word about the Arjaans of Tuva. Moscow: Poly-Com. (in Russian)
- Arakchaa K.D., Kuzhuget K.S. 2013. Natural water therapeutic resources of the Republic of Tuva: state and prospects of research. In: *International Scientific and Practical Conference "The resort base and natural health-improving areas of Tuva and neighboring regions: experience and prospects of use for the prevention of diseases, treatment and rehabilitation of patients"*, pp. 8-15. (in Russian)
- Aravena-Roman M., Beaz-Hidalgo R., Inglis T.J. et al. 2013. *Aeromonas australiensis* sp. nov., isolated from irrigation water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 2270-2276. DOI: [10.1099/ijs.0.040162-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.040162-0)
- Barger P.C., Liles M.R., Beck B.H. et al. 2021. Differential production and secretion of potentially toxigenic extracellular proteins from hypervirulent *Aeromonas hydrophila* under biofilm and planktonic culture. *BMC Microbiology* 21: 1-16. DOI: [10.1186/s12866-021-02088-3](https://doi.org/10.1186/s12866-021-02088-3)
- Belkova N.L. 2009. Molecular genetic methods of analysis of microbial communities. In: *The diversity of microbial communities of inland reservoirs of Russia: An educational and methodological guide*. Yaroslavl, pp. 53-63. (in Russian)
- Chen Z., Zhang J., Lei X. et al. 2014. Influence of plaque-forming bacterium, *Rhodobacteraceae* sp. on the growth of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology* 169: 784-788. DOI: [10.1016/j.biortech.2014.07.021](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.021)
- Dagurova O.P., Tsydenova B.V., Zaitseva S.V. 2023. Diversity of the microbial community of freshwater lake Baunt. *Nature of Inner Asia* 3:25: 31-39. DOI: [10.18101/2542-0623-2023-3-31-39](https://doi.org/10.18101/2542-0623-2023-3-31-39) (in Russian)
- De Leon K.B., Gerlach R., Peyton B.M. et al. 2013. Archaeal and bacterial communities in three alkaline hot springs in Heart Lake Geysir Basin, Yellowstone National Park. *Frontiers in Microbiology* 4:330: 1-10. DOI: [10.3389/fmicb.2013.00330](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00330)
- Dridi B., Fardeau M.L., Ollivier B. et al. 2012. *Methanomassiliococcus luminyensis* gen. nov., sp. nov., a methanogenic archaeon isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62: 1902-1907. DOI: [10.1099/ijs.0.033712-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.033712-0)
- Fang Shu, Yan Juan. 2022. Analysis of prokaryotic microbial diversity in hot spring water from Bantang (China) using the targeted amplicon analysis. *All Life*. 15: 325-339. DOI: [10.1080/26895293.2022.2049899](https://doi.org/10.1080/26895293.2022.2049899)
- Gonçalves Pessoa R.B., de Oliveira W.F., Marques D.S.C. et al. 2019. The genus *Aeromonas*: a general approach. *Microbial Pathogenesis* 130: 81-94. DOI: [10.1016/j.micpath.2019.02.036](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.036)
- Holmes D.E., Nevin K.P., Woodard T.L. et al. 2007. *Prolixibacter bellariivorans* gen. nov., sp. nov., a sugar-fermenting, psychrotolerant anaerobe of the phylum Bacteroidetes, isolated from a marine-sediment fuel cell. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57: 701-707. DOI: [10.1099/ijs.0.64296-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.64296-0)
- Huang X.F., Liu Y.J., Dong J.D. et al. 2014. *Mangrovibacterium diazotrophicum* gen. nov., sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from a mangrove sediment, and proposal of *Prolixibacteraceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 3: 875-881. DOI: [10.1099/ijs.0.052779-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.052779-0)
- Kale V., Bjornsdottir S.H., Friethjonnsson O.H. et al. 2013. *Litorilinea aerophila* gen. nov., sp. nov., an aerobic member of the class *Caldilineae*, phylum *Chloroflexi*, isolated from an intertidal hot spring. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 1149-1154. DOI: [10.1099/ijs.0.044115-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.044115-0)
- Li G., Jiang H., Hou W. et al. 2012. Microbial diversity in two cold springs on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Geoscience Frontiers* 3: 317-325. DOI: [10.1016/j.gsf.2011.12.004](https://doi.org/10.1016/j.gsf.2011.12.004)
- Marti E., Balcazar J.L. 2015. *Aeromonas rivipollensis* sp. nov., a novel species isolated from aquatic samples. *Journal of Basic Microbiology* 55: 1435-1439. DOI: [10.1002/jobm.201500264](https://doi.org/10.1002/jobm.201500264)
- Matsumoto A., Kasai H., Matsuo Y. et al. 2009. *Ilumatobacter fluminis* gen. nov., sp. nov., a novel actinobacterium isolated from the sediment of an estuary. *Journal of General and Applied Microbiology* 55: 201-205. DOI: [10.2323/JGAM.55.201](https://doi.org/10.2323/JGAM.55.201)
- Matsumoto A., Kasai H., Matsuo Y. et al. 2013. *Ilumatobacter nonamiense* sp. nov. and *Ilumatobacter coccineum* sp. nov., isolated from seashore sand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 3404-3408. DOI: [10.1099/ijs.0.047316-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.047316-0)
- McMahon M.A.S., Wilson I.G. 2001. The occurrence of enteric pathogens and *Aeromonas* species in organic vegetables. *International Journal of Food Microbiology* 70: 155-162. DOI: [10.1016/S0168-1605\(01\)00535-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00535-9)
- Mohan B., Sethuraman N., Verma R. et al. 2017. Speciation, clinical profile & antibiotic resistance in *Aeromonas* species isolated from cholera-like illnesses in a tertiary care hospital in North India. *Indian Journal of Medical Research* 146: 517-520. DOI: [10.4103/ijmr.IJMR](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR)
- Namsaraev B.B., Barkhutova D.D., Danilova E.V. et al. 2011. Geochemical activity of microorganisms of hydrotherms of the Baikal rift zone. Novosibirsk: Academic publishing house "Geo". (in Russian)
- Newton R., Jones S., Eiler A. et al. 2011. A Guide to the Natural History of Freshwater Lake Bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews* 75: 14-49. DOI: [10.1128/MMBR.00028-10](https://doi.org/10.1128/MMBR.00028-10)
- Parfenova V.V., Gladkikh A.S., Belykh O.I. 2013. Comparative analysis of biodiversity in the planktonic and biofilm bacterial communities in Lake Baikal. *Microbiology (Moscow)* 82:1: 91-101. DOI: [10.1134/S0026261713010128](https://doi.org/10.1134/S0026261713010128) (in Russian)
- Pérez-García D., Larios-Serrato V., Rojas-Rios R. et al. 2021. Frequency and diversity of small plasmids in mesophilic *Aeromonas* isolates from fish, water and sediment. *Plasmid* 118: 1-10. DOI: [10.1016/j.plasmid.2021.102607](https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2021.102607)
- Pessoa R.B.G., Oliveira W.F., Correia M.T.S. et al. 2022. *Aeromonas* and Human Health Disorders: Clinical Approaches. *Frontiers in Microbiology* 13: 868890. DOI: [10.3389/fmicb.2022.868890](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.868890)
- Podosokorskaya O.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Novikov A.A. et al. 2013. *Ornatilinea apprima* gen. nov., sp. nov., a cellulolytic representative of the class *Anaerolineae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 86-92. DOI: [10.1099/ijs.0.041012-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.041012-0)
- Sattley W.M., Jung D.O., Madigan M.T. 2008. *Psychrosinus fermentans* gen. nov., sp. nov., a lactate-fermenting bacterium from near-freezing oxycline waters of a meromictic Antarctic lake. *FEMS Microbiology Letters* 287: 121-127. DOI: [10.1111/j.1574-6968.2008.01300.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01300.x)

Skalny A.V. 2003. Trace elements for your health. Moscow: ONYX 21st century. (in Russian)

Spring S., Wagner M., Schumann P. et al. 2005. *Malikia granosa* gen. nov., sp. nov., a novel polyhydroxyalkanoate- and polyphosphate-accumulating bacterium isolated from activated sediments, and reclassification of *Pseudomonas spinosa* as *Malikia spinosa* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55: 621-629. DOI: [10.1099/ijs.0.63356-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.63356-0)

Stieglmeier M., Klingl A., Alves R.J.E. et al. 2014. *Nitrososphaera viennensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon from soil and a member of the archaeal phylum *Thaumarchaeota*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64: 2738–2752. DOI: [10.1099/ijs.0.063172-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.063172-0)

Streit W.R., Schmitz R.A. 2004. Metagenomics – the key to the uncultured microbes. *Current Opinion in Microbiology* 7:5: 492–498. DOI: [10.1016/j.mib.2004.08.002](https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.08.002)

Sun C., Zeng X., Lai Q. et al. 2020. *Mangrovibacterium lignilyticum* sp. nov., a facultatively anaerobic lignin-degrading bacterium isolated from mangrove sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70: 4502-4507. DOI: [10.1099/ijsem.0.004305](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004305)

Tobler D.J., Benning L.G. 2011. Bacterial diversity in five Icelandic geothermal waters: temperature and sinter growth rate effects. *Extremophiles* 15: 473-485. DOI: [10.1007/s00792-011-0378-z](https://doi.org/10.1007/s00792-011-0378-z)

Vasilyeva L.V., Savelyeva N.D., Omelchenko M.V. et al. 1998. *Arthrobacter crygenae* sp. nov. and *Acidovorax psychrophacilis* sp. nov., psychrophilic hydrogen bacteria from tundra soil. *Microbiology (Moscow)* 67: 195-200. (in Russian)

Wang M., Zhang X., Shu Z. et al. 2022. Bacterial and archaeal communities within the alkaline soda Langaco Lake in the Qinghai-Tibet Plateau. *Annals of Microbiology* 72:33. DOI: [10.1186/s13213-022-01691-7](https://doi.org/10.1186/s13213-022-01691-7)

Wang Y., Sheng H.F., He Y. et al. 2012. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of illumina tags. *Applied and Environmental Microbiology* 78:23: 8264–8271. DOI: [10.1128/AEM.01821-12](https://doi.org/10.1128/AEM.01821-12)

Willems A., Goor M., Thielemans S. et al. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 42:107-119. DOI: [10.1099/00207713-42-1-107](https://doi.org/10.1099/00207713-42-1-107)

Wolterink A., Kim S., Muusse M. et al. 2005. *Dechloromonas hortensis* sp. nov. and strain ASK-1, two novel (per)chlorate-reducing bacteria, and taxonomic description of strain GR-1. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55:2063-2068. DOI: [10.1099/ijs.0.63404-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.63404-0)

Wu W.J., Zhou Y.X., Liu Y. et al. 2014. *Mangrovibacterium marinum* sp. nov., isolated from a coastal sediment. *Antonie Van Leeuwenhoek* 107: 1583-1589. DOI: [10.1099/ijs.0.052779-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.052779-0)

Xu Q., Peng X., Wang Y. et al. 2019. *Acidovorax antarcticus* sp. nov., isolated from a soil sample of Collins Glacier front, Antarctica. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 71:3. DOI: [10.1099/ijsem.0.004744](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004744)

Zavarzin G.A. 2003. Lectures on natural microbiology. Moscow: Science. (in Russian)

Zinke L.A., Reese B.K., McManus J. et al. 2018. Sediment Microbial Communities Influenced by Cool Hydrothermal Fluid Migration. *Frontiers in Microbiology* 9: DOI: [10.3389/fmicb.2018.01249](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01249)

Филогенетическое разнообразие прокариот холодного источника Чурек-Доргун (Республика Тыва)

Оригинальная статья

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGYКашкак Е.С.*¹, Лопсан-Ендан А.Б.¹, Белькова Н.Л.², Дагурова О.П.³,
Данилова Э.В.³, Абидуева Е.Ю.³¹Тувинский государственный университет, ул. Ленина, 36, Кызыл, 667000, Россия²Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Институт эпидемиологии и микробиологии, ул. К. Маркса, 3, Иркутск, 664003, Россия³Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, ул. Сахьяновой, 6, Улан-Удэ, 670047, Россия

АННОТАЦИЯ. Впервые методом высокопроизводительного секвенирования изучен состав микробных сообществ ила холодного пресного источника Чурек-Доргун, расположенного в Каа-Хемском районе Республики Тыва. По химическому составу воды источника Чурек-Доргун относились к сульфатно-гидрокарбонатному кальциевому типу со слабой минерализацией (0,39 г/дм³) и нейтральными значениями pH (6,8 – 7,3). По результатам секвенирования в образце ила было определено 38066 последовательностей гена 16S рРНК, принадлежащих доменам *Bacteria* и *Archaea*. Археи составили 0,27% микроорганизмов сообщества ила с преобладанием филума *Methanobacteriota*. Всего в составе бактериального микробного сообщества определено 23 филума; доминировали представители трех бактериальных филумов – *Pseudomonadota*, *Bacillota* и *Bacteroidota*, которые являются типичными для пресноводных микробных сообществ. Основу микробного сообщества ила составляли широко распространенные в разных экосистемах микроорганизмы – *Aeromonas*, *Psychrosinus*, *Malikia*, *Dechloromonas*, *Sunxiuqinia*, *Thiobacillus*, *Geobacter*, *Litorilinea*, *Giesbergeria*, *Rivibacter* с различными физиологическими свойствами и метаболизмом. В иле также обнаружены микроорганизмы, принимающие участие в цикле серы, среди которых хемолитотрофные сероокисляющие бактерии рода *Thiobacillus* (класс *Betaproteobacteria*, 3,02%), микроаэрофильные серовосстанавливающие бактерии рода *Geobacter* (класс *Deltaproteobacteria*, 2,86%) и сульфатредуцирующие дельта-протеобактерии.

Ключевые слова: метагеномный анализ, разнообразие бактерий, холодные источники, Чурек-Доргун, Республика Тыва

Для цитирования: Кашкак Е.С., Лопсан-Ендан А.Б., Белькова Н.Л., Дагурова О.П., Данилова Э.В., Абидуева Е.Ю. Филогенетическое разнообразие прокариот холодного источника Чурек-Доргун (Республика Тыва) // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 931-948. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-931

1. Введение

Минеральные источники являются благоприятными экосистемами для развития и функционирования микробных сообществ, активно участвующих в продукции и деструкции органического вещества, трансформации газов, образовании минералов и биологически активных веществ (Заварзин, 2003; Намсараев и др., 2011; Alsop et al., 2014). В воде и осадках происходят интенсивные физико-химические процессы с участием фото- и хемосинтезирующих бактерий, где, наряду с продуцентами, в круговороте углерода, серы и железа большую

роль играют бактерии-деструкторы (Намсараев и др., 2011). Метагеномные исследования природных микробных сообществ дали возможность определить предполагаемые физиологические и метаболические стратегии микроорганизмов и их экологическую роль (Li et al., 2012; Акимов и др., 2013; Alsop et al., 2014; Fang and Yan, 2022; Wang et al., 2022 и др.). Кроме того, накопленные базы данных обеспечивают условия для анализа разнообразия культивируемых и некультивируемых микроорганизмов, выяснения функциональной активности микробных сообществ, а также поиска новых метаболических комплексов, имеющих биотехнологический и био-

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: klslena@yandex.ru (Е.С. Кашкак)

Поступила: 03 июня 2024; Принята: 17 июня 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

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



медицинский потенциал (Streit and Schmitz, 2004; Alsop et al., 2014).

Республика Тыва обладает многочисленными природными водными лечебными ресурсами, которые являются уникальным полигоном для исследования микробных сообществ водных систем. На ее территории встречаются практически все типы минеральных источников: углекислые и азотные термы, углекислые и сероводородные холодные источники, соленые и кислые, радоновые и железистые (Аракчаа и Кужугет, 2013). Исследования микробных сообществ минеральных источников в данном регионе немногочисленны, разнообразие микробных сообществ молекулярно-генетическими методами до настоящего времени не изучено.

Целью работы стало изучение гидрохимической характеристики и таксономического разнообразия микробного сообщества иловых отложений холодного источника Чурек-Доргун методом высокопроизводительного секвенирования.

2. Материалы и методы

Объектами исследования служили вода и ил пресного источника Чурек-Доргун, расположенного в 5-6 км к северо-западу от бывшего совхоза «СовТыва» в Каа-Хемском районе Республики Тыва (Рис. 1).

Для исследования были отобраны пробы воды и ила из двух выходов в исследуемом источнике согласно общепринятым методикам, соответствующих нормативным документам. Для молекулярно-генетического анализа пробы ила отбирали в стерильную посуду и фиксировали в объемном соотношении 1:1 реагентом 2×DNA/RNA Shield Stabilization Solution (Zymo Research, США).

Анализ вод и ила проводился классическими

и современными инструментальными методами на базе лаборатории физико-химических методов исследований Тувинского государственного университета (г. Кызыл). Определение физико-химических характеристик воды в местах отбора проб проводили с помощью портативных приборов и стандартных методов гидрохимии, соответствующих нормативным документам. Отобранные пробы ила исследуемого источника были проанализированы рентгенофлуоресцентным методом на содержание Mg, Al, Si, Zn, P, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Sr, V, Co, Cu на анализаторе «СПЕКТРОСКАН МАКС-GV» (Россия).

Тотальную ДНК выделяли с помощью коммерческих наборов «ДНК-сорб» (АмплиСенс, Россия) и «Bacterial Genomic DNA kit» (Axugen, США) с учетом предложенных ранее модификаций (Белькова, 2009). Секвенирование переменных участков V3–V4 гена 16S рНК проводили в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург) на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Для биоинформационного анализа полученных библиотек использовали ресурсы Pyrosequencing pipeline (<https://pyro.cme.msu.edu>). Полученные последовательности выравнивали и кластеризовали с использованием программы Complete Linkage Clustering (<https://pyro.cme.msu.edu>). Таксономическое разнообразие сообщества оценивали при различных кластерных расстояниях, соответствующих следующим таксонам: 0,03 (97%) – вид, 0,05 (95%) – род, 0,1 (90%) – семейство, используя программу Rarefaction (<https://pyro.cme.msu.edu>). Классификацию видов производили на основе генотипического подхода в соответствии с международным кодом номенклатуры бактерий (ICNB).

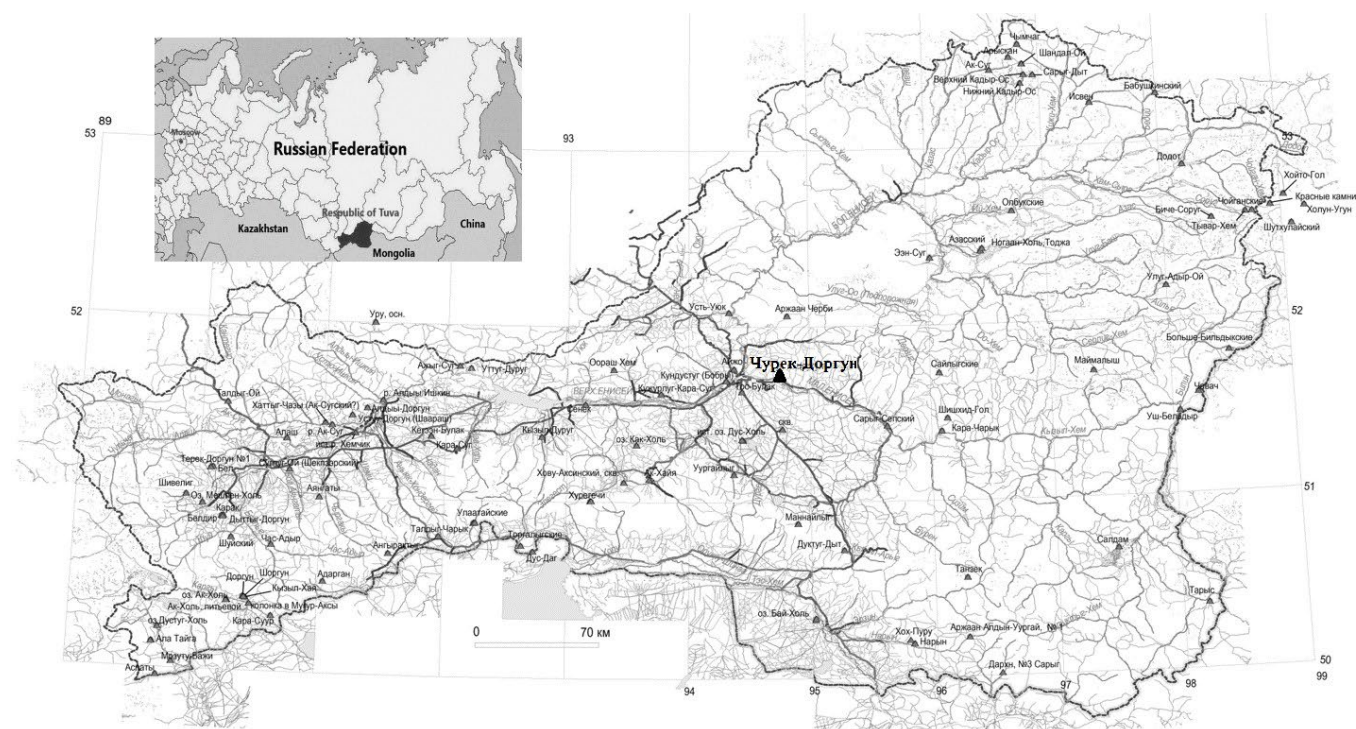


Рис.1. Карта расположения источника Чурек-Доргун

3. Результаты и обсуждение

3.1. Характеристика минерального источника

Источник Чурек-Доргун (51°43' 46.16» E 094°45' 4.46» N) расположен у подножия горы в Каа-Хемском районе Республики Тыва на высоте 850 м над уровнем моря. Температура воды в местах отбора проб достигала 5-6°С. Цветность исследуемых вод варьировала от 3,84 до 9,61 градусов цветности (Таблица 1). Оба выхода воды имели нейтральные значения pH. Дебит источника невысок. Вода источника Чурек-Доргун относилась к водам средней жесткости. Содержание сухого остатка достигало 0,40 мг/дм³. Общая концентрация потребляемого кислорода, соответствующая количеству перманганат-иона, в исследуемых пробах воды достигала 3,5 мгО/дм³.

Содержание свободной углекислоты составляло 31,0 мг/дм³, гидрокарбонат-ионов – более 200 мг/дм³. Концентрация сульфат-ионов достигала 170 мг/дм³, а хлорид-ионов – 9,6 мг/дм³ (Таблица 2). Ионы нитратов и нитритов присутствовали в меньшем количестве.

Вода содержала до 61 мг/л ионов кальция и до 30 мг/л ионов магния, которые играют важную роль при работе сердечно-сосудистой системы, процессах энергетического обмена веществ и контроле уровня холестерина в организме человека. Содержание ионов аммония (до 0,8 мг/дм³) и общего железа (до 0,06 мг/дм³) в исследуемых водах источника было незначительным. Все значения не превышали ПДК и соответствовали питьевым водам.

При изучении элементного состава проб ила источника Чурек-Доргун рентгенофлуоресцентным методом анализа были обнаружены элементы, которые можно разделить на следующие группы: жизненно-важные (эссенциальные, биогенные) – макроэлементы (магний, натрий, фосфор, сера, кальций, калий, хлор) и микроэлементы (марганец, цинк, железо, хром); условно-эссенциальные (кремний); токсичные (алюминий, барий) и потенциально-токсичные (стронций, рубидий, титан, никель) (Скальный, 2003).

В исследуемых образцах ила среди макроэлементов были обнаружены Mg, K, Ca и P (Таблица 3). В исследуемых пробах преобладали кальций (4,48 – 6,55%) и магний (2,24 – 3,4%), которые относятся к эссенциальным (биогенным) элементам и играют важную роль при работе сердечно-сосудистой системы, процессах энергетического обмена веществ и контроле уровня холестерина в организме человека. Содержание кремния в исследуемых образцах достигало 56%, который улучшает работу почек и обмен веществ, помогает при заболеваниях желудка и печени.

Содержание никеля, цинка, меди и кобальта в исследуемых илах превышало ПДК (Таблица 4), но, в соответствии с принятой медиками схеме нормирования тяжелых металлов в почвах, миграционный водный показатель вредности (переход в воду) никеля, меди и кобальта выше. Это показывает, что выявленное содержание никеля, меди и кобальта в илах безопасно для жизнедеятельности человека.

3.2. Филогенетическое разнообразие и функциональная характеристика микробного сообщества ила источника Чурек-Доргун

По результатам секвенирования в образце ила было определено 38066 последовательностей, принадлежащих доменам *Bacteria* и *Archaea*. В микробном сообществе ила к домену *Archaea* было отнесено 104 последовательности (0,27%), из них 85 отнесены к филуму *Methanobacteriota*, 14 – к *Nitrososphaerota* и 5 последовательностей к филуму *Candidatus Pacearchaeota*. Следует отметить, что последовательности идентифицированы на уровне рода: *Methanothrix* (класс *Methanomicrobia*, *Methanobacteriota*), *Methanosarcina* (класс *Methanomicrobia*, *Methanobacteriota*) *Methanomassiliicoccus* (класс *Thermoplasmata*, *Methanobacteriota*) и *Nitrososphaera* (класс *Nitrososphaeria*, *Nitrososphaerota*), а также группы *Pacearchaeota_Incertae_Sedis_AR13* (класс *Epsilonproteobacteria*, *Candidatus Pacearchaeota*). Род *Methanomassiliicoccus* представлен единственным на

Таблица 1. Физико-химическая характеристика анализируемых вод

Параметры	Проба №1	Проба №2	ПДК*
Температура, 0С	5,0	6,0	20
pH	6,8	7,3	6–9
Цветность, градус цветности	3,84	9,61	20
Мутность, ЕМФ	0	0	2,6
Перманганатная окисляемость, мгО /дм ³	3,52 ± 0,70	3,44 ± 0,69	3,00
Свободная углекислота, г/дм ³	30,8 ± 3,0	28,6 ± 2,8	-
Общая жесткость, оЖ	6,1 ± 1,2	6,4 ± 1,2	7,0
Сухой остаток, мг/дм ³	0,38 ± 0,07	0,40 ± 0,07	1000

Примечание: *величина ПДК приведена в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21

Таблица 2. Содержание ионов в воде источника Чурек-Доргун

Определяемые компоненты, мг/дм ³	Проба №1	Проба №2	ПДК*
HCO ₃ ⁻	271,5 ± 29,9	274,3 ± 30,2	500
SO ₄ ²⁻	166,5 ± 33,3	169,8 ± 33,9	500
Cl ⁻	9,57 ± 1,53	8,86 ± 1,40	350
NO ₃ ⁻	3,15 ± 0,56	2,85 ± 0,51	45
NO ₂ ⁻	0,08 ± 0,01	0,05 ± 0,01	3,0
K ⁺ + Na ⁺	146,3 ± 29,3	160 ± 32	200
Ca ²⁺	56,2 ± 2,8	60,8 ± 3,0	200
Mg ²⁺	29,6 ± 4,4	27,1 ± 4,0	100
NH ₄ ⁺	0,74 ± 0,19	0,80 ± 0,21	2,5
Fe _{общ}	0,05 ± 0,013	0,06 ± 0,015	0,3

Примечание: *величина ПДК приведена в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21

момент написания статьи культивируемым видом *Methanomassiliicoccus luminyensis*, выделенным из фекалий человека (Dridi et al., 2012). Данный вид является мезофильным, облигатно анаэробным метаногеном, растущим в диапазоне температур 25–45°C (оптимум при 37°C), pH 7,2–8,4 (оптимум при pH 7,6) и солености 0,1–1,0% (оптимум 1,0%). Образует метан из водорода и метанола. Род *Nitrososphaera* также представлен единственным культивируемым видом *Nitrososphaera viennensis*, выделенным из почвы. Это мезофильный, нейтрофильный и аэробный аммоний-окисляющий микроорганизм с оптимальной температурой роста 42°C и pH 7,5 (Stieglmeier et al., 2014). Таким образом, археи составляют 0,27% микроорганизмов сообщества ила и представлены мезофильными видами.

Бактериальное сообщество ила было достаточно разнообразным и представлено 2365 филотипами. Всего в составе бактериального микробного сообщества определено 23 филума, среди которых доминировали *Pseudomonadota* (50,9% от общего числа последовательностей), *Bacillota* (17,4%), *Bacteroidota* (15,9%), *Chloroflexota* (5,5%), *Actinomycetota* (3,8%), *Verrucomicrobiota* (1,7%), *Acidobacteriota* (1,3%) и *Mycoplasmata* (1,3%) (Рис. 2). Распространение этих филумов типично для пресноводных микробных сообществ, расположенных в разных географических зонах мира (Newton et al., 2011).

Основу микробного сообщества ила составляют широко распространенные в разных экосистемах микроорганизмы родов *Aeromonas*, *Psychrosinus*, *Malikia*, *Dechloromonas*, *Sunxiuqinia*, *Thiobacillus*, *Geobacter*, *Litorilina*, *Giesbergeria*, *Rivibacter* с различными физиологическими свойствами и метаболизмом (Таблица 5). Они обладают высоким адаптационным потенциалом для выживания в различных условиях, в том числе и экстремальных.

В сообществе ила доминируют представители филума *Pseudomonadota* (50,9%), которые широко распространены в самых различных местах обитания, характеризуются большим разнообразием и высокой численностью (Tobler and Benning, 2011; Wang et al., 2012; Парфенова и др., 2013; De Leon

et al., 2013; Zinke et al., 2018; Дагурова и др., 2023 и др.). В составе бактериального сообщества ила класс *Gamma*proteobacteria характеризовался преобладанием хемоорганотрофов рода *Aeromonas* (9,83%) и микроаэрофильных серо- и железовосстанавливающих бактерий рода *Geobacter* (класс *Delta*proteobacteria, 2,86%). Род *Aeromonas* включает более 30 грамотрицательных видов бактерий естественных обитателей водной среды (Aravena-Roman et al., 2013; Marti and Balcazar, 2015 и др.). Помимо воды, *Aeromonas* широко распространены в самых разнообразных источниках, таких как почва, овощи и пищевые продукты (McMahon and Wilson, 2001; Gonçalves Pessoa et al., 2019; Barger et al., 2021; Pérez-García et al., 2021). Эти микроорганизмы, обычно рассматриваемые как патогены рыб и некоторых других животных, приобретают все большее значение в медицинских исследованиях, благодаря своей способности колонизировать и инфицировать людей (Mohan et al., 2017, Pessoa et al., 2022).

Среди *Beta*proteobacteria доминировали бактерии родов *Malikia* (5,55%), *Dechloromonas* (4,33%), *Thiobacillus* (3,02%), *Giesbergeria* (1,99%), *Rivibacter* (1,98%), *Rhodofera* (1,62%), *Sideroxydans* (1,0%) и *Acidovorax* (1,0%). Род *Malikia* включает два культивируемых вида, накапливающих полигидроксикарбоксилаты и полифосфаты: *Malikia granosa*, выделенная из активного ила городской станции очистки сточных вод, и *Malikia spinosa*, выделенная из воды реки

Таблица 3. Содержание макроэлементов в исследуемых пробах ила источника Чурек-Доргун

Элементы	Проба №1	Проба №2
Макроэлементы, %		
Ca	6,55	4,48
Mg	2,24	3,4
K	1,14	0,63
P	0,15	0,26
Условно-эссенциальные элементы, %		
Si	55,67	53,05

Таблица 4. Содержание микроэлементов в исследуемых пробах ила источника Чурек-Доргун

Элементы	Проба №1	Проба №2	Величина ПДК _{подв'} мг/кг почвы с учетом фона	Показатели вредности		
				Транслокационный	Водный	Общесанитарный
Потенциально-токсичные, мг/кг						
Ni	11,76 ± 0,03	9,82 ± 0,03	4,0	6,7	14,0	4,0
Sr	101,4 ± 0,8	349,3 ± 2,5	600			
Микроэлементы, мг/кг						
Mn	1472 ± 14	1149 ± 11	1500	3500,0	1500,0	1500,0
Zn	195,8 ± 2,1	196,8 ± 2,0	23,0	23,0	200,0	37,0
V	100,1 ± 0,8	63,1 ± 0,4	150,0	170,0	350,0	150,0
Cu	43,3 ± 3,2	42,6 ± 3,1	3,0	3,5	72,0	3,0
Co	18,4 ± 0,5	14,6 ± 0,2	5,0	25,0	> 1000	5,0
Микроэлементы, %						
Fe	7,56	5,1	-			

Примечание: *величина ПДК химических веществ в почвах и допустимые уровни их содержания по показателям вредности приведены в соответствии с СанПиН 4266-87.

в США (Spring et al., 2005). Род *Dechloromonas* представлен бактериями, восстанавливающими хлорат (Achenbach et al., 2001; Wolterink et al., 2005). Среди представителей *Betaproteobacteria* также обнаружены широко распространенные в водных и почвенных экосистемах серные хемолитотрофные сероокисляющие бактерии рода *Thiobacillus* (3,02%), гетеротрофные бактерии родов *Giesbergeria* (1,99%) и *Rivibacter* (1,98%), умеренно психрофильные несерные бактерии рода *Rhodoferrax* (1,62%) и пресноводные железоокисляющие бактерии *Sideroxydans* (1,0%). *Acidovorax* – род семейства *Comamonadaceae*, который содержит некоторые патогены растений, такие как вид *Acidovorax avenae*, вызывающий бактериальную пятнистость плодов на бахчевых культурах (Willems et al., 1992). Другие виды *Acidovorax* осуществляют окисление двухвалентного железа в анаэробных условиях, образуя минералы железа в почве. Среди них также выявлены психрофильные

водородные бактерии из почвы тундры (Васильева и др., 1998) и аэробная бактерия из почвы ледникового фронта Коллинз на полуострове Филдес, Антарктида (Xu et al., 2019).

Класс *Alphaproteobacteria* был представлен родом *Tabrizicola* (семейство *Rhodobacteraceae*), наличие которого обычно ассоциируется с биогеохимическим круговоротом серы (Chen et al., 2014).

Следует отметить, что суммарно представители двадцати доминирующих филоотипов в микробном сообществе составляют около 58% от общего числа проанализированных последовательностей, остальные 42% приходятся на минорные группы, в которые входят бактерии различных филумов.

Филум *Bacteroidota* составляет 15,9% и включает в основном филоотипы *Sunxiuqinia* (3,89%), *Mariniphaga* (1,67%), *Prolixibacter* (1,57%) и *Mangrovibacterium* (1,51%). Среди представителей рода *Prolixibacter* встречается психротолерантный

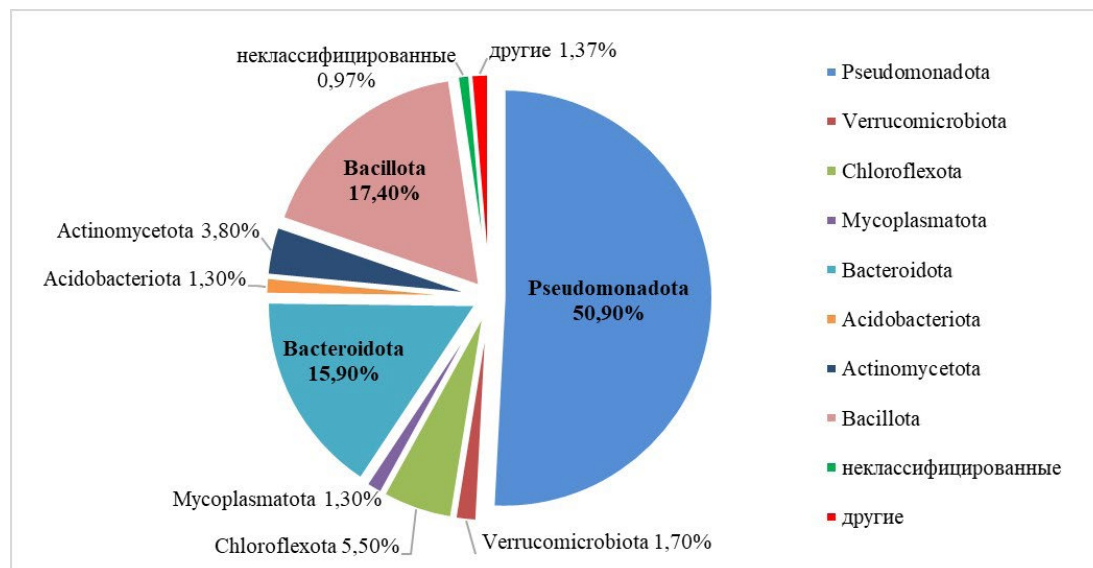


Рис.2. Состав бактериального сообщества ила источника Чурек-Доргун

Таблица 5. Представленность доминирующих филогенов в микробных сообществах ила источника Чурек-Доргун

№ п/п	Название филогена	Доля последовательностей от общего числа, %
1	<i>Aeromonas</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Gamma</i> proteobacteria)	9,83
2	<i>Psychrosinus</i> (<i>Bacillota</i> , класс <i>Negativicutes</i>)	8,48
3	<i>Malikia</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Beta</i> proteobacteria)	5,55
4	<i>Dechloromonas</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Beta</i> proteobacteria)	4,33
5	<i>Sunxiuqinia</i> (<i>Bacteroidota</i> , класс <i>Bacteroidia</i>)	3,89
6	<i>Thiobacillus</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Beta</i> proteobacteria)	3,02
7	<i>Geobacter</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Delta</i> proteobacteria)	2,86
8	<i>Litorilinea</i> (<i>Chloroflexota</i> , класс <i>Caldilineae</i>)	2,17
9	<i>Giesbergeria</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Beta</i> proteobacteria)	1,99
10	<i>Rivibacter</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Beta</i> proteobacteria)	1,98
11	<i>Mariniphaga</i> (<i>Bacteroidota</i> , класс <i>Bacteroidia</i>)	1,67
12	<i>Rhodoferax</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Beta</i> proteobacteria)	1,62
13	<i>Prolixibacter</i> (<i>Bacteroidota</i> , класс <i>Bacteroidia</i>)	1,57
14	<i>Ornatilinea</i> (<i>Chloroflexota</i> , класс <i>Anaerolineae</i>)	1,53
15	<i>Mangrovibacterium</i> (<i>Bacteroidota</i> , класс <i>Bacteroidia</i>)	1,51
16	<i>Clostridium sensu stricto</i> (<i>Bacillota</i> , класс <i>Clostridia</i>)	1,45
17	<i>Ilumatobacter</i> (<i>Actinomycetota</i> , класс <i>Acidimicrobiia</i>)	1,04
18	<i>Tabrizicola</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Alpha</i> proteobacteria)	1,01
19	<i>Sideroxydans</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Beta</i> proteobacteria)	1,0
20	<i>Acidovorax</i> (<i>Pseudomonadota</i> , класс <i>Beta</i> proteobacteria)	1,0

анаэроб, который был выделен с поверхности электрода, инкубированного в морских отложениях. Это факультативный анаэроб, который может сбраживать сахара, используя путь смешанной кислотной ферментации, и он может расти в широком диапазоне температур (4-42°C) (Holmes et al., 2007). Род *Mangrovibacterium* представлен лигнинразлагающими и азотфиксирующими бактериями, выделенными из отложений под мангровыми деревьями (Huang et al., 2014; Sun et al., 2020; Wu et al., 2015).

Среди представителей филума *Bacillota* обнаружены бактерии рода *Psychrosinus* (8,48%, класс *Negativicutes*). Род *Psychrosinus* в настоящее время представлен единственным психрофильным облигатно-анаэробным лактат-ферментирующим видом *Psychrosinus fermentans*, выделенным из пробы воды из постоянно покрытого льдом меромиктического озера в Антарктиде (Sattley et al., 2008).

В структуру сообщества на уровне «топ-20» филогенов входят также представители *Chloroflexota* и *Actinomycetota*, на долю которых приходилось 5,5% и 3,8% от общего количества последовательностей образца соответственно.

Филум *Chloroflexota* включает два рода *Litorilinea* (2,17%) и *Ornatilinea* (1,57%), которые на данный момент имеют по единственному представителю. Целлюлолитический представитель класса *Anaerolineae* – *Ornatilinea apprima* – облигатно-анаэробная, мезофильная, органотрофная бактерия, была выделена из микробного мата, образовавшегося в горячей воде, вытекающей из скважины в

Западной Сибири (Podosokorskaya et al., 2013). Вид *Litorilinea aerophila* является аэробным представителем класса *Caldilineae*, выделен из приливно-отливного горячего источника на северо-западе Исландии (Kale et al., 2013).

Филум *Actinomycetota* был представлен родом *Ilumatobacter*, изоляты которого были выделены из донных отложений устья реки Куира-Гава в Японии и прибрежного песка, собранного на морском побережье Японии (Matsumoto et al., 2009; 2013).

В составе микробного сообщества выявлены хемотрофные бактерии, участвующие в круговороте серы. Из бактерий серного цикла в микробном сообществе ила отмечены сероредуцирующие бактерии *Geobacter* (сем. *Geobacteraceae*) и *Hirpea* (сем. *Desulfobacterales*), сероокисляющие бактерии *Thiobacillus* (сем. *Hydrogenophilaceae*), *Sulfuritalea* (сем. *Rhodocyclaceae*), пурпурные серобактерии *Thiocapsa* (сем. *Chromatiaceae*) и сульфатредуцирующие бактерии (Таблица 6).

4. Выводы

Источник Чурек-Доргун относится к холодным, пресным источникам с минерализацией 0,39 г/дм³ и нейтральными значениями pH. Вода источника средней жесткости, относится к сульфатно-гидрокарбонатному кальциевому типу. Рентгенофлуоресцентным методом из образцов ила источника Чурек-Доргун были определены элементы, среди которых преобладало содержание

Таблица 6. Представленность функционально значимых филотипов бактерий цикла серы в микробном сообществе ила источника Чурек-Доргун (Тува)

Название филотипа	Число последовательностей, шт.
Сероредуцирующие бактерии	
<i>Geobacter</i> (сем. <i>Geobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	1089
<i>Hippea</i> (сем. <i>Desulfobacterales</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	6
Сульфатредуцирующие бактерии	
<i>Desulfocapsa</i> (сем. <i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	232
<i>Desulfobulbus</i> (сем. <i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	191
<i>Subdivision3 genera incertae sedis</i> (сем. <i>Thermodesulfobiaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	180
<i>Desulfobacterium</i> (сем. <i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	176
<i>Desulfoprunum</i> (сем. <i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	151
<i>Desulfosalsimonas</i> (сем. <i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	116
<i>Desulfatirhabdium</i> (сем. <i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	44
<i>Aminicenantes genera incertae sedis</i> (сем. <i>Desulfovibrionaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	35
<i>Desulfovibrio</i> (сем. <i>Desulfovibrionaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	34
<i>Desulfonatronum</i> (сем. <i>Desulfovibrionaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	25
<i>Desulfopila</i> (сем. <i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	23
<i>Desulforhabdus</i> (сем. <i>Syntrophobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	19
<i>Desulfofaba</i> (сем. <i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	17
<i>Desulfotomaculum</i> (сем. <i>Peptococcaceae_2</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	17
<i>Desulforegula</i> (сем. <i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	16
<i>Desulfomonile</i> (сем. <i>Syntrophaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	13
<i>Desulfomicrobium</i> (сем. <i>Desulfomicrobiaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	13
<i>Desulfobacca</i> (сем. <i>Syntrophaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	10
<i>Thermodesulfovibrio</i> (сем. <i>Nitrospiraceae</i> , <i>Nitrospira</i>)	7
<i>Desulfatiferula</i> (<i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	6
<i>Syntrophobacter</i> (сем. <i>Syntrophobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	6
<i>Desulfotalea</i> (сем. <i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	6
<i>Desulforhopalus</i> (сем. <i>Desulfobulbaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	3
<i>Desulfococcus</i> (сем. <i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	3
<i>Desulfatiglans</i> (сем. <i>Desulfobacteraceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i>)	3
Сероокисляющие бактерии	
<i>Thiobacillus</i> (сем. <i>Hydrogenophilaceae</i> , <i>Betaproteobacteria</i>)	1147
<i>Sulfuritalea</i> (сем. <i>Rhodocyclaceae</i> , <i>Betaproteobacteria</i>)	111
<i>Thiohalomonas</i> (сем. <i>Ectothiorhodospiraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	78
<i>Sulfurisoma</i> (сем. <i>Rhodocyclaceae</i> , <i>Betaproteobacteria</i>)	54
<i>Sulfuricurvum</i> (сем. <i>Helicobacteraceae</i> , <i>Epsilonproteobacteria</i>)	34
<i>Thiohalocapsa</i> (сем. <i>Chromatiaceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	32
<i>Thioalkalibacter</i> (сем. <i>Halothiobacillaceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	30
<i>Thiohalophilus</i> (сем. <i>Ectothiorhodospiraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	26
<i>Thiogranum</i> (сем. <i>Ectothiorhodospiraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	12
<i>Halothiobacillus</i> (сем. <i>Sinobacteraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	11
<i>Thiopfundum</i> (сем. <i>Thioalkalispiraceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	7
Пурпурные серобактерии	
<i>Thiocapsa</i> (сем. <i>Chromatiaceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	4
Гетеротрофные микроорганизмы, потенциально участвующие в окислении сероводорода, молекулярной серы и тиосульфата	
<i>Pseudomonas</i> (сем. <i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Gammaproteobacteria</i>)	26

кальция и магния. Среди микроэлементов доминировали марганец, цинк и ванадий. Бальнеологические рекомендации позволяют использовать воды источника Чурек-Доргун в процедурах для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, гипертонической болезни, головной боли (Аракчаа, 1995).

Впервые было определено таксономическое разнообразие прокариот в образцах ила из источника Чурек-Доргун. В результате анализа полученных последовательностей гена 16S рРНК были выявлены филоциты, принадлежащие домену *Bacteria* и *Archaea*. Археи составили 0,27% микроорганизмов сообщества ила и были представлены мезофильными видами. В составе бактериального микробного сообщества ила холодного источника Чурек-Доргун было выявлено преобладание филумов *Pseudomonadota*, *Bacillota*, *Bacteroidota*, *Chloroflexota*, *Actinomycetota*, *Verrucomicrobiota*, *Acidobacteriota* и *Mycoplasmata*, которые являются типичными представителями для пресноводных микробных сообществ. На более низком таксономическом уровне в микробном сообществе источника преобладали широко распространенные в водных и почвенных экосистемах филоциты бактерий, обеспечивающие замкнутые круговороты биогенных элементов.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ №23-24-10026.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Акимов В.Н., Подосокорская О.А., Шляпников М.Г. и др. 2013. Доминантные филоциты в клонных библиотеках генов 16S рРНК из бактериальных матов гидротермальных источников кальдеры вулкана Узон, Камчатка. *Микробиология* 82(6): 721–727. DOI: [10.7868/S0026365613060025](https://doi.org/10.7868/S0026365613060025)

Аракчаа К.Д. 1995. Слово об аржаанах Тыва. Москва: Поли-Ком.

Аракчаа К.Д., Кужугет К.С. 2013. Природные водные лечебные ресурсы республики Тыва: состояние и перспективы исследований. Материалы Международной научно-практической конференции «Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов: опыт и перспективы использования в целях профилактики заболеваний, лечения и реабилитации больных», с. 8-15.

Белькова Н.Л. 2009. Молекулярно-генетические методы анализа микробных сообществ. В кн. *Разнообразие микробных сообществ внутренних водоемов России: Учебно-методическое пособие*. Ярославль, с. 53-63

Васильева Л.В., Савельева Н.Д., Омельченко М.В. и др. 1998. *Arthrobacter cryogenae* sp. nov. и *Acidovorax psychrophacilis* sp. nov. - психрофильные водородные бактерии из почвы тундры. *Микробиология* 67: 195-200.

Дагурова О.П., Цыденова Б.В., Зайцева С.В. 2023. Разнообразие микробного сообщества пресного озера

Баунт. *Природа Внутренней Азии* 3(25): 31–39. DOI: [10.18101/2542-0623-2023-3-31-39](https://doi.org/10.18101/2542-0623-2023-3-31-39)

Заварзин Г.А. 2003. Лекции по природоведческой микробиологии. Москва: Наука.

Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д., Данилова Э.В. и др. 2011. Геохимическая деятельность микроорганизмов гидротерм Байкальской рифтовой зоны. Новосибирск: Гео.

Парфенова В.В., Гладких А.С., Белых О.И. 2013. Сравнительный анализ биоразнообразия бактериальных сообществ планктона и биопленки в озере Байкал. *Микробиология* 82 (1): 91-101. DOI: [10.1134/S0026261713010128](https://doi.org/10.1134/S0026261713010128)

Скальный А.В. 2003. Микроэлементы для вашего здоровья. Москва: ОНИКС 21 век.

Achenbach L.A., Michaelidou U., Bruce R.A. et al. 2001. *Dechloromonas agitata* gen. nov., sp. nov. and *Dechlorosoma suillum* gen. nov., sp. nov., two novel environmentally dominant (per)chlorate-reducing bacteria and their phylogenetic position. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51: 527-533. DOI: [10.1099/00207713-51-2-527](https://doi.org/10.1099/00207713-51-2-527)

Alsop E.B., Boyd E.S., Raymond J. 2014. Merging metagenomics and geochemistry reveals environmental controls on biological diversity and evolution. *BMC Ecology* 14(16): 1-12. DOI: [10.1186/1472-6785-14-16](https://doi.org/10.1186/1472-6785-14-16)

Aravena-Roman M., Beaz-Hidalgo R., Inglis T.J. et al. 2013. *Aeromonas australiensis* sp. nov., isolated from irrigation water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 2270-2276. DOI: [10.1099/ijs.0.040162-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.040162-0)

Barger P.C., Liles M.R., Beck B.H. et al. 2021. Differential production and secretion of potentially toxigenic extracellular proteins from hypervirulent *Aeromonas hydrophila* under biofilm and planktonic culture. *BMC Microbiology* 21: 1–16. DOI: [10.1186/s12866-021-02088-3](https://doi.org/10.1186/s12866-021-02088-3)

Chen Z., Zhang J., Lei X. et al. 2014. Influence of plaque-forming bacterium, *Rhodobacteraceae* sp. on the growth of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology* 169: 784–788. DOI: [10.1016/j.biortech.2014.07.021](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.021)

De Leon K.B., Gerlach R., Peyton B.M. et al. 2013. Archaeal and bacterial communities in three alkaline hot springs in Heart Lake Geysir Basin, Yellowstone National Park. *Frontiers in Microbiology* 4(330): 1-10. DOI: [10.3389/fmicb.2013.00330](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00330)

Dridi B., Fardeau M.L., Ollivier B. et al. 2012. *Methanomassiliicoccus luminyensis* gen. nov., sp. nov., a methanogenic archaeon isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62: 1902–1907. DOI: [10.1099/ijs.0.033712-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.033712-0)

Fang S., Yan J. 2022. Analysis of prokaryotic microbial diversity in hot spring water from Bantang (China) using the targeted amplicon analysis. *All Life* 15: 325-339. DOI: [10.1080/26895293.2022.2049899](https://doi.org/10.1080/26895293.2022.2049899)

Gonçalves Pessoa R.B., de Oliveira W.F., Marques D.S.C. et al. 2019. The genus *Aeromonas*: a general approach. *Microbial Pathogenesis* 130: 81–94. DOI: [10.1016/j.micpath.2019.02.036](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.036)

Holmes D.E., Nevin K.P., Woodard T.L. et al. 2007. *Prolixibacter bellariivorans* gen. nov., sp. nov., a sugar-fermenting, psychrotolerant anaerobe of the phylum Bacteroidetes, isolated from a marine-sediment fuel cell. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57: 701-707. DOI: [10.1099/ijs.0.64296-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.64296-0)

Huang X.F., Liu Y.J., Dong J.D. et al. 2014. *Mangrovibacterium diazotrophicum* gen. nov., sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from a mangrove sediment, and proposal of *Prolixibacteraceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 3: 875-881. DOI: [10.1099/ijs.0.052779-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.052779-0)

- Kale V., Bjornsdottir S.H., Friethjonsson O.H. et al. 2013. *Litorilinea aerophila* gen. nov., sp. nov., an aerobic member of the class *Caldilineae*, phylum *Chloroflexi*, isolated from an intertidal hot spring. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 1149-1154. DOI: [10.1099/ijs.0.044115-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.044115-0)
- Li G., Jiang H., Hou W. et al. 2012. Microbial diversity in two cold springs on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Geoscience Frontiers* 3: 317-325. DOI: [10.1016/j.gsf.2011.12.004](https://doi.org/10.1016/j.gsf.2011.12.004)
- Marti E., Balcazar J.L. 2015. *Aeromonas rivipollensis* sp. nov., a novel species isolated from aquatic samples. *Journal of Basic Microbiology* 55: 1435-1439. DOI: [10.1002/jobm.201500264](https://doi.org/10.1002/jobm.201500264)
- Matsumoto A., Kasai H., Matsuo Y. et al. 2009. *Ilumatobacter fluminis* gen. nov., sp. nov., a novel actinobacterium isolated from the sediment of an estuary. *Journal of General and Applied Microbiology* 55: 201-205. DOI: [10.2323/JGAM.55.201](https://doi.org/10.2323/JGAM.55.201)
- Matsumoto A., Kasai H., Matsuo Y. et al. 2013. *Ilumatobacter nonamiense* sp. nov. and *Ilumatobacter coccineum* sp. nov., isolated from seashore sand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 3404-3408. DOI: [10.1099/ijs.0.047316-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.047316-0)
- McMahon M.A.S., Wilson I.G. 2001. The occurrence of enteric pathogens and *Aeromonas* species in organic vegetables. *International Journal of Food Microbiology* 70: 155-162. DOI: [10.1016/S0168-1605\(01\)00535-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00535-9)
- Mohan B., Sethuraman N., Verma R. et al. 2017. Speciation, clinical profile & antibiotic resistance in *Aeromonas* species isolated from cholera-like illnesses in a tertiary care hospital in North India. *Indian Journal of Medical Research* 146: 517-520. DOI: [10.4103/ijmr.IJMR](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR)
- Newton R., Jones S., Eiler A. et al. 2011. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 75: 14-49. DOI: [10.1128/MMBR.00028-10](https://doi.org/10.1128/MMBR.00028-10)
- Pérez-García D., Larios-Serrato V., Rojas-Rios R. et al. 2021. Frequency and diversity of small plasmids in mesophilic *Aeromonas* isolates from fish, water and sediment. *Plasmid* 118: 1-10. DOI: [10.1016/j.plasmid.2021.102607](https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2021.102607)
- Pessoa R.B.G., Oliveira W.F., Correia M.T.S. et al. 2022. *Aeromonas* and human health disorders: clinical approaches. *Frontiers in Microbiology* 13: 868890. DOI: [10.3389/fmicb.2022.868890](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.868890)
- Podosokorskaya O.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Novikov A.A. et al. 2013. *Ornatilinea apprima* gen. nov., sp. nov., a cellulolytic representative of the class *Anaerolineae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63: 86-92. DOI: [10.1099/ijs.0.041012-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.041012-0)
- Sattley W.M., Jung D.O., Madigan M.T. 2008. *Psychrosinus fermentans* gen. nov., sp. nov., a lactate-fermenting bacterium from near-freezing oxycline waters of a meromictic Antarctic lake. *FEMS Microbiology Letters* 287: 121-127. DOI: [10.1111/j.1574-6968.2008.01300.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01300.x)
- Spring S., Wagner M., Schumann P. et al. 2005. *Malikia granosa* gen. nov., sp. nov., a novel polyhydroxyalkanoate- and polyphosphate-accumulating bacterium isolated from activated sludge, and reclassification of *Pseudomonas spinosa* as *Malikia spinosa* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55: 621-629. DOI: [10.1099/ijs.0.63356-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.63356-0)
- Stieglmeier M., Klingl A., Alves R.J.E. et al. 2014. *Nitrososphaera viennensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon from soil and a member of the archaeal phylum *Thaumarchaeota*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64: 2738-2752. DOI: [10.1099/ijs.0.063172-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.063172-0)
- Streit W.R., Schmitz R.A. 2004. Metagenomics – the key to the uncultured microbes. *Current Opinion in Microbiology* 7(5): 492-498. DOI: [10.1016/j.mib.2004.08.002](https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.08.002)
- Sun C., Zeng X., Lai Q. et al. 2020. *Mangrovibacterium lignilyticum* sp. nov., a facultatively anaerobic lignin-degrading bacterium isolated from mangrove sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70: 4502-4507. DOI: [10.1099/ijsem.0.004305](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004305)
- Tobler D.J., Benning L.G. 2011. Bacterial diversity in five Icelandic geothermal waters: temperature and sinter growth rate effects. *Extremophiles* 15: 473-485. DOI: [10.1007/s00792-011-0378-z](https://doi.org/10.1007/s00792-011-0378-z)
- Wang M., Zhang X., Shu Z. et al. 2022. Bacterial and archaeal communities within the alkaline soda Langaco Lake in the Qinghai-Tibet Plateau. *Annals of Microbiology* 72: 33. DOI: [10.1186/s13213-022-01691-7](https://doi.org/10.1186/s13213-022-01691-7)
- Wang Y., Sheng H.F., He Y. et al. 2012. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of Illumina tags. *Applied and Environmental Microbiology* 78(23): 8264-8271. DOI: [10.1128/AEM.01821-12](https://doi.org/10.1128/AEM.01821-12)
- Willems A., Goor M., Thielemans S. et al. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 42: 107-119. DOI: [10.1099/00207713-42-1-107](https://doi.org/10.1099/00207713-42-1-107)
- Wolterink A., Kim S., Muusse M. et al. 2005. *Dechloromonas hortensis* sp. nov. and strain ASK-1, two novel (per)chlorate-reducing bacteria, and taxonomic description of strain GR-1. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55: 2063-2068. DOI: [10.1099/ijs.0.63404-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.63404-0)
- Wu W.J., Zhou Y.X., Liu Y. et al. 2015. *Mangrovibacterium marinum* sp. nov., isolated from a coastal sediment. *Antonie Van Leeuwenhoek* 107: 1583-1589. DOI: [10.1099/ijs.0.052779-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.052779-0)
- Xu Q., Peng X., Wang Y. et al. 2019. *Acidovorax antarcticus* sp. nov., isolated from a soil sample of Collins Glacier front, Antarctica. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 71: 3. DOI: [10.1099/ijsem.0.004744](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004744)
- Zinke L.A., Reese B.K., McManus J. et al. 2018. Sediment microbial communities influenced by cool hydrothermal fluid migration. *Frontiers in Microbiology* 9: DOI: [10.3389/fmicb.2018.01249](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01249)