

Comparative characterization of anaerobic oil oxidation processes by microbial communities of sediments from natural oil seeps in Lake Baikal (Gorevoy Utes, Bolshaya Zelenovskaya)

Pavlova O.N.*, Izosimova O.N., Chernitsyna S.M., Bukin S.V., Ivanov V.G., Khabuyev A.V., Pogodaeva T.V., Smirnova D.K., Gorshkov A.G., Zemskaya T.I.

Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

ABSTRACT. The comparative characterization of oil biodegradation processes under anaerobic conditions during the cultivation of microbial communities of sediments from two sites of oil seeps is given. The microbial community of sediments from the Bolshaya Zelenovskaya River oil seep, functioning under the conditions of long-term exposure to hydrocarbons, is focused more on the processes of anaerobic oxidation of oil in comparison with the microbial communities of sediments from the oil seep located near Cape Gorevoy Utes. This is evidenced by the high level of hydrocarbon biodegradation in both surface and deep sediments, regardless of the electron acceptors present in the medium. Oil degradation in enrichment cultures was accompanied by the formation of hydrocarbon gases (methane and ethane). The highest concentration of methane formed was found in the experiment with sediments from Cape Gorevoy Utes. Ethane generation, on the contrary, was more typical of the cultivation of communities from sediments of the Bolshaya Zelenovskaya River. Microbial communities functioning under anaerobic conditions in sediments at the sites of oil seeps are no less important in the processes of self-purification of the lake from oil “pollution” than aerobic microbial communities of the water column and surface sediments.

Keywords: anaerobic oxidation of oil, Lake Baikal, sediments, microbial community

For citation: Pavlova O.N., Izosimova O.N., Chernitsyna S.M., Bukin S.V., Ivanov V.G., Khabuyev A.V., Pogodaeva T.V., Smirnova D.K., Gorshkov A.G., Zemskaya T.I. Comparative characterization of anaerobic oil oxidation processes by microbial communities of sediments from natural oil seeps in Lake Baikal (Gorevoy Utes, Bolshaya Zelenovskaya) // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 1035-1049. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1035

1. Introduction

Lake Baikal, located in the southern part of Eastern Siberia, is the largest natural freshwater reservoir and is of tectonic origin. It is known as one of the three freshwater lakes in the world, in line with the rifted deep-water Lake Tanganyika and shallow-water Lake Chapala, which are also characterized by natural oil seeps (Simoneit et al., 2000; Zárate-del Valle et al., 2006). Nowadays, there are two areas of natural oil seepages in Lake Baikal: one of them is located near the mouth of the Bolshaya Zelenovskaya River (BZ) and has been known since the XVIII century; the other is located near Cape Gorevoy Utes (GU) (discovered in 2005) (Kontorovich et al., 2007; Khlystov et al., 2007) (Fig. 1).

Despite the constant oil emission (up to 4 t/year), low temperatures, and a long period of complete replacement of Lake Baikal waters by inflows (about 400 years) (Weiss et al., 1991), oil seepages are localized in restricted sites. The area of lake surface showing oil slicks near Cape Gorevoy Utes has not changed over the period 2005 to present and is approximately 1 km². The permanence of the area of oil “pollution” indicates the mechanisms of self-purification of the lake ecosystem, the main contribution to which is made by aerobic hydrocarbon-oxidizing microorganisms (Pavlova et al., 2008; Pavlova et al., 2012; Pavlova et al., 2020; Gorshkov et al., 2020). It is obvious that aerobic processes of oil hydrocarbon oxidation are dominant in the oxygenated water column and in the surface sediments with high O₂ content.

*Corresponding author.

E-mail address: pavlova@lin.irk.ru (O.N. Pavlova)

Received: July 08, 2024; **Accepted:** July 29, 2024;

Available online: August 30, 2024

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



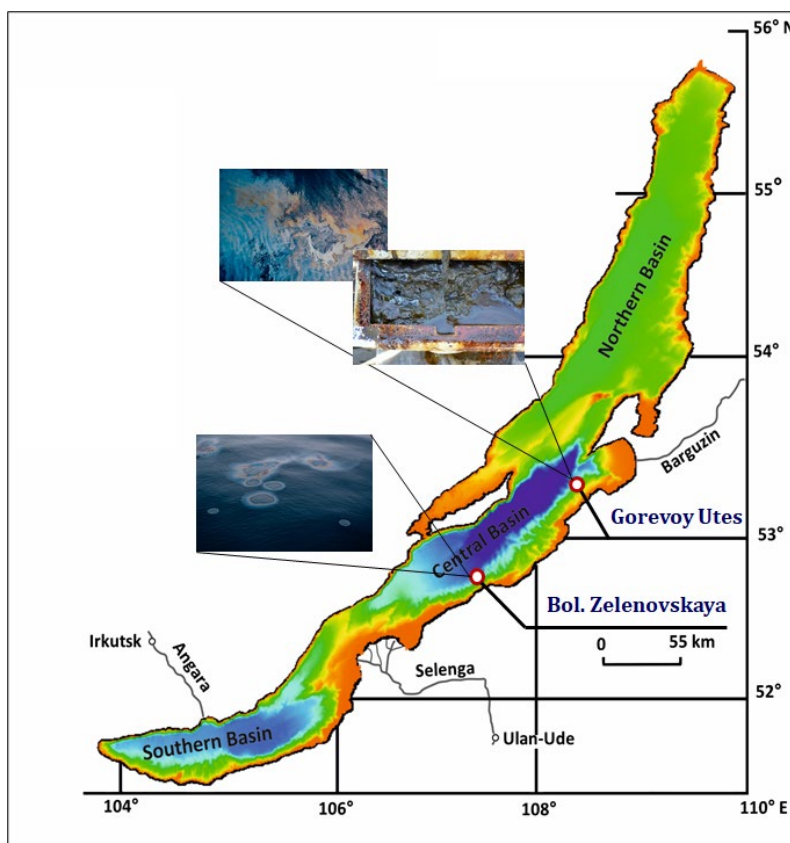


Fig.1. Map-scheme of the location of the oil seeps in Lake Baikal

On the other hand, if the oil remains in sediments for a long time, anaerobic processes of hydrocarbon biodegradation may occur, resulting in the appearance of deeply biodegraded oil on the water surface (as observed in the area of the Bolshaya Zelenovskaya River). These processes may be common or different in the two areas of oil seepages in Lake Baikal, as the areas differ in the time of functioning, thermobaric conditions, geological structure, and oil composition at the present stage (Khlystov et al., 2022).

2. Materials and methods

Two gravity cores of sediment were collected for the study: from the hydrocarbon discharge zone near Cape Gorevoy Utes (10 km from the shore, depth of the water column is 890 m), St. 5, GC. 3, and at the mouth of the Bolshaya Zelenovskaya River (1.4 km from the shore, depth of the water column is 320 m), St. 4, GC. 6. Two samples were taken from each core (Table). Without oxygen, oil hydrocarbons can be oxidized by microorganisms using electron acceptors, and Fe^{3+} (Zhang et al., 2019). To obtain enrichment cultures, samples of sediments were aseptically collected from the central part of the core and immediately placed in 116-mL flasks containing 50 mL of sterile anaerobic mineral medium, oil, and various electron acceptors. Oil conversion was assessed by the loss of *n*-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) after one year of cultivation compared to control samples not containing sediments (Pavlova et al., 2022; Pavlova et al., 2024).

3. Results and discussion

As a result of these studies, the conversion of *n*-alkanes and PAH was found to be more efficient in the experiment with sediments sampled at the site of the BZ oil seep than at the GU oil-methane seep. In the experiment of the GU sediments, the decrease in *n*-alkanes was either insignificant or their concentration decreased by 1.2-fold, while the concentration of polycyclic hydrocarbons decreased by 1.1-1.4-fold (Pavlova et al., 2022). While in the experiment of the BZ sediments, the concentration of *n*-alkanes decreased 1.2-2 times, and PAH by 2.2-2.8 times (Pavlova et al., 2024).

The presence of different electron acceptors had an effect on *n*-alkanes degradation processes occurring only in enriched cultures containing surface sediments and was less significant for processes occurring in cultures containing deep sediments. Both *n*-alkanes and PAH are degraded in surface sediments, while in deep sediments mainly polycyclic aromatic hydrocarbons were biodegraded. The addition of electron acceptors had little or no effect on the reduction of PAH in the experiment with both GU and BZ sediments.

The results of the experiments correlate with geochemical data on the composition of organic matter and selected biomarker compounds in sediments from the two oil seepage. Sediments of GU are enriched in organic matter, which is biodegraded to a different extent than that of BZ, depending on the depth of occurrence. Group composition of bitumoids and increase in productivity index indicate that oil saturation of the GU sediments is continuously in progress. Moreover, the presence of naphthenic hump, high level of *n*-al-

Table. Legend keys of enrichment cultures obtained and cultivation conditions

Sampling site	Sediment sampling depth, cm /legend	Electron acceptor				Reference
		H ₂ :CO ₂			Fe ³⁺	
Gorevoy Utes (GU)	St. 5, GC. 3, 10–30 / (GUI)	GUI_HCO ₃	GUII_HCO ₃			Pavlova et al., 2022
	St. 5, GC. 3, 100–120 / (GUII)	GUI_SO ₄	GUII_SO ₄			
Bolshaya Zelenovskaya (BZ)	St. 4, GC. 6, 30–50 cm / K1_BZ	K1_HCO ₃	K1_SO ₄	K1_NO ₃	K1_Fe	Pavlova et al., 2024
	St. 4, GC. 6, 250–270 cm / K2_BZ	K2_HCO ₃	K2_SO ₄	K2_NO ₃	K2_Fe	

kanes maturity (CPI ≤ 2), decrease in PAH concentration, decrease in n-C₃₅-n-C₃₉ with depth in GU samples indicate that biodegradation processes are taking place (Morgunova et al., 2022). In the BZ sediments, the concentration of organic matter is much lower, n-alkanes and isoprenoids are absent, and bitumoids are dominated by asphaltic-resinous components (up to 94 %) (Khlystov et al., 2022; Kostyreva et al., 2022; Morgunova et al., 2022).

The oil content is also influenced by geological processes at two sites of oil seeps. As a result of oil fractionation in the upper layers of sediments and the formation of kerogenic structures on the lake bed in the GU area, a fraction enriched in n-alkanes (Khlystov et al., 2009; Gorshkov et al., 2020) enters the lake waters, which is very efficiently oxidized by microorganisms under aerobic conditions in the water column. A partial loss of low molecular weight alkanes as a result of oil fractionation and conservation of high molecular weight alkanes, as well as high concentrations of polycyclic hydrocarbons (terpanes, PAH), contribute to the development of a microbial community aimed at biodegradation of aromatic compounds under anaerobic conditions, as evidenced by a significant decrease in their concentration in the oil composition during the 18 years since the discovery of the oil seepage (Gorshkov et al., 2020).

In the longer existing BZ area, oil has a long pathway from its source of generation and accumulates for long periods in sediments, where active anaerobic biodegradation of both n-alkanes and PAH takes place. The long distance travelled by the oil from the source and its long-term accumulation in sediment layers is evidenced by the perylene content in the bitumen (a stable end product of organic matter transformations in sediments), which is two orders of magnitude higher than in the oil sampled in the area of the GU oil seep (Khlystov et al., 2022).

Oil degradation was accompanied by the formation of hydrocarbon gases (methane and ethane). In the BZ and GU sediment experiments, the maximum concentration of methane formed was 2.4 mmol/L (54 mL/L) and 32.54 mmol/L (728 mL/L), respectively. The range of methane concentrations in sediments of Lake Baikal is from a few mcl/l to 20 ml/l (Zemskaya et al., 2008; Pogodaeva et al., 2017). Thus, the values of the concentration of methane formed during oil biodegradation under experimental conditions are highly significant, especially in the case of samples from the GU oil seep. In contrast, ethane generation was more characteristic in cultured communities from BZ sedi-

ments, where C₂H₆ concentration increased 2.3-7 times after one year of cultivation compared to the beginning of the experiment.

Analysis of the structure of microbial communities in the surface and deep sediments from the GU and BZ oil seeps revealed the dominance of representatives of nine phyla of the domain *Bacteria*: *Chloroflexota*, *Pseudomonadota*, *Actinomycetota*, *Nitrospirota*, *Acidobacteriota*, *Bacteroidota* and *Desulfobacterota*, *Atribacterota*, *Caldisericota* and five of the domain *Archaea*: *Thermoproteota*, *Halobacterota*, *Thermoplasmata*, *Nanoarchaeota*, and *Ca. Hadarchaeota*. Compared to sediments from methane seeps and mud volcanoes, the composition of the microbial communities is mostly similar at the phylum level and differs significantly at the family level (Zemskaya et al., 2024, in press).

The dominant phylum *Chloroflexota* was represented by the families *Anaerolineaceae* and the non-classified *Dehalococcoidia*; the share of families within the phylum varied with depth (Fig. 2). Microorganisms belonging to these families have been found in a wide range of anaerobic habitats, including sediments, hot springs, anaerobic reactors, and hydrocarbon-contaminated ecotopes, where they are capable of syntrophic oxidation of hydrocarbons (*Anaerolineaceae*) to form methane with the participation of methanogenic archaea, reductive dechlorination of chlorinated hydrocarbons, and organohalogen respiration (*Dehalococcoidia*) (Liang et al., 2015; Löffler et al., 2015).

The phylum *Actinomycetota* is mainly represented by OTU belonging to the families OPB₄₁ (*Coriobacteriia*), the chemoorganoheterotrophic *Gaiellaceae*, and WCHB1-81 (*Thermoleophilia*). Most of the phylotypes associated with OPB₄₁ were found in oil-bearing, sedimentary, and subsurface environments. Analysis of the metabolism of cultured representatives of OPB₄₁ showed that the microorganisms are anaerobic lithotrophs using thiosulphate, elemental sulphur, or Fe (III) as electron acceptors (Khomyakova et al., 2022). The phylum *Acidobacteriota* consisted mainly of representatives of the families *Aminicenantales* and *Vicinamibacteraceae* – chemoorganoheterotrophs fermenting carbohydrates and protein substrates under anaerobic and aerobic conditions, respectively (Kadnikov et al., 2019; Dedysh and Yilmaz, 2018). *Aminicenantales* have been shown to be most abundant in hydrocarbon-exposed environments, followed by marine habitats (especially hydrothermal vents) and freshwater habitats (Farag et al., 2014). The phylum *Bacteroidota* is represented by the family *Bacteroidetes_vadinHA17*, proteolytic bacteria that ferment carbohydrates to form volatile fatty

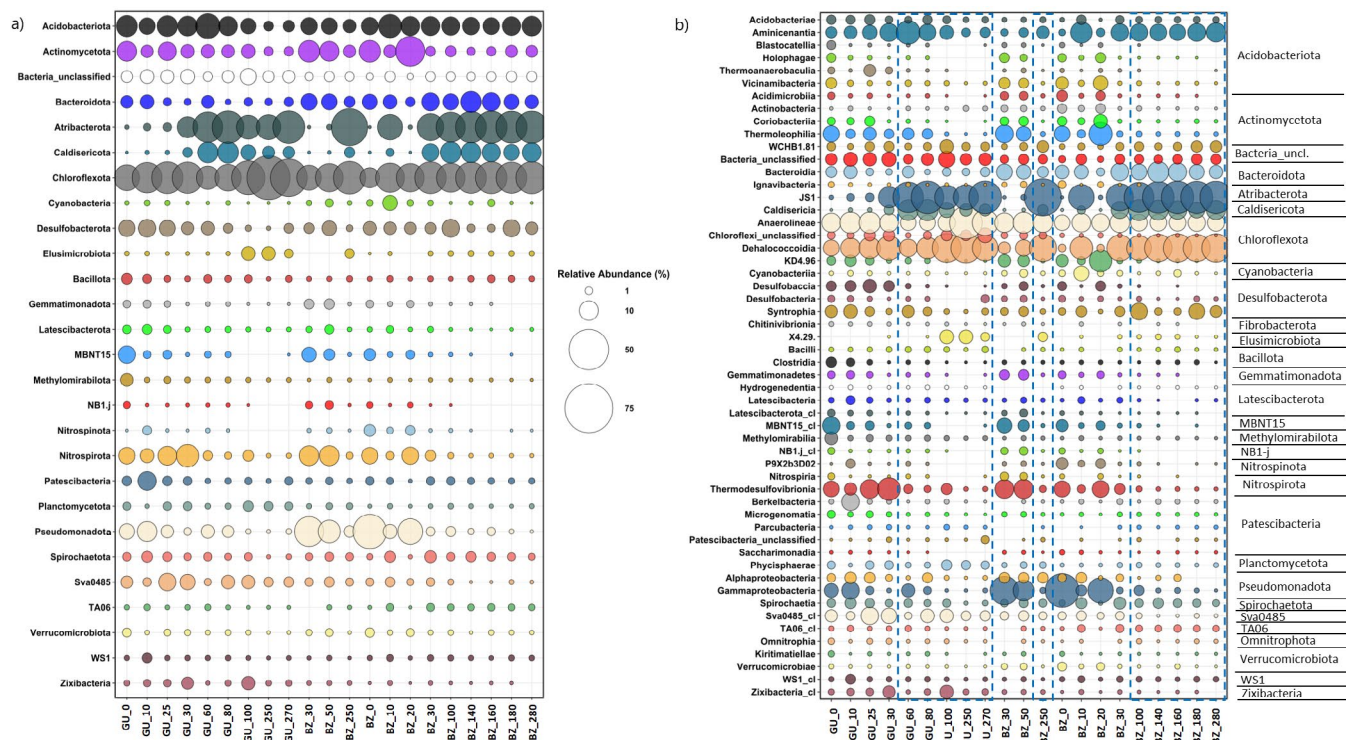


Fig. 2. The relative share of Bacteria 16S rRNA gene fragment sequences represented at the phylum (a) and family (b) levels in libraries from sediments of the GU and BZ oil seeps. Listed taxa representing > 1% in at least one of the libraries

acids (Kampmann et al., 2012). OTU related to the phylum *Desulfobacterota* belonged to anaerobic bacteria oxidizing short-chain fatty acids (*Syntrophaceae*, *Smithellaceae*) or acetate (*Desulfobaccaceae*) in syntrophic interaction with methanogenic archaea (Galushko and Kuever, 2019).

The representatives of the phylum *Nitrospirota*, *Pseudomonadota*, *Patescibacteria*, MBNT15, and *Verrucomicrobiota* were mainly revealed in the surface sediments and are characterized as chemoorganoheterotrophs oxidizing peptides, amino acids, fatty acids and simple sugars by aerobic and anaerobic respiration.

At the same time, *Atribacterota* and *Caldisericota* were revealed in deep sediments. Representatives of *Atribacterota* are most commonly found in geothermal systems, oil reservoirs, anaerobic marine sediments and methane seeps (Mori et al., 2009; Carr et al., 2015; Nobu et al., 2016). Metabolic reconstructions of *Atribacterota* genomes have now shown that bacteria can not only ferment carbohydrates via glycolysis to produce hydrogen, acetate and ethanol, but can also ferment short-chain *n*-alkanes to fatty acids, which are then consumed by secondary degraders. The oxidation of *n*-alkanes is controlled by a complete set of genes that mediate the attachment of fumarate to hydrocarbons (FAE, fumarate-adding enzymes) (Liu et al., 2019). Thermophilic obligate anaerobic heterotrophs that reduce sulphur compounds and belong to the phylum *Caldisericota* were also among the dominant taxa in the deep sediments. Sequences belonging to this phylum are currently being identified in hydrothermal systems, hydrocarbon contaminated aquifers, soda lakes, bioreactors, etc. (Mori et al., 2009). Phylogenetic analysis based on the comparison of the concatenated amino acid sequences of 120 conserved proteins

showed that the *Caldisericota* phylum, together with *Coprothermobacterota*, *Dictyoglomota*, *Thermotogota*, and *Thermodesulfobiota*, forms an ancient clade whose ancestor may have been a thermophilic, strictly anaerobic, motile, hydrogen-dependent, mixotrophic bacterium similar in metabolism to the last universal common ancestor (LUCA) (Leng et al., 2023). Also in deep sediments, sequences of representatives of the phylum *Zixibacteria* and *Elusimicrobiota*, which usually account for less than 1% of microbial communities and are representatives of the “rare biosphere” or “microbial dark matter”, were found in significant amounts (up to 4.7%) (Pascoal et al., 2021). Based on the reconstruction of the genomes of these bacteria, it is shown that they possess enzymatic metabolism, and magnetotaxis are involved in iron and sulphur cycling (Castelle et al., 2013; Uzun et al., 2023).

The *Archaea* domain in the oil seeps sediments was represented by the same dominant taxa at the phylum level as in the mud volcano sediments, only the share of microorganisms from different systematic groups varied (Zemskaya et al., 2024). This pattern was established earlier, when studying microbial diversity in sediments of Lake Baikal associated with oil and gas discharge (Zemskaya et al., 2015). The *Thermoproteota* phylum was abundant in sediments in the zone of oil seepages (Fig. 3). The dominant OTU belonged to the *Bathyarchaeia* (up to 60% of all sequences) and to the unclassified *Crenarchaeota*. Based on metabolic reconstructions of *Bathyarchaeia* genomes, it has now been shown that microorganisms can not only ferment carbohydrates, but also oxidize short-chain *n*-alkanes and aromatic compounds to fatty acids, which are then consumed by secondary degraders (Zhou et al., 2018; Dong et al., 2019; Liu et al., 2019; Zhang et al., 2021).

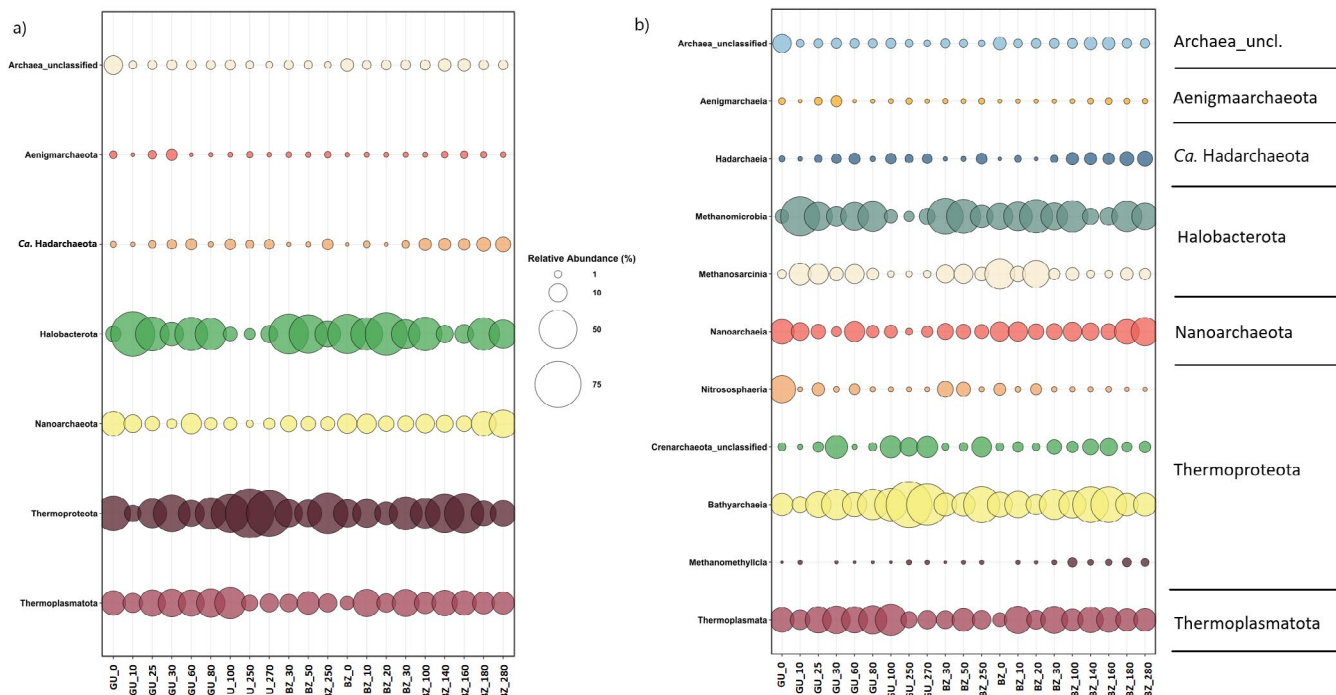


Fig. 3. The relative share of Archaea 16S rRNA gene fragment sequences represented at the phylum (a) and class (b) levels in libraries from sediments of the GU and BZ oil seeps. Taxa representing > 1% in at least one of the libraries are listed

The *Halobacterota* phylum is represented by families of hydrogenotrophic archaea (*Methanomicrobiaceae*, *Methanoregulaceae*, *Methanoperedenaceae*, and *Methanosaetaceae*). Aerobic archaea of the family *Nitrosopumilaceae* have been identified in the surface and subsurface sediments, carrying out chemolithoautotrophic growth through ammonia oxidation and CO₂-fixation (Qin et al., 2016). The phylum *Nanoarchaeota* consisted mainly of OTU belonging to the families GW2011_GWC1_47_15 and Woesearchaeales fa, archaea identified in a wide range of habitats, including oil reservoirs and sulphur springs. They are part of a consortium with bacteria where bacteria are involved in carbon cycling and archaea are involved in nitrogen fixation, denitrification and sulphate reduction under anaerobic conditions (Liu et al., 2021; Köhler et al., 2023). The myxotrophic *Thermoplasmatota* were represented by Marine Benthic Group D and DHVEG-1 fa, and the unidentified *Thermoplasmata*.

Only in their deep sediment samples were revealed sequences assigned to thermophilic *Ca. Hadarchaeota*. Archaea were first discovered in a gold mine in South Africa at a depth of about 3 km. They were also found in methane cold seep sediments containing gas hydrates (Takai et al., 2001; Mara et al., 2023). According to the genome reconstructions of *Ca. Hadarchaeota* has genes related to carbon fixation via the Wood-Ljungdahl pathway, methanogenesis and alkane metabolism (Hua et al., 2019; Baker et al., 2016; Wang et al., 2019).

Thus, metabarcoding studies of sediments from oil seeps (BZ and GU) revealed a complex composition of microbial communities consisting of bacteria and archaea specialized in the degradation processes of a wide range of substrates (organic carbon and oil hydrocarbons), as well as the presence in microorganisms of genes encoding the synthesis of enzymes for the aer-

obic degradation of hydrocarbons and biosurfactants (Pavlova et al., 2010; Lomakina et al., 2014; Likhoshway et al., 2014). The microbial community of sediments of the GU is mostly represented by sequences of microorganisms found in thermal springs of Yellowstone Park, sediments of mud volcanoes, and hydrocarbon-contaminated environments geographically very distant from Lake Baikal, as well as sequences of representatives of the “rare biosphere” – *Elusimicrobiota*, *Zixibacteria*, and *Ca. Hadarchaeota*. Representatives of these taxa are also found in the deep sediments of the BZ, but in smaller amounts. The main difference in the taxonomic composition of the microbial communities was observed between the subsurface and deep sediments (Pavlova et al., 2022; Pavlova et al., 2024).

4. Conclusions

The microbial community of sediments of the Bolshaya Zelenovskaya oil seep, functioning under conditions of long-term exposure to hydrocarbons, is more focused on the processes of anaerobic oxidation of oil in comparison with the microbial communities of sediments of the oil seep located near Cape Gorevoy Utes. This is demonstrated by the high level of biodegradation of PAH in both surface and deep sediments, regardless of the electron acceptors present in the medium. And *n*-alkanes, the degradation rate of which was higher in enrichment cultures with BZ sediments than with GU.

Microbial communities functioning under anaerobic conditions in sediments in areas of oil seepages are no less important link in the processes of self-purification of the lake from oil “pollution”. This is evidenced by the high hydrocarbon-oxidizing capacity of microorganisms, which carry out anaerobic biodegradation of oil components (up to 65%) in the low-tem-

perature conditions of Lake Baikal. As in other oil reservoirs, hydrocarbon conversion is accompanied by the formation of hydrocarbon gases (methane and ethane). Bacteria (*Bacillota*, *Gammaproteobacteria*, *Chloroflexota*, *Actinomyceota*, *Desulfobacterota*) and archaea (*Halobacteriota*, *Bathyarchaeia*), which oxidize syntrophically oil hydrocarbons, may be the key participants in the anaerobic degradation of oil hydrocarbons in sediments of Lake Baikal.

Acknowledgements

The study is carried out within the State Assignment No. 0279-2021-0006 (121032300223-1). Studies of *n*-alkanes and PAH decrease under experimental conditions were carried out on the basis of the instrumental center of collective use of physical and chemical ultramicroanalysis of LIN SB RAS. The sequencing of the amplicon libraries was carried out at the Core Centrum “Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology” in ARRIAM. All resource-intensive operations were carried out using the Akademik V.M. Matrosov high-productivity sector, of the Irkutsk Supercomputer Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

Baker B.J., Saw J.H., Lind A.E. et al. 2016. Genomic inference of the metabolism of cosmopolitan subsurface Archaea, Hadesarchaea. *Nature Microbiology* 1: 16002. DOI: [10.1038/nmicrobiol.2016.2](https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.2)

Carr S.A., Orcutt B.N., Mandernack K.W. et al. 2015. Abundant Atribacteria in deep marine sediment from the Adélie Basin, Antarctica. *Frontiers in microbiology* 6: 872. DOI: [10.3389/fmicb.2015.00872](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00872)

Castelle C.J., Hug L.A., Wrighton K.C. et al. 2013. Extraordinary phylogenetic diversity and metabolic versatility in aquifer sediment. *Nature Communications* 4:1 DOI: [10.1038/ncomms3120](https://doi.org/10.1038/ncomms3120)

Dedysh S.N., Yilmaz P. 2018. Refining the taxonomic structure of the phylum *Acidobacteria*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 68(12): 3796–3806. DOI: [10.1099/ijsem.0.003062](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003062)

Dong X., Greening C., Rattray J.E. et al. 2019. Metabolic potential of uncultured bacteria and archaea associated with petroleum seepage in deep-sea sediments. *Nature Communications* 10(1): 1816. DOI: [10.1038/s41467-019-09747-0](https://doi.org/10.1038/s41467-019-09747-0)

Farag I.F., Davis J.P., Youssef N.H. et al. 2014. Global patterns of abundance, diversity and community structure of the *Aminicenantes* (Candidate Phylum OP8). *PLoS ONE* 9(3): e92139. DOI: [10.1371/journal.pone.0092139](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092139)

Galushko A., Kuever J. 2019. *Desulfobacca*. In: Trujillo M.E., Dedysh S., DeVos P., Hedlund B., Kämpfer P., Rainey F.A., Whitman W.B. (Eds.). *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. DOI: [10.1002/9781118960608.gbm01061.pub2](https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01061.pub2)

Gorshkov A., Pavlova O., Khlystov O. et al. 2020. Fractioning of petroleum hydrocarbons from seeped oil as a

factor of purity preservation of water in Lake Baikal (Russia). *Journal of Great Lakes Research* 46(1): 115–122. DOI: [10.1016/j.jglr.2019.10.010](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.10.010)

Hua Z.-S., Wang Y.-L., Evans P.N. et al. 2019. Insights into the ecological roles and evolution of methyl-coenzyme M reductase-containing hot spring *Archaea*. *Nature Communications* 10(1). DOI: [10.1038/s41467-019-12574-y](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12574-y)

Kadnikov V.V., Mardanov A.V., Beletsky A.V. et al. 2019. Genome of the candidate phylum *Aminicenantes* bacterium from a deep subsurface thermal aquifer revealed its fermentative saccharolytic lifestyle. *Extremophiles* 23(2): 189–200. DOI: [10.1007/s00792-018-01073-5](https://doi.org/10.1007/s00792-018-01073-5)

Kampmann K., Ratering S., Kramer I. et al. 2012. Unexpected stability of *Bacteroidetes* and *Firmicutes* communities in laboratory biogas reactors fed with different defined substrates. *Applied and Environmental Microbiology* 78(7): 2106–2119. DOI: [10.1128/aem.06394-11](https://doi.org/10.1128/aem.06394-11)

Khlystov O.M., Gorshkov A.G., Egorov A.V. et al. 2007. Oil in the Lake of world heritage. *Doklady Earth Sciences* 415: 682–685. DOI: [10.1134/S1028334X07050042](https://doi.org/10.1134/S1028334X07050042) (In Russian)

Khlystov O.M., Zemskaya T.I., Sitnikova T.Ya. et al. 2009. Bottom bituminous constructions and biota inhabiting them according to investigation of Lake Baikal with the Mir submersible. *Doklady Earth Sciences* 429(1): 1333–1336. DOI: [10.1134/S1028334X09080200](https://doi.org/10.1134/S1028334X09080200) (In Russian)

Khlystov O.M., Izosimova O.N., Hachikubo A. et al. 2022. A new oil and gas seep in Lake Baikal. *Petroleum Chemistry* 62: 475–481. DOI: [10.1134/S096554412205005X](https://doi.org/10.1134/S096554412205005X) (In Russian)

Khomyakova M.A., Zavarzina D.G., Merkel A.Y. et al. 2022. The first cultivated representatives of the actinobacterial lineage OPB41 isolated from subsurface environments constitute a novel order *Anaerosomatales*. *Frontiers in Microbiology* 13. DOI: [10.3389/fmicb.2022.1047580](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1047580)

Köhler J.M., Ehrhardt L., Günther P.M. 2023. Archaeal and extremophilic bacteria from different archaeological excavation sites. *International Journal of Molecular Sciences* 24(6): 5519. DOI: [10.3390/ijms24065519](https://doi.org/10.3390/ijms24065519)

Kontorovich A.E., Kashirtsev V.A., Moskvina V.I. et al. 2007. Petroleum potential of Baikal deposits. *Russian Geology and Geophysics* 48(12): 1046–1053. DOI: [10.1016/j.rgg.2007.11.004](https://doi.org/10.1016/j.rgg.2007.11.004) (In Russian)

Kostyreva E.A., Kashircev V.A., Pavlova O.N. et al. 2022. Chloroform extracts of bottom sediments in the region Central Baikal. *InterExpoGeoSiberia* 2(1): 200–203. (In Russian)

Leng H., Wang Y., Zhao W. et al. 2023. Identification of a deep-branching thermophilic clade sheds light on early bacterial evolution. *Nature Communications* 14(1) DOI: [10.1038/s41467-023-39960-x](https://doi.org/10.1038/s41467-023-39960-x)

Liang B., Wang L.-Y., Mbadinga S.M. et al. 2015. *Anaerolineaceae* and *Methanosaeta* turned to be the dominant microorganisms in alkanes-dependent methanogenic culture after long-term of incubation. *AMB Express* 5(1). DOI: [10.1186/s13568-015-0117-4](https://doi.org/10.1186/s13568-015-0117-4)

Likhoshvay A., Lomakina A., Grachev M. 2014. The complete *alk* sequences of *Rhodococcus erythropolis* from Lake Baikal. *SpringerPlus* 3(1). DOI: [10.1186/2193-1801-3-621](https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-621)

Liu Y.-F., Qi Z.-Z., Shou L.-B. et al. 2019. Anaerobic hydrocarbon degradation in candidate phylum ‘Atribacteria’ (JS1) inferred from genomics. *The ISME Journal* 13(9): 2377–2390. DOI: [10.1038/s41396-019-0448-2](https://doi.org/10.1038/s41396-019-0448-2)

Liu X., Wang Y., Gu J.-D. 2021. Ecological distribution and potential roles of *Woesearchaeota* in anaerobic biogeochemical cycling unveiled by genomic analysis. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 19: 794–800. DOI: [10.1016/j.csbj.2021.01.013](https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.01.013)

Löffler F.E., Yan J., Ritalahti K.M. et al. 2015. *Dehalococcoides mccartyi* gen. nov., sp. nov., obligately organohalide-respiring anaerobic bacteria relevant to halo-

gen cycling and bioremediation, belong to a novel bacterial class, *Dehalococcoidia* classis nov., order *Dehalococcoidales* ord. nov. and family *Dehalococcoidaceae* fam. nov., within the phylum *Chloroflexi*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65(Pt_6): 2015–2015. DOI: [10.1099/ijs.0.000308](https://doi.org/10.1099/ijs.0.000308)

Lomakina A.V., Pogodaeva T.V., Morozov I.V. et al. 2014. Microbial communities of the discharge zone of oil- and gas-bearing fluids in low-mineral Lake Baikal. *Microbiology* 83(3): 278–287. DOI: [10.1134/S0026261714030126](https://doi.org/10.1134/S0026261714030126) (In Russian)

Mara P., Geller-McGrath D., Edgcomb V. et al. 2023. Metagenomic profiles of archaea and bacteria within thermal and geochemical gradients of the Guaymas Basin deep subsurface. *Nature Communication* 14: 7768. DOI: [10.1038/s41467-023-43296-x](https://doi.org/10.1038/s41467-023-43296-x)

Morgunova I., Semenov P., Kursheva A. et al. 2022. Molecular indicators of sources and biodegradation of organic matter in sediments of fluid discharge zones of Lake Baikal. *Geosciences* 12(2): 72. DOI: [10.3390/geosciences12020072](https://doi.org/10.3390/geosciences12020072)

Mori K., Yamaguchi K., Sakiyama Y. et al. 2009. *Caldisericum exile* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, thermophilic, filamentous bacterium of a novel bacterial phylum, *Caldiserica* phyl. nov., originally called the candidate phylum OP5, and description of *Caldiseriaceae* fam. nov., *Caldisericales* ord. nov. and *Caldisericia* classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59(11): 2894–2898. DOI: [10.1099/ijs.0.010033-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.010033-0)

Nobu M.K., Dodsworth J.A., Murugapiran S.K. et al. 2016. Phylogeny and physiology of candidate phylum “Atribacteria” (OP9/JS1) inferred from cultivation-independent genomics. *The ISME Journal* 10(2): 273–286. DOI: [10.1038/ismej.2015.97](https://doi.org/10.1038/ismej.2015.97)

Pascoal F., Costa R., Magalhães C. 2021. The microbial rare biosphere: current concepts, methods and ecological principles. *FEMS Microbiology Ecology* 97(1). DOI: [10.1093/femsec/fiaa227](https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa227)

Pavlova O.N., Zemskaya T.I., Gorshkov A.G. et al. 2008. Comparative characterization of microbial communities in two regions of natural oil seepage in Lake Baikal. *Biology Bulletin* 35: 287–293. DOI: [10.1134/S1062359008030096](https://doi.org/10.1134/S1062359008030096) (In Russian)

Pavlova O.N., Lomakina A.V., Likhoshvay A. et al. 2010. Microbial communities in areas of natural oil seeps on Lake Baikal. *Advances in Life Sciences* 2: 169–172. (In Russian)

Pavlova O.N., Lomakina A.V., Gorshkov A.G. et al. 2012. Microbial communities and their ability to oxidize n-alkanes in the area of release of gas- and oil-containing fluids in Mid-Baikal (Cape Gorevoi Utes). *Biology Bulletin* 39: 458–463. DOI: [10.1134/S1062359012050123](https://doi.org/10.1134/S1062359012050123) (In Russian)

Pavlova O.N., Izosimova O.N., Gorshkov A.G. et al. 2020. Current state of deep oil seepage near Cape Gorevoi Utes (Central Baikal). *Russian Geology and Geophysics* 61(9): 1007–1014. DOI: [10.15372/rgg2019180](https://doi.org/10.15372/rgg2019180)

Pavlova O.N., Izosimova O.N., Chernitsyna S.M. et al. 2022. Anaerobic oxidation of petroleum hydrocarbons in enrichment cultures from sediments of the Gorevoy Utes natural oil seep under methanogenic and sulfate-reducing conditions. *Microbial Ecology* 83: 899–915. DOI: [10.1007/s00248-021-01802-y](https://doi.org/10.1007/s00248-021-01802-y)

Pavlova O.N., Bukin S.V., Izosimova O.N. et al. 2024. Anaerobic oxidation of oil by microbial communities of bottom sediments of a natural oil seepage site (Bolshaya Zelenovskaya, Middle Baikal). *Microbiology* 93(5): 563–575.

Pogodaeva T.V., Lopatina I.N., Khlystov O.M. et al. 2017. Background composition of pore waters in Lake Baikal bottom sediments. *Journal of Great Lakes Research*. 43: 1030–1043. DOI: [10.1016/j.jglr.2017.09.003](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2017.09.003)

Qin W., Martens-Habbena W., Kobelt J.N. et al. 2016. *Candidatus Nitrosopumilaceae*. In: Trujillo M.E., Dedysch S., DeVos P., Hedlund B., Kämpfer P., Rainey F.A., Whitman W.B. (Eds.). *Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. DOI: [10.1002/9781118960608.fbm00262](https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00262)

Simoneit B.R.T., Aboul-Kassim T.A.T., Tiercelin J.J. 2000. Hydrothermal petroleum from lacustrine sedimentary organic matter in the East African Rift. *Applied Geochemistry* 15(3): 355–368. DOI: [10.1016/s0883-2927\(99\)00044-x](https://doi.org/10.1016/s0883-2927(99)00044-x)

Takai K., Moser D.P., DeFlaun M. et al. 2001. Archaeal diversity in waters from deep South African Gold Mines. *Applied and Environmental Microbiology* 67(12): 5750–5760. DOI: [10.1128/aem.67.21.5750-5760.2001](https://doi.org/10.1128/aem.67.21.5750-5760.2001)

Uzun M., Koziyeva V., Dziuba M. et al. 2023. Recovery and genome reconstruction of novel magnetotactic *Elusimicrobiota* from bog soil. *The ISME Journal* 17(2): 204–214. DOI: [10.1038/s41396-022-01339-z](https://doi.org/10.1038/s41396-022-01339-z)

Wang Y., Wegener G., Hou J. et al. 2019. Expanding anaerobic alkane metabolism in the domain of Archaea. *Nature Microbiology* 4(4): 595–602. DOI: [10.1038/s41564-019-0364-2](https://doi.org/10.1038/s41564-019-0364-2)

Weiss R.F., Carmack E.C., Koropalov V.M. 1991. Deep-water renewal and biological production in Lake Baikal. *Nature* 349(6311): 665–669. DOI: [10.1038/349665a0](https://doi.org/10.1038/349665a0)

Zárate-del Valle P.F., Rushdi A.I., Simoneit B.R.T. 2006. Hydrothermal petroleum of Lake Chapala, Citala Rift, western Mexico: Bitumen compositions from source sediments and application of hydrous pyrolysis. *Applied Geochemistry* 21(4): 701–712. DOI: [10.1016/j.apgeochem.2006.01.002](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.01.002)

Zemskaya T., Lomakina A., Mamaeva E. et al. 2015. Bacterial communities in sediments of Lake Baikal from areas with oil and gas discharge. *Aquatic Microbial Ecology* 76(2): 95–109. DOI: [10.3354/ame01773](https://doi.org/10.3354/ame01773)

Zhang K., Hu Z., Zeng F.F. et al. 2019. Biodegradation of petroleum hydrocarbons and changes in microbial community structure in sediment under nitrate-, ferric-, sulfate-reducing and methanogenic conditions. *Journal of Environmental Management* 249: 109425. DOI: [10.1016/j.jenvman.2019.109425](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109425)

Zhang C., Meckenstock R.U., Weng S. et al. 2021. Marine sediments harbor diverse archaea and bacteria with potentials for anaerobic hydrocarbon degradation via fumarate addition. *FEMS Microbiology Ecology* 97(5) DOI: [10.1093/femsec/fiab045](https://doi.org/10.1093/femsec/fiab045)

Zhou Z., Pan J., Wang F. et al. 2018. *Bathyarchaeota*: globally distributed metabolic generalists in anoxic environments. *FEMS Microbiology Reviews* 42(5): 639–655. DOI: [10.1093/femsre/fuy023](https://doi.org/10.1093/femsre/fuy023)

Сравнительная характеристика процессов анаэробного окисления нефти микробными сообществами донных осадков районов естественных нефтепроявлений оз. Байкал (Горевой Утес, Большая Зеленовская)



Павлова О.Н.*, Изосимова О.Н., Черницына С.М., Букин С.В., Иванов В.Г., Хабуев А.В., Погодаева Т.В., Смирнова Д.К., Горшков А.Г., Земская Т.И.

Лимнологический институт, Сибирское отделение Российской академии наук, Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. Приведена сравнительная характеристика процессов биodeградации нефти в анаэробных условиях при культивировании микробных сообществ донных осадков двух районов нефтепроявлений. Микробное сообщество донных осадков из района нефтепроявления Большая Зеленовская, функционирующее в условиях длительного воздействия углеводородов, более ориентировано на процессы анаэробного окисления нефти в сравнении с микробными сообществами из осадков нефтепроявления, расположенного у м. Горевой Утес. Об этом свидетельствует высокая степень биodeградации углеводородов, как в поверхностных, так и глубинных осадках, в независимости от присутствующих в среде акцепторов электронов. Дeградация нефти в накопительных культурах сопровождалась образованием углеводородных газов (метана и этана). Максимальная концентрация образовавшегося метана выявлена в эксперименте с осадками из Горевоего Утеса. Генерация этана, напротив, была более характерна при культивировании сообществ из отложений Большой Зеленовской. Микробные сообщества, функционирующие в анаэробных условиях в донных осадках в районах нефтепроявлений, являются не менее важным звеном в процессах самоочищения озера от нефтяного «загрязнения», чем аэробные микробные сообщества водной толщи и поверхностных отложений.

Ключевые слова: анаэробное окисление нефти, оз. Байкал, донные осадки, микробное сообщество

Для цитирования: Павлова О.Н., Изосимова О.Н., Черницына С.М., Букин С.В., Иванов В.Г., Хабуев А.В., Погодаева Т.В., Смирнова Д.К., Горшков А.Г., Земская Т.И. Сравнительная характеристика процессов анаэробного окисления нефти микробными сообществами донных осадков районов естественных нефтепроявлений оз. Байкал (Горевой Утес, Большая Зеленовская) // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 1035-1049. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1035

1. Введение

Озеро Байкал, расположенное в южной части Восточной Сибири, является крупнейшим естественным резервуаром пресной воды и имеет тектоническое происхождение. Оно известно как одно из трех пресноводных озер в мире, наряду с рифтовым глубоководным озером Танганьика и мелководным озером Чапала, которые также характеризуются естественными выходами нефти (Simoneit et al., 2000; Zárate-del Valle et al., 2006). В настоящее время в оз. Байкал установлены два района естественных нефтепроявлений: один из них находится у устья р.

Большая Зеленовская (БЗ) и известен с XVIII века, второй расположен у м. Горевой Утес (ГУ) (открыт в 2005 г.) (Конторович и др., 2007; Хлыстов и др., 2007) (Рис. 1).

Несмотря на постоянную эмиссию нефти (до 4 т/год), низкие температуры, а также длительный период полного замещения вод Байкала притоками (около 400 лет) (Weiss et al., 1991), выходы нефти локализованы на ограниченных участках. Площадь водной поверхности озера, на которой проявляются нефтяные пятна у м. Горевой Утес не изменилась за период с 2005 г. по настоящее время и составляет около 1 км². Постоянство площади нефтя-

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: pavlova@lin.irk.ru (О.Н. Павлова)

Поступила: 08 июля 2024; Принята: 29 июля 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

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



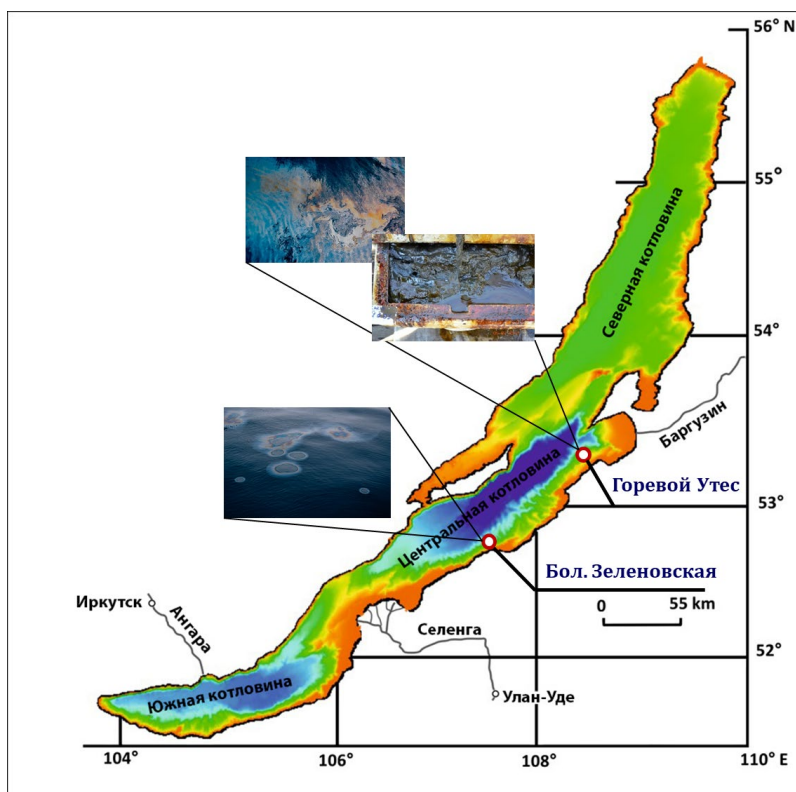


Рис.1. Карта-схема расположения районов нефтепроявления в оз. Байкал

ного «загрязнения» свидетельствует о механизмах самоочищения экосистемы озера, основной вклад в которые вносят аэробные углеводородокисляющие микроорганизмы (Павлова и др., 2008; Павлова и др., 2012; Павлова и др., 2020; Gorshkov et al., 2020). Очевидно, что в водной толще, насыщенной кислородом, и в поверхностных донных осадках с высоким содержанием O_2 доминируют аэробные процессы окисления углеводородов нефти.

С другой стороны, при длительном нахождении нефти в донных осадках, в них могут происходить анаэробные процессы биodeградации углеводородов, которые обуславливают появление уже глубоко биodeградированной нефти на водной поверхности (как это наблюдается в районе Большой Зеленовской). Эти процессы могут иметь общность или различия в двух районах нефтепроявлений в оз. Байкал, так как районы различаются временем функционирования, термобарическими условиями, геологическим строением и составом нефти на современном этапе (Хлыстов и др., 2022).

2. Материалы и методы

Для исследования отобраны два керна донных осадков: из зоны разгрузки углеводородов у м. Горевой Утес (10 км от берега, глубина водной толщи 890 м) – St. 5, GC. 3 и у устья р. Большая Зеленовская (1.4 км от берега, глубина водной толщи 320 м) – St. 4, GC. 6. Из каждого керна отобраны по два образца (Таблица). В отсутствие кислорода нефтяные углеводороды могут окисляться микроорганизмами при использовании в качестве акцепторов электронов, и Fe^{3+} (Zhang et al., 2019).

Для получения накопительных культур, образцы донных осадков асептически отбирали из центральной части керна и сразу помещали во флаконы объемом 116 мл, содержащие 50 мл стерильной анаэробной минеральной среды, нефть и различные акцепторы электронов. Конверсию нефти оценивали по убыли *n*-алканов и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) по истечении одного года культивирования в сравнении с контрольными пробами, не содержащих донные осадки (Pavlova et al., 2022; Pavlova et al., 2024).

3. Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что конверсия *n*-алканов и ПАУ проходила эффективнее в эксперименте с осадками, отобранными в районе нефтепроявления БЗ, чем в нефте-метановом сипе ГУ. В эксперименте с осадками ГУ, убыль *n*-алканов либо была незначительной, либо их концентрация снижалась в 1.2 раза, концентрация полициклических углеводородов – в 1.1–1.4 раза (Pavlova et al., 2022). В то время как в эксперименте с осадками БЗ, концентрация *n*-алканов снизилась в 1.2–2 раза, ПАУ в 2.2–2.8 раз (Pavlova et al., 2024).

Присутствие различных акцепторов электронов оказывало влияние на процессы деградации *n*-алканов, происходящие только в накопительных культурах, содержащих поверхностные осадки, и менее значимо для процессов, происходящих в культурах, содержащие глубинные осадки. В поверхностных осадках происходит деградация как *n*-алканов, так и ПАУ, в глубинных – биodeградации

Таблица. Условные обозначения полученных накопительных культур и условия культивирования

Район отбора проб	Глубина отбора проб донных осадков, см / условное обозначение	Акцептор электронов				Ссылка
		H ₂ :CO ₂			Fe ³⁺	
Горевой Утес (ГУ)	St. 5, GC. 3, 10–30 / (GUI)	GUI_HCO ₃	GUI_HCO ₃			Pavlova et al., 2022
	St. 5, GC. 3, 100–120 / (GUII)	GUI_SO ₄	GUII_SO ₄			
Большая Зеленовская (БЗ)	St. 4, GC. 6, 30–50 см / K1_БЗ	K1_HCO ₃	K1_SO ₄	K1_NO ₃	K1_Fe	Pavlova et al., 2024
	St. 4, GC. 6, 250–270 см / K2_БЗ	K2_HCO ₃	K2_SO ₄	K2_NO ₃	K2_Fe	

подвергались, в основном, полициклические ароматические углеводороды. Добавление акцепторов электронов практически не влияло на убыль ПАУ в эксперименте как с осадками ГУ, так и осадками БЗ.

Результаты экспериментов коррелируют с геохимическими данными по составу органического вещества и отдельных биомаркерных соединений в осадках двух районов нефтепроявлений. Осадки ГУ обогащены органическим веществом, которое биодеградировано в разной степени в зависимости от глубины залегания в сравнении с БЗ. Групповой состав битумоидов, повышенный индекс продуктивности свидетельствуют о том, что нефтенасыщение осадков ГУ происходит постоянно. При этом, присутствие нефтеносного горба, высокий уровень зрелости *n*-алканов (CPI ≤ 2), снижение концентрации ПАУ, снижение *n*-C₃₅–*n*-C₃₉ с глубиной в образцах ГУ указывают на происходящие процессы биодеградации (Morgunova et al., 2022). В осадках БЗ концентрация органического вещества значительно ниже, отсутствуют *n*-алканы и изопреноиды, в составе битумоидов доминируют асфальтово-смолистые компоненты (до 94 %) (Хлыстов и др., 2022; Костырева и др., 2022; Morgunova et al., 2022).

На состав нефти также влияют геологические процессы в двух районах выходов нефти. В результате фракционирования нефти в верхних слоях донных отложений и образования битумных построек на дне озера в районе ГУ, в воды озера поступает фракция, обогащенная *n*-алканами (Хлыстов и др., 2009; Gorshkov et al., 2020), которая весьма эффективно окисляется микроорганизмами в аэробных условиях в водной толще. Частичная потеря низкомолекулярных алканов в результате фракционирования нефти и сохранение высокомолекулярных, а также высокие значения концентрации полициклических углеводородов (терпаны, ПАУ) способствуют развитию микробного сообщества, нацеленного на биодеградацию ароматических соединений в анаэробных условиях, о чем свидетельствует значительное снижение их концентрации в составе нефти в течение 18 лет с момента открытия нефтепроявления (Gorshkov et al., 2020).

В более длительно существующем районе БЗ, нефть имеет продолжительный путь прохождения от источника ее генерации и длительно накапливается в донных отложениях, где и происходит активная анаэробная биодеградация как *n*-алканов, так и ПАУ. О длительном пути, пройденном нефтью от источника, так и о ее длительном накоплении

в слоях осадков свидетельствует содержание перилена в битуме (стабильного конечного продукта превращений органического вещества в донных отложениях) – на два порядка величины выше, чем в нефти, взятой в районе нефтепроявления ГУ (Хлыстов и др., 2022).

Деградация нефти сопровождалась образованием углеводородных газов (метана и этана). В эксперименте с осадками БЗ и ГУ максимальная концентрация образовавшегося метана составила 2.4 ммоль/л (54 мл/л) и 32.54 ммоль/л (728 мл/л), соответственно. Диапазон концентрации метана в донных осадках оз. Байкал составляет от нескольких мкл/л до 20 мл/л (Земская и др., 2008; Pogodaeva et al., 2017). Таким образом, значения концентрации образуемого метана при биодеградации нефти в условиях эксперимента, являются весьма значимыми, особенно в случае с образцами из нефтепроявления ГУ. Генерация этана, напротив, была более характерна при культивировании сообществ из отложений БЗ, где концентрация C₂H₆ после года культивирования увеличилась в 2.3–7 раз в сравнении с началом эксперимента.

Анализ структуры микробных сообществ в поверхностных и глубинных донных осадках из районов нефтепроявлений ГУ и БЗ выявил доминирование представителей девяти филумов домена *Bacteria*: *Chloroflexota*, *Pseudomonadota*, *Actinomycetota*, *Nitrospirota*, *Acidobacteriota*, *Bacteroidota* и *Desulfobacterota*, *Atribacterota*, *Caldisericota* и пяти домена *Archaea*: *Thermoproteota*, *Halobacterota*, *Thermoplasmata*, *Nanoarchaeota* и *Ca. Nadarchaeota*. Состав микробных сообществ, в основном, является схожим на уровне филумов, в сравнении с осадками из метановых сипов, грязевых вулканов, и значительно различался на уровне семейств (Zemskaya et al., 2024, в печати).

Доминирующий филум *Chloroflexota* был представлен семействами *Anaerolineaceae* и неклассифицируемыми *Dehalococcoidia*, доля семейств внутри филума меняется с глубиной (Рис. 2). Микроорганизмы, отнесенные к этим семействам, обнаружены в широком диапазоне анаэробных сред обитания, включая донные отложения, горячие источники, анаэробные реакторы, экотопы, загрязненные углеводородами, где они способны осуществлять синтрофное окисление углеводородов (*Anaerolineaceae*) с образованием метана при участии метаногенных архей или восстановительное дехлорирование хлорированных углеводородов

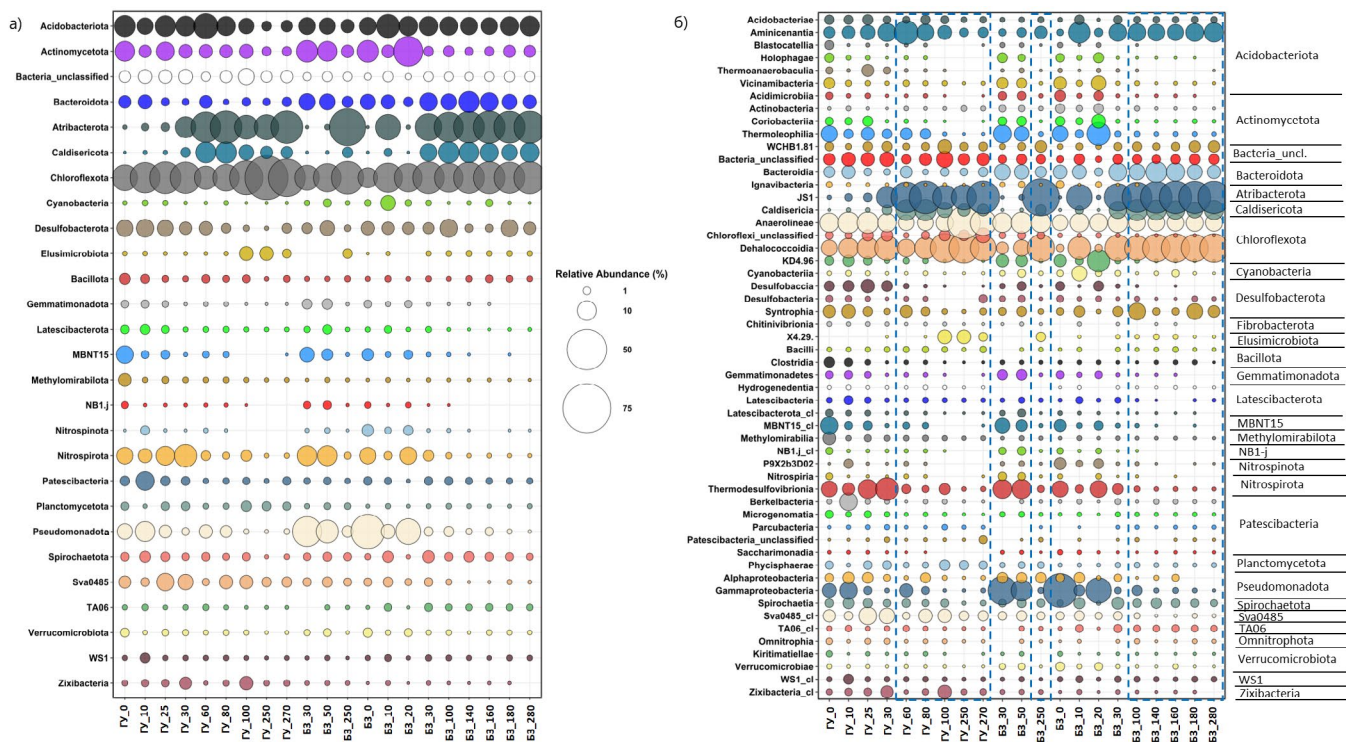


Рис.2. Относительная доля последовательностей фрагментов гена 16S рРНК Bacteria, представленных на уровне филумов (а) и семейств (б) в библиотеках из донных осадков районов нефтепроявлений ГУ и БЗ. Перечислены таксоны, составляющие >1% хотя бы в одной из библиотек

и галогенорганическое дыхание (*Dehalococcoidia*) (Liang et al., 2015; Löffler et al., 2015).

Филум *Actinomycetota*, в основном, представлен ОТЕ, принадлежащим семействам ОРВ₄₁ (*Coriobacteriia*) и хеморганогетеротрофным *Gaiellaceae* и WCHNB1-81 (*Thermoleophilia*). Большинство фило типов, связанных с ОРВ₄₁, были обнаружены в нефтеносных, осадочных и подповерхностных средах. Анализ метаболизма культивируемых представителей ОРВ₄₁ показал, что микроорганизмы являются анаэробными литотрофами, использующими тиосульфат, элементарную серу, либо Fe(III) в качестве акцептора электронов (Khomyakova et al., 2022). Филум *Acidobacteriota* состоял, в основном из представителей семейств *Aminicenantales* и *Vicinatibacteraceae* – хемоорганогетеротрофов, ферментирующих углеводы и белковые субстраты в анаэробных и аэробных условиях, соответственно (Kadnikov et al., 2019; Dedysh and Yilmaz, 2018). Показано, что *Aminicenantales* наиболее часто выявляются в средах, подверженных воздействию углеводов, за ними следуют морские среды обитания (особенно гидротермальные источники) и пресноводные (Farag et al., 2014). Филум *Bacteroidota* представлен семейством *Bacteroidetes_vadinHA17*, протеолитическими бактериями, ферментирующими углеводы с образованием летучих жирных кислот (Kampmann et al., 2012). ОТЕ, отнесенные к филуму *Desulfobacterota* принадлежали анаэробным бактериям, окисляющим короткоцепочечные жирные кислоты (*Syntrophaceae*, *Smithellaceae*), либо ацетат (*Desulfobaccaceae*) в синтрофном взаимодействии с метаногенными археями (Galushko and Kuever, 2019).

Представители филумов *Nitrospirota*, *Pseudomonadota*, *Patescibacteria*, MBNT15 и *Verrucomicrobiota* выявлены, в основном, в поверхностных осадках и характеризуются как хемоорганогетеротрофы, окисляющие пептиды, аминокислоты, жирные кислоты и простые сахара посредством аэробного и анаэробного дыхания.

В то время как *Atribacterota* и *Caldiseri-cota* – в глубинных. Представители *Atribacterota* наиболее часто встречаются в геотермальных системах, нефтяных резервуарах, анаэробных морских отложениях и метановых сипах (Mori et al., 2009; Carr et al., 2015; Nobu et al., 2016). В настоящее время, на основе метаболической реконструкции геномов *Atribacterota* показано, что бактерии могут осуществлять не только ферментацию углеводов с образованием водорода, ацетата и этанола в результате гликолиза, но и ферментировать короткоцепочечные n-алканы в жирные кислоты, которые затем потребляются вторичными деструкторами. Окисление n-алканов происходит при помощи полного набора генов, опосредующих присоединение фумарата к углеводородам (FAE, fumarate-adding enzymes) (Liu et al., 2019). Термофильные облигатные анаэробные гетеротрофы, восстанавливающие соединения серы и отнесенные к филуму *Caldiseri-cota* также входили в число доминирующих таксонов в глубинных осадках. В настоящее время, последовательности, принадлежащие этому филуму, выявляются в гидротермальных системах, водоносных горизонтах, загрязненных углеводородами, содовых озерах, биореакторах и т.д. (Mori et al., 2009). Филогенетический анализ, основанный на сравнении конкатенированных аминокислотных последовательностей 120 консерватив-

ных белков, показал что филум *Caldisericota* наряду с *Coprothermobacterota*, *Dictyoglomota*, *Thermotogota*, and *Thermodesulfobiota* образуют древнюю кладу, предком которой могла быть термофильная, строго анаэробная, подвижная, водородзависимая, миксотрофная бактерия по метаболизму схожая с последним универсальным общим предком (last universal common ancestor, LUCA) (Leng et al., 2023). Также в глубинных осадках, в значимых количествах (до 4.7%) обнаружены последовательности представителей филумов *Zixibacteria* и *Elusimicrobiota*, которые обычно составляют менее 1% в микробных сообществах и являются представителями «редкой биосферы» или «микробной темной материи» (Pascoal et al., 2021). Основываясь на реконструкции геномов этих бактерий показано, что они обладают ферментативным метаболизмом, магнитотаксисом и участвуют в круговороте железа и серы (Castelle et al., 2013; Uzun et al., 2023).

Домен *Archaea* в донных осадках из районов нефтепроявления был представлен теми же доминирующими таксонами на уровне филума, что и в донных осадках грязевых вулканов, варьировало лишь процентное содержание микроорганизмов различных систематических групп (Zemskaya et al., 2024). Такая закономерность была установлена и ранее, при изучении микробного разнообразия в донных осадках оз. Байкал, ассоциированных с разгрузкой нефти и газа (Zemskaya et al., 2015). Филум *Thermoproteota* был самым многочисленным в донных осадках из районов нефтепроявлений (Рис. 3). Доминирующие ОТЕ, относились к *Bathyarchaeia* (до 60% от всех последовательностей) и неклассифицируемым *Crenarchaeota*. В настоящее время на основе метаболической реконструкции геномов *Bathyarchaeia* показано, что микроорганизмы

могут осуществлять не только ферментацию углеводов, но и окислять короткоцепочечные n-алканы и ароматические соединения до жирных кислот, которые затем потребляются вторичными деструкторами (Zhou et al., 2018; Dong et al., 2019; Liu et al., 2019; Zhang et al., 2021). Филум *Halobacterota* представлен семействами гидрогенотрофных архей (*Methanomicrobiaceae*, *Methanoregulaceae*, *Methanoperedenaceae* и *Methanosacetaceae*). В поверхностных и подповерхностных осадках выявлены аэробные археи семейства *Nitrosopumilaceae*, осуществляющие хемолитоавтотрофный рост за счет окисления аммиака и фиксации CO₂ (Qin et al., 2016). Филум *Nanoarchaeota* состоял, в основном, из ОТЕ, отнесенных к семействам GW2011_GWC1_47_15 и *Woesearchaeales_fa* – археями, выявленными в самых различных средах обитания, среди которых нефтяные резервуары и серные источники. Они являются частью консорциума с бактериями, где бактерии участвуют в круговороте углерода, а археи – в фиксации азота, денитрификации и восстановлении сульфата в анаэробных условиях (Liu et al., 2021; Köhler et al., 2023). Миксотрофные *Thermoplasmata* были представлены *Marine_Benthic_Group_D_and_DHVEG-1_fa*, а также неидентифицированными *Thermoplasmata*.

Только в образцах их глубинных осадков выявлены последовательности, отнесенные к термофильным *Ca. Hadarchaeota*. Археи впервые были обнаружены на золотом руднике в Южной Африке на глубине около 3 км, а также в донных осадках метановых холодных сипов, содержащие газовые гидраты (Takai et al., 2001; Mara et al., 2023). Согласно данным реконструкций генома *Ca. Hadarchaeota* обладает генами, связанными с путем фиксации углерода через путь Вуда-Льюнгаля,

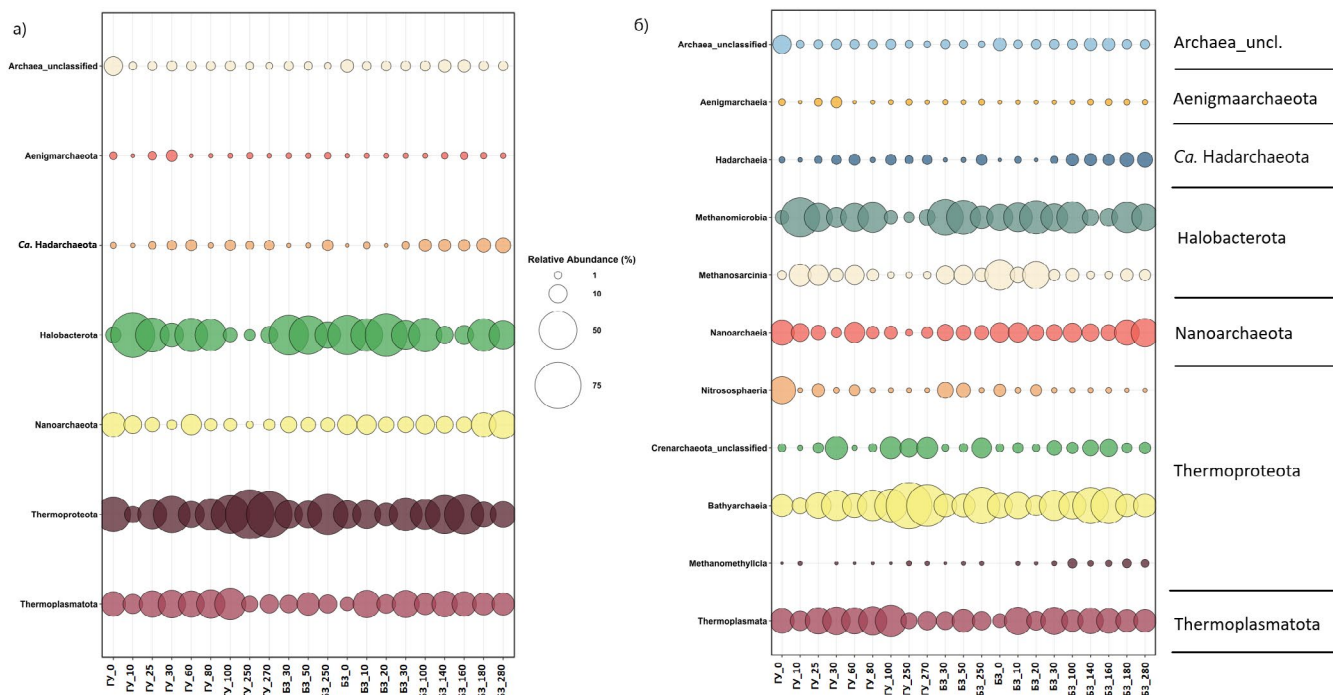


Рис.3. Относительная доля последовательностей фрагментов гена 16S рРНК Archaea, представленных на уровне филумов (а) и классов (б) в библиотеках из донных осадков районов нефтепроявлений ГУ и БЗ. Перечислены таксоны, составляющие > 1% хотя бы в одной из библиотек

метаногенезом и метаболизмом алканов (Hua et al., 2019; Baker et al., 2016; Wang et al., 2019).

Таким образом, проведенные метабаркодинговые исследования донных осадков из районов нефтепроявлений (БЗ и ГУ), выявили сложный состав микробных сообществ, состоящих из бактерий и архей, специализирующихся на процессах разложения широкого спектра субстратов (органического углерода и нефтяных углеводородов), а также наличие у микроорганизмов генов, кодирующих синтез ферментов аэробной деградации углеводородов и биосурфактантов (Павлова и др., 2010; Ломакина и др., 2014; Likhoshvay et al., 2014). Микробное сообщество донных осадков ГУ в большей части представлено последовательностями микроорганизмов, выявляемых в термальных источниках Йеллоустонского парка, осадках грязевых вулканов и загрязненных углеводородами сред, географически весьма отдаленных от оз. Байкал, а также последовательностями представителей «редкой биосферы» – *Elusimicrobiota*, *Zixibacteria* и *Ca. Nadarchaeota*. В глубинных осадках БЗ представители этих таксонов также присутствуют, но в меньшей доле. Основное различие в таксономическом составе микробных сообществ наблюдалось между подповерхностными и глубинными осадками (Pavlova et al., 2022; Pavlova et al., 2024).

4. Выводы

Микробное сообщество донных осадков из района нефтепроявления Большая Зеленая, функционирующее в условиях более длительного воздействия углеводородов, более ориентировано на процессы анаэробного окисления нефти в сравнении с микробными сообществами из донных осадков нефтепроявления, расположенного у м. Горевой Утес. О чем свидетельствует высокая степень биodeградации ПАУ, как в поверхностных, так и глубинных осадках, в независимости от присутствующих в среде акцепторов электронов. А также *n*-алканов, процент деградации которых был более значим в накопительных культурах с осадками БЗ, чем ГУ.

Микробные сообщества, функционирующие в анаэробных условиях в донных осадках в районах нефтепроявлений, являются не менее важным звеном в процессах самоочищения озера от нефтяного «загрязнения». Об этом свидетельствует высокая углеводородоокисляющая способность микроорганизмов, осуществляющих анаэробную биodeградацию компонентов нефти (до 65%) в низкотемпературных условиях оз. Байкал. Как и в других нефтяных резервуарах, конверсия углеводородов сопровождается образованием углеводородных газов (метан и этан). Ключевыми участниками анаэробной деградации углеводородов нефти в донных осадках оз. Байкал могут быть синтрофно окисляющие углеводороды нефти бактерии (*Bacillota*, *Gammaproteobacteria*, *Chloroflexota*, *Actinomyceota*, *Desulfobacterota*) и архей (*Halobacteriota*, *Bathyarchaeia*).

Благодарности

Работа выполнена в рамках темы гос. задания № 0279-2021-0006 (121032300223-1). Исследования убыли *n*-алканов и ПАУ в экспериментальных условиях проведены на базе приборного центра коллективного пользования физико-химического ультрамикрoанализа ЛИН СО РАН (ЦКП «Ультрамикрoанализ»). Секвенирование библиотек ампликонов выполнено в ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ. Все ресурсоемкие операции выполнены с использованием высокопроизводительного кластера «Академик В.М. Матросов» центра коллективного пользования «Иркутский суперкомпьютерный центр СО РАН».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Земская Т.И., Хлыстов О.М., Егоров А.В. и др. 2008. Комплексные исследования проявлений газовых гидратов в осадках озера Байкал. В: Заварзин Г.А., Кудеяров В.Н. (Ред.). Изменение окружающей среды и климата. Процессы в биосфере: изменения почвенно-растительного покрова и территориальных вод РФ, круговорот веществ под влиянием глобальных изменений климата и катастрофических процессов (с. 125–152). Москва: ИФХ и БПП РАН.
- Конторович А.Э., Каширцев В.А., Москвин В.И. и др. 2007. Нефтегазонасность отложений оз. Байкал. Геология и геофизика 48 (12): 1346–1356.
- Костырева Е.А., Каширцев В.А., Павлова О.Н. и др. 2022. Геохимия битумоидов донных осадков в районе Среднего Байкала. Сборник материалов Международной научной конференции Интерэкспо ГЕО-Сибирь 2(1): 200–203.
- Ломакина А.В., Погодаева Т.В., Морозов И.В. и др. 2014. Микробные сообщества зоны разгрузки газонефтеосодержащих флюидов ультрапресного озера Байкал. Микробиология 83(3): 355–365.
- Павлова О.Н., Земская Т.И., Горшков А.Г. и др. 2008. Сравнительная характеристика микробных сообществ двух районов естественных нефтепроявлений озера Байкал. Известия Российской академии наук. Серия биологическая 3: 333–340.
- Павлова О.Н., Ломакина А.В., Лихошвай А.В. и др. 2010. Микробные сообщества в районах естественных выходов нефти на озере Байкал. Успехи наук о жизни 2: 169–172.
- Павлова О.Н., Ломакина А.В., Горшков А.Г. и др. 2012. Микробные сообщества и их способность окислять *n*-алканы в районе разгрузки газо-нефтеосодержащих флюидов в Среднем Байкале (мыс Горевой утес). Известия Российской академии наук. Серия биологическая 5: 540–545.
- Павлова О.Н., Изосимова О.Н., Горшков А.Г. и др. 2020. Современное состояние глубоководного выхода нефти у мыса Горевой утес (Средний Байкал). Геология и геофизика 61(9): 1231–1240.
- Хлыстов О.М., Горшков А.Г., Егоров А.В. и др. 2007. Нефть в озере мирового наследия. Доклады академии наук 414: 656–659.

- Хлыстов О.М., Земская Т.И., Ситникова Т.Я. и др. 2009. Донные битумные постройки и населяющая их биота по данным обследования озера Байкал. Доклады академии наук 428: 682–685.
- Хлыстов О.М., Изосимова О.Н., Хатикубо А. и др. 2022. Новый нефтегазовый сип озера Байкал. Нефтехимия 62: 328–335.
- Baker B.J., Saw J.H., Lind A.E. et al. 2016. Genomic inference of the metabolism of cosmopolitan subsurface *Archaea*, *Hadesarchaea*. *Nature Microbiology* 1: 16002. DOI: [10.1038/nmicrobiol.2016.2](https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.2)
- Carr S.A., Orcutt B.N., Mandernack K.W. et al. 2015. Abundant *Atribacteria* in deep marine sediment from the Adélie Basin, Antarctica. *Frontiers in microbiology* 6: 872. DOI: [10.3389/fmicb.2015.00872](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00872)
- Castelle C.J., Hug L.A., Wrighton K.C. et al. 2013. Extraordinary phylogenetic diversity and metabolic versatility in aquifer sediment. *Nature Communications* 4:1 DOI: [10.1038/ncomms3120](https://doi.org/10.1038/ncomms3120)
- Dedysh S.N., Yilmaz P. 2018. Refining the taxonomic structure of the phylum *Acidobacteria*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 68(12): 3796–3806. DOI: [10.1099/ijsem.0.003062](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003062)
- Dong X., Greening C., Rattray J.E. et al. 2019. Metabolic potential of uncultured bacteria and archaea associated with petroleum seepage in deep-sea sediments. *Nature Communications* 10(1): 1816. DOI: [10.1038/s41467-019-09747-0](https://doi.org/10.1038/s41467-019-09747-0)
- Farag I.F., Davis J.P., Youssef N.H. et al. 2014. Global patterns of abundance, diversity and community structure of the *Aminicenantes* (Candidate Phylum OP8). *PLoS ONE* 9(3): e92139. DOI: [10.1371/journal.pone.0092139](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092139)
- Galushko A., Kuever J. 2019. *Desulfobacca*. In: Trujillo M.E., Dedysh S., DeVos P., Hedlund B., Kämpfer P., Rainey F.A., Whitman W.B. (Eds.). *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. DOI: [10.1002/9781118960608.gbm01061.pub2](https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01061.pub2)
- Gorshkov A., Pavlova O., Khlystov O. et al. 2020. Fractioning of petroleum hydrocarbons from seeped oil as a factor of purity preservation of water in Lake Baikal (Russia). *Journal of Great Lakes Research* 46(1): 115–122. DOI: [10.1016/j.jglr.2019.10.010](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.10.010)
- Hua Z.-S., Wang Y.-L., Evans P.N. et al. 2019. Insights into the ecological roles and evolution of methyl-coenzyme M reductase-containing hot spring *Archaea*. *Nature Communications* 10(1). DOI: [10.1038/s41467-019-12574-y](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12574-y)
- Kadnikov V.V., Mardanov A.V., Beletsky A.V. et al. 2019. Genome of the candidate phylum *Aminicenantes* bacterium from a deep subsurface thermal aquifer revealed its fermentative saccharolytic lifestyle. *Extremophiles* 23(2): 189–200. DOI: [10.1007/s00792-018-01073-5](https://doi.org/10.1007/s00792-018-01073-5)
- Kampmann K., Ratering S., Kramer I. et al. 2012. Unexpected stability of *Bacteroidetes* and *Firmicutes* communities in laboratory biogas reactors fed with different defined substrates. *Applied and Environmental Microbiology* 78(7): 2106–2119. DOI: [10.1128/aem.06394-11](https://doi.org/10.1128/aem.06394-11)
- Khomyakova M.A., Zavarzina D.G., Merkel A.Y. et al. 2022. The first cultivated representatives of the actinobacterial lineage OPB41 isolated from subsurface environments constitute a novel order *Anaerosomatales*. *Frontiers in Microbiology* 13. DOI: [10.3389/fmicb.2022.1047580](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1047580)
- Köhler J.M., Ehrhardt L., Günther P.M. 2023. Archaeal and extremophilic bacteria from different archaeological excavation sites. *International Journal of Molecular Sciences* 24(6): 5519. DOI: [10.3390/ijms24065519](https://doi.org/10.3390/ijms24065519)
- Leng H., Wang Y., Zhao W. et al. 2023. Identification of a deep-branching thermophilic clade sheds light on early bacterial evolution. *Nature Communications* 14(1). DOI: [10.1038/s41467-023-39960-x](https://doi.org/10.1038/s41467-023-39960-x)
- Liang B., Wang L.-Y., Mbadinga S.M. et al. 2015. *Anaerolineaceae* and *Methanosaeta* turned to be the dominant microorganisms in alkanes-dependent methanogenic culture after long-term of incubation. *AMB Express* 5(1). DOI: [10.1186/s13568-015-0117-4](https://doi.org/10.1186/s13568-015-0117-4)
- Likhoshvay A., Lomakina A., Grachev M. 2014. The complete *alk* sequences of *Rhodococcus erythropolis* from Lake Baikal. *SpringerPlus* 3(1). DOI: [10.1186/2193-1801-3-621](https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-621)
- Liu Y.-F., Qi Z.-Z., Shou L.-B. et al. 2019. Anaerobic hydrocarbon degradation in candidate phylum 'Atribacteria' (JS1) inferred from genomics. *The ISME Journal* 13(9): 2377–2390. DOI: [10.1038/s41396-019-0448-2](https://doi.org/10.1038/s41396-019-0448-2)
- Liu X., Wang Y., Gu J.-D. 2021. Ecological distribution and potential roles of *Woeseearchaeota* in anaerobic biogeochemical cycling unveiled by genomic analysis. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 19: 794–800. DOI: [10.1016/j.csbj.2021.01.013](https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.01.013)
- Löffler F.E., Yan J., Ritalahti K.M. et al. 2015. *Dehalococcoides mccartyi* gen. nov., sp. nov., obligately organohalide-respiring anaerobic bacteria relevant to halogen cycling and bioremediation, belong to a novel bacterial class, *Dehalococcoidia* classis nov., order *Dehalococcoidales* ord. nov. and family *Dehalococcoidaceae* fam. nov., within the phylum *Chloroflexi*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65(Pt.6): 2015–2015. DOI: [10.1099/ijms.0.000308](https://doi.org/10.1099/ijms.0.000308)
- Mara P., Geller-McGrath D., Edgcomb V. et al. 2023. Metagenomic profiles of archaea and bacteria within thermal and geochemical gradients of the Guaymas Basin deep subsurface. *Nature Communication* 14: 7768. DOI: [10.1038/s41467-023-43296-x](https://doi.org/10.1038/s41467-023-43296-x)
- Morgunova I., Semenov P., Kursheva A. et al. 2022. Molecular indicators of sources and biodegradation of organic matter in sediments of fluid discharge zones of Lake Baikal. *Geosciences* 12(2): 72. DOI: [10.3390/geosciences12020072](https://doi.org/10.3390/geosciences12020072)
- Mori K., Yamaguchi K., Sakiyama Y. et al. 2009. *Caldisericum exile* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, thermophilic, filamentous bacterium of a novel bacterial phylum, *Caldiserica* phyl. nov., originally called the candidate phylum OP5, and description of *Caldiseriaceae* fam. nov., *Caldisericales* ord. nov. and *Caldisericia* classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59(11): 2894–2898. DOI: [10.1099/ijms.0.010033-0](https://doi.org/10.1099/ijms.0.010033-0)
- Nobu M.K., Dodsworth J.A., Murugapiran S.K. et al. 2016. Phylogeny and physiology of candidate phylum "Atribacteria" (OP9/JS1) inferred from cultivation-independent genomics. *The ISME Journal* 10(2): 273–286. DOI: [10.1038/ismej.2015.97](https://doi.org/10.1038/ismej.2015.97)
- Pascoal F., Costa R., Magalhães C. 2021. The microbial rare biosphere: current concepts, methods and ecological principles. *FEMS Microbiology Ecology* 97(1). DOI: [10.1093/femsec/fiaa227](https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa227)
- Pavlova O.N., Izosimova O.N., Chernitsyna S.M. et al. 2022. Anaerobic oxidation of petroleum hydrocarbons in enrichment cultures from sediments of the Gorevoy Utes natural oil seep under methanogenic and sulfate-reducing conditions. *Microbial Ecology* 83: 899–915. DOI: [10.1007/s00248-021-01802-y](https://doi.org/10.1007/s00248-021-01802-y)
- Pavlova O.N., Bukin S.V., Izosimova O.N. et al. 2024. Anaerobic oxidation of oil by microbial communities of bottom sediments of a natural oil seepage site (Bolshaya Zelenovskaya, Middle Baikal). *Microbiology* 93(5): 563–575.
- Pogodaeva T.V., Lopatina I.N., Khlystov O.M. et al. 2017. Background composition of pore waters in Lake Baikal bottom sediments. *Journal of Great Lakes Research*. 43: 1030–1043. DOI: [10.1016/j.jglr.2017.09.003](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2017.09.003)
- Qin W., Martens-Habbena W., Kobelt J.N. et al. 2016. *Candidatus Nitrosopumilaceae*. In: Trujillo M.E., Dedysh S., DeVos P., Hedlund B., Kämpfer P., Rainey F.A., Whitman

W.B. (Eds.). *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. DOI: [10.1002/9781118960608.fbm00262](https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00262)

Simoneit B.R.T., Aboul-Kassim T.A.T., Tiercelin J.J. 2000. Hydrothermal petroleum from lacustrine sedimentary organic matter in the East African Rift. *Applied Geochemistry* 15(3): 355–368. DOI: [10.1016/s0883-2927\(99\)00044-x](https://doi.org/10.1016/s0883-2927(99)00044-x)

Takai K., Moser D.P., DeFlaun M. et al. 2001. Archaeal diversity in waters from deep South African Gold Mines. *Applied and Environmental Microbiology* 67(12): 5750–5760. DOI: [10.1128/aem.67.21.5750-5760.2001](https://doi.org/10.1128/aem.67.21.5750-5760.2001)

Uzun M., Koziyeva V., Dziuba M. et al. 2023. Recovery and genome reconstruction of novel magnetotactic *Elusimicrobiota* from bog soil. *The ISME Journal* 17(2): 204–214. DOI: [10.1038/s41396-022-01339-z](https://doi.org/10.1038/s41396-022-01339-z)

Wang Y., Wegener G., Hou J. et al. 2019. Expanding anaerobic alkane metabolism in the domain of Archaea. *Nature Microbiology* 4(4): 595–602. DOI: [10.1038/s41564-019-0364-2](https://doi.org/10.1038/s41564-019-0364-2)

Weiss R.F., Carmack E.C., Koropalov V.M. 1991. Deep-water renewal and biological production in Lake Baikal. *Nature* 349(6311): 665–669. DOI: [10.1038/349665a0](https://doi.org/10.1038/349665a0)

Zárate-del Valle P.F., Rushdi A.I., Simoneit B.R.T. 2006. Hydrothermal petroleum of Lake Chapala, Citala Rift, western

Mexico: Bitumen compositions from source sediments and application of hydrous pyrolysis. *Applied Geochemistry* 21(4): 701–712. DOI: [10.1016/j.apgeochem.2006.01.002](https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.01.002)

Zemskaya T., Lomakina A., Mamaeva E. et al. 2015. Bacterial communities in sediments of Lake Baikal from areas with oil and gas discharge. *Aquatic Microbial Ecology* 76(2): 95–109. DOI: [10.3354/ame01773](https://doi.org/10.3354/ame01773)

Zhang K., Hu Z., Zeng F.F. et al. 2019. Biodegradation of petroleum hydrocarbons and changes in microbial community structure in sediment under nitrate-, ferric-, sulfate-reducing and methanogenic conditions. *Journal of Environmental Management* 249: 109425. DOI: [10.1016/j.jenvman.2019.109425](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109425)

Zhang C., Meckenstock R.U., Weng S. et al. 2021. Marine sediments harbor diverse archaea and bacteria with potentials for anaerobic hydrocarbon degradation via fumarate addition. *FEMS Microbiology Ecology* 97(5) DOI: [10.1093/femsec/fiab045](https://doi.org/10.1093/femsec/fiab045)

Zhou Z., Pan J., Wang F. et al. 2018. *Bathyarchaeota*: globally distributed metabolic generalists in anoxic environments. *FEMS Microbiology Reviews* 42(5): 639–655. DOI: [10.1093/femsre/fuy023](https://doi.org/10.1093/femsre/fuy023)