

# Diversity of microbial communities in long-term ice-covered water bodies of the Cold Pole region, Yakutia



Zakharova Yu.R.<sup>1\*</sup>, Galachyants Yu.P.<sup>1</sup>, Petrova D.P.<sup>1</sup>, Mikhailov I.S.<sup>1</sup>, Bedoshvili Ye.D.<sup>1</sup>, Tomberg I.V.<sup>1</sup>, Kopyrina L.I.<sup>2</sup>, Likhoshway Ye.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

<sup>2</sup>Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Yakutsk, 677980, Russia

**ABSTRACT.** Water bodies located in the north-east of Yakutia during the period of ice cover were studied. High-throughput sequencing of 16S rRNA gene libraries revealed a high taxonomic diversity of microbial communities in the studied ecotopes. The majority of the under-ice communities was represented by *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Cyanobacteria*, *Verrucomicrobiota*, *Bacteroidota*, and *Planctomycetota*. The difference in community diversity between deep-water lakes Labyntyk, Vodorazdelnoye, and Ulu, the source of the Labyntyk River, and shallow-water lakes Myamichi and Mertvoye, the mouth of the Labyntyk River, is shown.

**Keywords:** under-ice microbial communities, high-throughput sequencing, freshwater bodies, Cold Pole

**For citation:** Zakharova Yu.R., Galachyants Yu.P., Petrova D.P., Mikhailov I.S., Bedoshvili Ye.D., Tomberg I.V., Kopyrina L.I., Likhoshway Ye.V. Diversity of microbial communities in long-term ice-covered water bodies of the Cold Pole region, Yakutia // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 1143-1148. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1143

## 1. Introduction

The studies of seasonally ice-covered lakes reliably show that winter trophic webs and physical processes are active and complex (Salonen et al., 2009; Hampton et al., 2017). Low temperatures, limited nutrient inputs, and reduced light during the ice cover period affect the metabolic characteristics of freshwater microorganisms, as well as microbial diversity and, consequently, their role in trophic webs and global biogeochemical cycles throughout the year (Bertilsson et al., 2013; Wilhelm et al., 2014). In the subarctic zone to the northeast of Yakutia, in the area of extremely low temperatures at the Cold Pole, there are several oligotrophic lakes that are covered with ice for more than seven months of the year. Previously, we studied the ecology and structure of microbial communities under ice in Lakes Labyntyk and Vorota (Bashenkhaeva et al., 2020; Zakharova et al., 2022).

The study aimed to identify the main taxa of microbial communities and compare their diversity, as well as reveal the influence of environmental factors during the ice cover period in different water bodies of the Cold Pole region.

\*Corresponding author.

E-mail address: [julia.zakharova@gmail.com](mailto:julia.zakharova@gmail.com) (Yu.R. Zakharova)

**Received:** June 17, 2024; **Accepted:** July 10, 2024;

**Available online:** August 30, 2024

## 2. Materials and methods

Water samples were collected in April 2021-2022 from water bodies in the area of 62-63°N in the Oymyakonsky ulus in the north-eastern region of Yakutia. We investigated five lakes in the Indigirka River basin that are deep-water lakes: Labyntyk (maximum depth 60 m), Vodorazdelnoye (66 m), and the shallow lakes: Myamichi (3 m), Mertvoye (6 m), and Ulu (13 m), as well as the source and mouth of the Labyntyk River. Sampling, measurement of physico-chemical parameters (temperature, conductivity, pH, concentrations of oxygen, phosphate, nitrite, nitrate, ammonium, organic carbon), sample preparation, and DNA isolation were carried out by methods published previously (Zakharova et al., 2022; Firsova et al., 2024). Amplicon library preparation and sequencing were carried out at the CUC "Genomic technologies, Proteomics and Cell biology" of FSBSI ARRIAM, Saint-Petersburg. The variable region V3-V4 of the 16S rRNA gene was amplified with primer pairs U341F (5'-CCTACGGGRSGCAGCAG-3') and U785R (5'-GGACTACCVGGGTATCTAAKCC-3'). Sequencing data were analyzed in Usearch v.10. (Edgar, 2010) and

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



Vsearch v.2.9.1 (Rognes et al., 2016). OTU sequences were taxonomically classified using Silva v.138 in Mothur v.1.43.0 (Schloss et al., 2009). Further statistical analyses were performed in R.

### 3. Results and discussion

The environmental parameters in the studied water bodies were relatively similar (Firsova et al. 2024). All lakes were 100% covered with snow, ranging in thickness from 31 to 51 cm and in ice thickness from 85 to 120 cm. The lowest values of water temperature were recorded in the Labyntyr River (0.5 °C) and in Lakes Labyntyr and Vodorzdelnoye (1.3 °C), and the highest values were recorded in Lake Myamichi (4.6 °C). The pH varied within slightly alkaline values (7.2–6.76), and conductivity values ranged from 47–68 µS/cm, except for samples from Lake Mertvoye (164 µS/cm). The nutrient content was consistently low in all samples. Phosphate concentrations ranged from 0.004–0.024 mg/l, with a maximum in Vodorzdelnoye Lake (0.168 mg/l). Also, the highest concentrations of ammonium ions were in Lake Myamichi (0.263 mg/l) and the Labyntyr River (0.123 mg/l), the maximum of nitrates was in Lake Mertvoye (1.242 mg/l), and nitrites did not exceed 0.025 mg/l. The value of organic carbon in the River and Lake Labyntyr was 1.80–2.81 mg/l, with high values recorded in Lakes Ulu up to 8.55 mg/l, Myamichi up to 10.35 mg/l, Mertvoye up to 30.78 mg/l, and Vodorzdelnoye up to 187.5 mg/l (Firsova et al. 2024).

Sequencing of 13 water samples yielded 225020 16S rRNA gene fragment sequences, clustered from 163 to 318 OTUs. In general, the number of OTUs, index values of taxonomic abundance (ACE), and diversity (Shannon) of bacterial communities in Lakes Mertvoye, Myamichi, Vodorzdelnoye, and the Labyntyr River (mouth) were lower than in the other samples. Higher values are found in samples from Lake Labyntyr. All OTUs were classified into 20 phyla, dominated by *Proteobacteria* (34%) and *Actinobacteriota* (29%), with *Cyanobacteria* (10%), *Verrucomicrobiota* (9%), *Bacteroidota* (8%), and *Planctomycetota* (4%) as subdominants. Our data (Bashenkhaeva et al., 2020, Zakharova et al., 2022) and other research (Tran et al., 2018) also indicated the abundance of these taxa in ice-covered ecosystems. The dominant phyla were represented in relatively equal shares in all the studied water bodies, except for the community from the mouth of the Labyntyr River, in which *Planctomycetota* and *Cyanobacteria* were not found. Representatives of the minor phyla *Firmicutes* (2%), *Chloroflexi* (1%), *Deinococcota* (0.8%) were most abundant in lakes Vodorzdelnoye, Ulu, Mertvoye and the Labyntyr River (source), *Acidobacteriota* (0.8%) in Lake Myamichi. Diversity analysis revealed a different abundance of some OTUs in the communities of the studied water bodies. For example, in Lake Myamichi, OTUs *Ilumatobacteraceae*, *Sporichthyaceae*, SAR11\_clade, *Methylobacter* prevailed; in Lake Vodorzdelnoye, *Methylacidiphilaceae*, *Cyanobium\_PCC-6307*, *Paenisporosarcina*; in Lake Ulu, *Terrimicrobium*, SAR11\_clade, *Gemmataceae*; in Lake Mertvoye,

*Polynucleobacter*, *Ilumatobacteraceae*; in Lake and the River (source) Labyntyr, *Acinetobacter*, *Cyanobium\_PCC-6307*, in the mouth of the River Labyntyr, *Methylobacter*, *Methylobacterium-Methylorubrum*. The comparison of beta diversity showed a division of the communities into two groups: the first group included the deep lakes Labyntyr, Vodorzdelnoye, Ulu and the source of the Labyntyr River. The communities of the shallow lakes Myamichi, Mertvoye, and the mouth of the Labyntyr River were similar in the second group. The correlation of bacterial community structure with snow thickness and ammonium ion concentration was shown.

### 4. Conclusions

In lakes covered by ice for long periods of time, microbial communities actively develop and change their species composition in response to environmental conditions. Expanding our knowledge of ice-covered water bodies in Yakutia, we characterized the diversity of microbial communities, which is important for understanding their ecological function, given that the study area is free of anthropogenic influence. Despite the severe environmental conditions, we found high diversity and differences in the abundance of community structure in the studied water bodies.

### Acknowledgements

The study was financially supported by projects No. 121032300186-9 (Limnological Institute SB RAS) and No. 121012190038-0 (Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS). The authors are grateful to A.A. Dolzhenkov, A.S. Gubin, A.V. Ilyichev, M.V. Makhlin, S.V. Zverev, R.Ya. Asanov, and S.F. Sivtsev for assistance in sampling.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

### References

- Bashenkhaeva M.V., Galachyants Y.P., Khanaev I.V. et al. 2020. Comparative analysis of free-living and particle-associated bacterial communities of Lake Baikal during the ice-covered period. *Journal Great Lakes Reserch* 46: 508–518. DOI: [10.1016/j.jglr.2020.03.015](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2020.03.015)
- Bertilsson S., Burgin A., Carey C.C. et al. 2013. The under-ice microbiome of seasonally frozen lakes. *Limnology Oceanography* 58: 1998–2012. DOI: [10.4319/lo.2013.58.6.1998](https://doi.org/10.4319/lo.2013.58.6.1998)
- Edgar R.C. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26: 2460–2461. DOI: [10.1093/bioinformatics/btq461](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461)
- Hampton S.E., Galloway A.W.E., Powers S.M. et al. 2017. Ecology under lake ice. *Ecology Letters* 20: 98–101. DOI: [10.1111/ele.12699](https://doi.org/10.1111/ele.12699)
- Firsova A., Bessudova A., Galachyants Yu. et al. 2024. Under-ice phytoplankton features of subarctic oligotrophic lakes of northeastern Yakutia. *Polar Biology* (in Press)
- Salonen K., Leppä M., Viljanen R.M. et al. 2009. Perspectives in winter limnology: closing the annual cycle of

freezing lakes. *Aquatic Ecology* 43: 609–616. DOI: [10.1007/s10452-009-9278-z](https://doi.org/10.1007/s10452-009-9278-z)

Rognes T., Flouri T., Nichols B. et al. 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *Peer J* 4:e2584. DOI: [10.7717/peerj.2584](https://doi.org/10.7717/peerj.2584)[doi:10.7717/peerj.2584](https://doi.org/10.7717/peerj.2584)

Schloss P.D., Westcott S.L., Ryabin T. et al. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied Environmental Microbiology* 75 (23): 7537–7541. DOI: [10.1128/AEM.01541-09](https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09)

Tran P., Ramachandran A., Khawasik O. et al. 2018. Microbial life under ice: metagenome diversity and in situ activity of *Verrucomicrobia* in seasonally ice-covered lakes. *Environmental Microbiology* 20: 2568–2584. DOI: [10.1111/1462-2920.14283](https://doi.org/10.1111/1462-2920.14283)

Wilhelm S.W., LeCleir G.R., Bullerjahn G.S. et al. 2014. Seasonal changes in microbial community structure and activity imply winter production is linked to summer hypoxia in a large lake. *FEMS Microbiology Ecology* 87: 475–485. DOI: [10.1111/1574-6941.12238](https://doi.org/10.1111/1574-6941.12238)

Zakharova Y., Bashenkhaeva M., Galachyants Y. et al. 2022. Variability of microbial communities in two long-term ice-covered freshwater lakes in the subarctic region of Yakutia, Russia. *Microbial Ecology* 84: 958–973. DOI: [10.1007/s00248-021-01912-7](https://doi.org/10.1007/s00248-021-01912-7)

# Разнообразие микробных сообществ в длительно покрытых льдом водоемах региона Полюса холода, Якутия



Захарова Ю.Р.<sup>1\*</sup>, Галачьянц Ю.П.<sup>1</sup>, Петрова Д.П.<sup>1</sup>, Михайлов И.С.<sup>1</sup>, Бедошвили Е.Д.<sup>1</sup>, Томберг И.В.<sup>1</sup>, Копырина Л.И.<sup>2</sup>, Лихошвай Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лимнологический институт, Сибирское отделение Российской академии наук, Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

<sup>2</sup>Институт биологических проблем криолитозоны, Сибирское отделение Российской академии наук, Якутск, 677980, Россия

**АННОТАЦИЯ.** Исследованы водоемы на северо-востоке Якутии в период ледостава. Высокопроизводительное секвенирование библиотек генов 16S рРНК выявило высокое таксономическое разнообразие микробных сообществ в изученных экотопах. Основную часть подледного сообщества составляли *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Cyanobacteria*, *Verrucomicrobiota*, *Bacteroidota* и *Planctomycetota*. Показано различие в разнообразии сообществ между глубоководными озерами Лабынкыр, Водораздельное, Улу, истоком реки Лабынкыр и мелководными озерами Мямичи, Мертвое, устьем реки Лабынкыр.

**Ключевые слова:** подледные микробные сообщества, высокопроизводительное секвенирование, пресноводные водоемы, Полюс холода

Для цитирования: Захарова Ю.Р., Галачьянц Ю.П., Петрова Д.П., Михайлов И.С., Бедошвили Е.Д., Томберг И.В., Копырина Л.И., Лихошвай Е.В. Разнообразие микробных сообществ в длительно покрытых льдом водоемах региона Полюса холода, Якутия // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 1143-1148. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1143

## 1. Введение

Исследования озер, сезонно покрытых льдом, достоверно показывают, что зимние пищевые сети и физические процессы являются активными и сложными (Salonen et al., 2009; Hampton et al., 2017). Низкие температуры, ограниченное поступление питательных веществ, пониженный уровень освещенности во время ледяного покрова влияют на особенности метаболизма пресноводных микроорганизмов, а также на микробное разнообразие и как следствие на их роль в пищевой сети и глобальных биогеохимических циклах в течение года (Bertilsson et al., 2013; Wilhelm et al., 2014). В субарктической зоне на северо-востоке Якутии, в районе экстремально низких температур Полюса холода расположено несколько олиготрофных озер, которые более семи месяцев в году покрыты льдом. Экология и структура микробных сообществ подо льдом в озерах Лабынкыр и Ворота были исследованы нами ранее (Bashenkhaeva et al., 2020; Zakharova et al., 2022).

\*Автор для переписки.

Адрес e-mail: [julia.zakharova@gmail.com](mailto:julia.zakharova@gmail.com) (Ю.Р. Захарова)

Поступила: 17 июня 2024; Принята: 10 июля 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

Целью работы было идентифицировать основные таксоны микробных сообществ и сравнить их разнообразие, а также выявить влияние факторов окружающей среды во время ледостава в различных водоемах региона Полюса холода.

## 2. Материалы и методы

Пробы воды были отобраны из водоёмов, расположенных в районе 62–63° с.ш. в Оймяконском улусе Северо-Восточного региона Якутии, в апреле 2021–2022 гг. Исследовано пять озер бассейна реки Индигирки: глубоководные Лабынкыр (максимальная глубина 60 м), Водораздельное (66 м) и мелководные Мямичи (3 м), Мертвое (6 м) и Улу (13 м), а также исток и устье реки Лабынкыр. Отбор проб, измерения физико-химических показателей (температура, электропроводность, pH, концентрации кислорода, фосфатов, нитритов, нитратов, аммония, органического углерода), пробоподготовку и выделение ДНК проводили методами, опубликованными ранее (Zakharova et al., 2022; Firsova et

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



al., 2024). Подготовка библиотеки ампликонов и секвенирование были проведены с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург. Амплифицирована вариабельная область V3-V4 гена 16S рРНК с парой праймеров U341F (5'-ССТАСGGGRSGCAGCAG-3') и U785R (5'-GGACTACCVGGGTATCTAAKCC-3'). Анализ данных секвенирования проводили в Usearch v.10. (Edgar, 2010), Vsearch v.2.9.1 (Rognes et al., 2016). Последовательности OTU были таксономически классифицированы с использованием Silva v.138 в Mothur v.1.43.0 (Schloss et al., 2009). Дальнейший статистический анализ проводили в R.

### 3. Результаты и обсуждение

Параметры окружающей среды в исследуемых водоемах были относительно сходными (Firsova et al., 2024). Все озера были на 100% покрыты снегом толщина которого варьировала от 31 до 51 см, а толщина льда была от 85 до 120 см. Наименьшие значения температуры воды зафиксированы в реке Лабынкыр (0.5 °C) и в озерах Лабынкыр и Водораздельное (1.3 °C), а наибольшие значения в озере Мямичи (4.6 °C). pH варьировал в пределах слабощелочных значений (7.26-7.76), значения электропроводности были в диапазоне 47-68  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , за исключением образцов из озера Мертвое (164  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Содержание биогенных элементов во всех пробах было стабильно низкое. Концентрации фосфатов были в пределах 0,004 – 0,024 мг/л, с максимумом в озере Водораздельное (0.168 мг/л). Так же наибольшие концентрации ионов аммония были в озере Мямичи (0.263 мг/л) и реке Лабынкыр (0.123 мг/л), максимум нитратов был в озере Мертвое (1.242 мг/л), нитриты не превышали 0.025 мг/л. Количество органического углерода в реке и озере Лабынкыр составляло 1.80-2.81 мг/л, при этом высокие значения определены в озерах Улу до 8.55 мг/л, Мямичи до 10.35 мг/л, Мертвое до 30.78 мг/л и Водораздельное до 187.5 мг/л (Firsova et al., 2024).

В результате секвенирования из 13 образцов воды было получено 225020 последовательностей фрагмента гена 16S рРНК сгруппированных от 163 до 318 OTUs. В целом, количество OTUs, значения индексов таксономического богатства (ACE) и разнообразия (Shannon) бактериальных сообществ в озерах Мертвое, Мямичи. Водораздельное и реке Лабынкыр (устье) были ниже чем в остальных образцах. Более высокие значения показаны в образцах озера Лабынкыр. Все OTUs были отнесены к 20 филумам, среди которых доминировали представители *Proteobacteria* (34%) и *Actinobacteriota* (29%), при этом субдоминантами являлись *Cyanobacteria* (10%), *Verrucomicrobiota* (9%), *Bacteroidota* (8%) и *Planctomycetota* (4%). Наши данные (Bashenkhaeva et al., 2020, Zakharova et al., 2022) и другие исследования (Tran et al., 2018) также указывали на обилие этих таксонов в экосистемах, покрытых льдом. Доминирующие филумы были представ-

лены относительно в равных долях во всех исследуемых водоемах, за исключением сообщества из устья реки Лабынкыр, в котором не обнаружены *Planctomycetota* и *Cyanobacteria*. При этом представители минорных филумов *Firmicutes* (2%), *Chloroflexi* (1%), *Deinococcota* (0.8%) были наиболее обильны в озерах Водораздельное, Улу, Мертвое и реке Лабынкыр (исток), *Acidobacteriota* (0.8%) в озере Мямичи. Анализ разнообразия выявил разное обилие некоторых OTUs в сообществах исследуемых водоемов. Например, в озере Мямичи преобладали OTUs *Ilumatobacteraceae*, *Sporichthyaceae*, SAR11\_clade, *Methylobacter*; в озере Водораздельное – *Methylacidiphilaceae*, *Cyanobium\_PCC-6307*, *Paenisporosarcina*; в озере Улу – *Terrimicrobium*, SAR11\_clade, *Gemmataceae*; в озере Мертвое – *Polynucleobacter*, *Ilumatobacteraceae*; в озере и реке (исток) Лабынкыр – *Acinetobacter*, *Cyanobium\_PCC-6307*, в устье реки Лабынкыр – *Methylobacter*, *Methylobacterium-Methylorubrum*. Сравнение бета разнообразия показало разделение сообществ на две группы: в первую группу вошли глубокие озера Лабынкыр, Водораздельное, Улу, а также исток реки Лабынкыр. Во второй группе были сходны сообщества мелководных озер Мямичи, Мертвое и устья реки Лабынкыр. Показана корреляция строения бактериальных сообществ с толщиной снега и концентрацией ионов аммония.

### 4. Выводы

В озерах, длительно покрытых льдом происходит активное развитие микробных сообществ и изменение их видового состава в зависимости от условий окружающей среды. Расширяя знания о покрытых льдом водоемах Якутии, мы охарактеризовали разнообразие микробных сообществ, важное для понимания их экологической функции, учитывая, что исследуемый район свободен от антропогенного влияния. Несмотря на суровые условия окружающей среды, мы обнаружили высокое разнообразие и различия богатства структуры сообществ в исследуемых водоемах.

### Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке проектов № 121032300186-9 (Лимнологический институт СО РАН) и № 121012190038-0 (Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН) Авторы выражают благодарность за помощь в отборе проб Долженкову А.А., Губину А.С., Ильичеву А.В., Махлину М.В., Звереву С.В., Асанову Р.Я., Сивцеву С.Ф.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



## Список литературы

- Bashenkhaeva M.V., Galachyants Y.P., Khanaev I.V. et al. 2020. Comparative analysis of free-living and particle-associated bacterial communities of Lake Baikal during the ice-covered period. *Journal Great Lakes Reserch* 46: 508-518. DOI: [10.1016/j.jglr.2020.03.015](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2020.03.015)
- Bertilsson S., Burgin A., Carey C.C. et al. 2013. The under-ice microbiome of seasonally frozen lakes. *Limnology Oceanography* 58: 1998–2012. DOI: [10.4319/lo.2013.58.6.1998](https://doi.org/10.4319/lo.2013.58.6.1998)
- Edgar R.C. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26: 2460-2461. DOI: [10.1093/bioinformatics/btq461](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461)
- Hampton S.E., Galloway A.W.E., Powers S.M. et al. 2017. Ecology under lake ice. *Ecology Letters* 20: 98–101. DOI: [10.1111/ele.12699](https://doi.org/10.1111/ele.12699)
- Firsova A., Bessudova A., Galachyants Yu. et al. 2024. Under-ice phytoplankton features of subarctic oligotrophic lakes of northeastern Yakutia. *Polar Biology* (in Press)
- Salonen K., Leppä M., Viljanen R.M. et al. 2009. Perspectives in winter limnology: closing the annual cycle of freezing lakes. *Aquatic Ecology* 43: 609–616. DOI: [10.1007/s10452-009-9278-z](https://doi.org/10.1007/s10452-009-9278-z)
- Rognes T., Flouri T., Nichols B. et al. 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *Peer J* 4:e2584. DOI: [10.7717/peerj.2584](https://doi.org/10.7717/peerj.2584)doi:[10.7717/peerj.2584](https://doi.org/10.7717/peerj.2584)
- Schloss P.D., Westcott S.L., Ryabin T. et al. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied Environmental Microbiology* 75 (23): 7537–7541. DOI: [10.1128/AEM.01541-09](https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09)
- Tran P., Ramachandran A., Khawasik O. et al. 2018. Microbial life under ice: metagenome diversity and in situ activity of *Verrucomicrobia* in seasonally ice-covered lakes. *Environmental Microbiology* 20: 2568–2584. DOI: [10.1111/1462-2920.14283](https://doi.org/10.1111/1462-2920.14283)
- Wilhelm S.W., LeCleir G.R., Bullerjahn G.S. et al. 2014. Seasonal changes in microbial community structure and activity imply winter production is linked to summer hypoxia in a large lake. *FEMS Microbiology Ecology* 87: 475–485. DOI: [10.1111/1574-6941.12238](https://doi.org/10.1111/1574-6941.12238)
- Zakharova Y., Bashenkhaeva M., Galachyants Y. et al. 2022. Variability of microbial communities in two long-term ice-covered freshwater lakes in the subarctic region of Yakutia, Russia. *Microbial Ecology* 84: 958–973. DOI: [10.1007/s00248-021-01912-7](https://doi.org/10.1007/s00248-021-01912-7)