

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»

На правах рукописи

Бурганская Екатерина Игоревна

АНОКСИГЕННЫЕ НИТЧАТЫЕ ФОТОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ В МИКРОБНЫХ
СООБЩЕСТВАХ МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

03.02.03 – Микробиология

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор,
Горленко В. М.

Оглавление

Введение	5
Литературный обзор.....	11
1 Общая характеристика АФБ	11
2 Характеристика АНФБ.....	17
2.1 Биоразнообразие АНФБ	17
2.2 Морфология и особенности строения клеток АНФБ	23
2.2.1 Способность к скольжению.....	23
2.2.2 Клеточное строение.....	23
2.2.3 Хлоросомы	25
2.3 Пигментный состав клеток.....	26
2.3.1 Бактериохлорофиллы	26
2.3.2 Каротиноиды.....	27
2.3.3 Хиноны	28
3 Физиологические особенности.....	28
3.1 Отношение к температуре, соли, рН	28
3.1.1 Отношение к температуре	28
3.1.2 Отношение к соли.....	29
3.1.3 Отношение к рН.....	29
3.2 Фотосинтез.....	29
3.3 Использование неорганических и органических соединений в качестве донора электронов.....	32
3.4 Пути автотрофной фиксации углекислоты.....	33
3.4.1 Цикл Кальвина	33
3.4.2 3-Гидроксипропионатный цикл	34
3.5 Источники азота	36
3.6 Темновой метаболизм.....	36
4 Распространение АНФБ в природе	37
4.1 Микробный мат как естественная среда обитания АНФБ.....	37
4.2 Положение АНФБ в экосистеме	40
4.3 Местообитания АНФБ.....	42
5 Возможное применение АНФБ в практике.....	44
6 Заключение к литературному обзору.....	46
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	47
7 Материалы исследования.....	47

8	Микробиологические методы исследования	48
8.1	Состав питательной среды и условия культивирования	48
8.2	Микроскопия	49
8.3	Количественный учет различных групп АФБ.....	50
8.4	Определение пигментов клеток	50
8.5	Определение световой фиксации углекислоты.....	51
9	Молекулярно-генетические методы исследования	52
9.1	Выделение ДНК.....	52
9.2	Аmplификация фрагментов исследуемых генов.....	53
9.3	Детектирование продуктов ПЦР.....	54
9.4	Очистка ПЦР-фрагментов	54
9.5	Секвенирование ДНК	54
9.6	Анализ бактериального состава исследованных матов.....	54
9.7	Секвенирование геномной ДНК	55
9.8	Анализ полученных последовательностей	56
9.9	Флуоресцентная гибридизация <i>in situ</i>	56
	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	57
10	Микробные маты содового озера Киран	57
10.1	Характеристика местообитания.....	57
10.2	Тотальный пигментный состав матов	59
10.3	Вертикальная структура матов по стеклам обрастания и микроскопия.....	60
10.4	Состав микробных сообществ по данным высокопроизводительного секвенирования.....	62
10.5	Характеристика и таксономическое положение выделенных культур АФБ	67
10.6	' <i>Candidatus Viridilinea mediisalina</i> ' Kir15-3F – новая аноксигенная нитчатая фототрофная бактерия из озера Киран.....	72
10.6.1	Морфологическая характеристика.....	72
10.6.2	Пигменты клеток	73
10.6.3	Физиологические свойства	74
10.6.4	Генетические свойства.....	76
10.6.5	Таксономическое описание ' <i>Candidatus Viridilinea mediisalina</i> '	76
10.7	Особенности состава исследованных алкалофильных микробных матов и присутствие новых АНФБ.....	77
11	Микробные маты солевых маршей и литорали озер, имевших связь с Кандалакшским заливом Белого моря.	81
11.1	Характеристика местообитания.....	81
11.2	Тотальный пигментный состав матов	83

11.3 Основные группы фототрофных бактерий, выявленные с помощью микроскопии	84
11.4 Состав микробных сообществ по данным высокопроизводительного секвенирования.....	86
11.5 Особенности состава исследованных микробных матов и присутствие новых АНФБ.....	95
12 Микробные маты холодных соленых источников побережья озера Чокрак (Крымский полуостров).....	96
12.1 Характеристика местообитания.....	96
12.2 Тотальный пигментный состав матов	97
12.3 Основные группы фототрофных бактерий, выявленные с помощью микроскопии	98
12.4 Состав микробных сообществ по данным высокопроизводительного секвенирования.....	101
12.5 Характеристика и таксономическое положение выделенных культур АФБ	108
12.6 ‘ <i>Candidatus Viridilinea halotolerans</i> ’ Chok-6 – новая аноксигенная нитчатая фототрофная бактерия из Чокракского источника	113
12.6.1 Морфологическая характеристика.....	113
12.6.2 Пигменты клеток	115
12.6.3 Физиологические свойства	116
12.6.4 Генетические свойства.....	117
12.6.5 Таксономическое описание ‘ <i>Candidatus Viridilinea halotolerans</i> ’	119
12.7 Особенности состава исследованных галофильных микробных матов и присутствие новых АНФБ.....	119
13 Микробные маты теплых высокоминерализованных источников Дагестана	122
13.1 Характеристика местообитания.....	122
13.2 Основные группы фототрофных бактерий, выявленные с помощью микроскопии	123
13.3 Характеристика и таксономическое положение выделенных культур АФБ	126
13.4 Особенности состава исследованных алкалофильных микробных матов и присутствие новых АНФБ.....	131
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	133
ВЫВОДЫ	136
СОКРАЩЕНИЯ И АББРЕВИАТУРЫ	137
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	138
Приложение А.....	163
Приложение Б	169

Введение

Фотосинтез – один из самых значительных биогеохимических процессов на Земле. Первыми организмами, способными к фотосинтезу, были аноксигенные фототрофные бактерии (АФБ), развитие которых проходило в экстремальных условиях древней Земли.

На сегодня известно, что аноксигенный фотосинтез осуществляется представителями семи бактериальных филумов. Для реконструкции этапов эволюции фотосинтеза научный интерес представляют аноксигенные нитчатые фототрофных бактерий (АНФБ) филума *Chloroflexi*. В экстремальных экосистемах, например в термальных источниках, эти бактерии являются важным компонентом микробного сообщества.

Большая часть того, что мы знаем о биологии этих бактерий, получена на основании изучения пресноводных видов (Gaisin et al, 2017; Hanada et al, 1995b; Hanada et al, 2002; Pierson et al, 1985; Pierson, Castenholz, 1974a). Однако наши знания о солоноводных представителях весьма ограничены (Gorlenko et al, 2014; Meene Van De et al, 2007). На момент начала исследования было известно только две солоноводных АНФБ, каждая из которых значительно филогенетически удалена друг от друга, – ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’ и ‘*Candidatus Chloroploca asiatica*’ (штамм В7-9). Поэтому данное исследование посвящено увеличению знаний об АНФБ из солоноводных экосистем.

В природе АНФБ встречаются в составе микробного мата. Микробные маты – древнейшие высокопродуктивные фототрофные сообщества, о чем свидетельствуют находки литифицированных матов – строматолитов, в породах возрастом около 3.5 млрд лет. Исследования современных микробных матов важны для выяснения геохимической деятельности древних микробных экосистем, особенно их роли в оксигенации атмосферы Земли (Hoehler et al, 2001).

Состав микробных сообществ цианобактериальных матов зависит от солености водоема, типа минерализации, рН и температуры (Pierson et al, 1994). Большинство опубликованных статей посвящено исследованию микробных матов, сформированных в мелководных участках морских и гиперсоленых континентальных водоемов южных и средних широт, а также сформированных в высокотемпературных пресноводных источниках (Pierson et al, 1994; Pierson, Thornber, 1983; Thiel et al, 2016; Ward et al, 2006). Еще меньше публикаций с использованием метода высокопроизводительного секвенирования, с целью корректного таксономического описания компонентов АНФБ-содержащих сообществ микробных матов соленых водоемов. Современные работы по

исследованию структуры бентосных фототрофных сообществ соленых холодных и мезотермальных серных источников малочисленны. Исследование новых солоноводных местообитаний даст возможность выделить новые виды мезофильных АНФБ, исследовать их метаболизм на геномном уровне и выявить новые тренды эволюции фототрофных сообществ.

Цель данного исследования: изучение фенотипического и генетического разнообразия аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий в микробных сообществах минерализованных водных экосистем разного типа с применением комплекса микробиологических и молекулярно-генетических методов.

В задачи исследования входило:

1. Определить условия образования бентосных фототрофных сообществ в солоноводных водоемах разного типа: содового озера Киран, приполярных озерах лагунного типа Кандалакшского залива Белого моря, холодных и мезотермальных серных источников Крыма и Дагестана.

2. С использованием современных молекулярных методов диагностики описать состав и структуру фототрофных сообществ, а также определить степень распространенности АНФБ в микробных матах и биопленках, сформированных в исследуемых водоемах.

3. Провести сравнительное изучение особенностей состава и функционирования микробных матов и биопленок солоноводных местообитаний различного происхождения.

4. Выделить культуры АНФБ из солоноводных мест обитания, изучить их морфологические и физиологические свойства.

5. Выполнить полногеномное секвенирование ДНК новых изолятов АНФБ, проанализировать их филогенетическое положение и основные биохимические особенности.

Научная новизна. Впервые с применением комплексного подхода, включающего микробиологические и молекулярно-генетические методы, исследованы сообщества микробных матов содового озера Киран, солевых маршей и литоральных зон озер, имевших связь с Кандалакшским заливом Белого моря, а также сульфидных соленых холодных Чокракских источников и теплых источников Дагестана. Получены новые данные о филогенетическом разнообразии АНФБ и других фототрофных бактерий в солоноводных местообитаниях типа сульфурета различного происхождения. Выполнено

полногеномное секвенирование и дано описание нового рода и новым мезофильным видам АНФБ: '*Candidatus Viridilinea mediisalina*' и '*Candidatus Viridilinea halotolerans*'.

Практическая значимость. Фототрофные бактерии в сульфидсодержащих экосистемах являются главным барьером на пути распространения сероводорода в атмосферу. Исследование условий формирования и структуры микробных матов солоноводных и содовых местообитаниях имеет практическое значение в бальнеологии, региональной экологии и возможного применения в очистных сооружениях искусственных микробных матов, функционирующих в высокоминерализованных и щелочных средах.

Апробация работы: Материалы диссертации были доложены на XI, XII конференциях «Актуальные аспекты микробиологии» (Москва, 2016, 2017), «Автотрофные микроорганизмы» (Москва, 2015), The 17th International Congress on Photosynthesis Research (The Netherlands, 2016), 13th International Conference on Salt Lake Research (Ulan-Ude, Russia, 2017)

Публикации: По материалам диссертации было опубликовано 6 статей в рецензируемых журналах и 6 тезисов конференций:

Опубликованные статьи:

1. **Burganskaya E.I.**, Bryantseva I.A., Gaisin V.A., Grouzdev D.S., Rysina M.S., Barkhutova D.D., Baslerov R.V., Gorlenko V.M., Kuznetsov B.B. Benthic phototrophic community from Kiran soda lake, south-eastern Siberia // *Extremophiles*. – 2018. – V. 22. – № 2. – P. 211-220. DOI: 10.1007/s00792-017-0989-0
2. **Burganskaya E.I.**, Bryantseva I.A., Krutkina M.S., Grouzdev D.S., Gorlenko V.M. Bacterial communities of the microbial mats of Chokrak sulfide springs // *Archives of Microbiology*. – 2019. – V. 201. – №6. – P. 795-805. DOI: 10.1007/s00203-019-01648-6
3. Grouzdev D.S., **Burganskaya E.I.**, Krutkina M.S., Sukhacheva M.V., Gorlenko V.M. Genome sequence of "*Candidatus Viridilinea halotolerans*" Chok-6, isolated from a saline sulfide-rich spring // *Microbiol. Resour. Announc.* – 2019. – V. 8. – № 4. – e01614-18. DOI: 10.1128/MRA.01614-18
4. Gaisin V.A., **Burganskaya E.I.**, Grouzdev D.S., Ashikhmin A.A., Kostrikina N.A., Bryantseva I.A., Kozaieva V.V., Gorlenko V.M. '*Candidatus Viridilinea mediisalina*', a novel phototrophic Chloroflexi bacterium from a Siberian soda lake // *FEMS Microbiology Letters*. – 2019. – V. 366. – № 5. – fnz043. DOI: 10.1093/femsle/fnz043

5. Горленко В.М., **Бурганская Е.И.**, Брянцева И.А. Фототрофные сообщества высокоминерализованных мезотермальных сульфидных Берикейских источников (Дагестан) // Микробиология. – 2019. – Т. 88. – № 2. – С. 154–164. DOI: 10.1134/S0026365619020046

6. **Бурганская Е.И.**, Груздев Д.С., Круткина М.С., Горленко В.М. Бактериальные сообщества микробных матов супралиторали Белого моря и литорали отделившихся от моря озер // Микробиология. – 2019. – Т. 88. – № 5. – С. 568-582. DOI: 10.1134/S0026365619050033

Тезисы конференций:

1. **Бурганская Е.И.** Фототрофные бактерии высокоминерализованного озера Киран (оз. Солёное) // Автотрофные микроорганизмы: 5-й Всероссийский симпозиум с международным участием. 21–24 декабря 2015 г. Москва, МГУ имени М.В. Ломоносова. Биологический факультет. М.: МАКС Пресс, 2015. – с. 192.

2. Gaisin V.A., Bryantseva I.A., **Burganskaya E.I.**, Ashikhmin A.A., Makhneva Z.L., Kuznetsov V.B., Gorlenko V.M. Photosynthetic pigments of new halotolerant green filamentous anoxygenic phototrophic bacterium // The 17th International Congress on Photosynthesis Research, 7-12 August, 2016, Maastricht, The Netherlands. Abstract book – p. 191-192.

3. **Бурганская Е.И.**, Гайсин В.А., Брянцева И.А. Новая аноксигенная нитчатая фототрофная бактерия из высокоминерализованного озера Киран // XI Молодежная школа–конференция с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии», Москва, 1-2 ноября 2016 г. М.: МАКС Пресс, 2016. – с. 37-39.

4. Гайсин В.А., Брянцева И.А., Калашников А.М., Груздев Д.С., **Бурганская Е.И.**, Сухачева М.В., Волынчикова Е.А., Кузнецов Б.Б. и Горленко В.М. Новые мезофильные аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии // XI Молодежная школа–конференция с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии», Москва, 1-2 ноября 2016 г. М.: МАКС Пресс, 2016. – с. 42-43.

5. **Burganskaya E.I.**, Gaisin V.A., Barkhutova D.D., Bryantseva I.A., Grouzdev D.S., Gorlenko V.M., Kuznetsov V.B. Phototrophic bacteria in microbial mats of mineralized Kiran Lake (Siberia) // 13th International Conference on Salt Lake Research, 21-25 August, 2017, Ulan-Ude, Russia. – p. 76.

6. **Бурганская Е.И.**, Гайсин В.А., Брянцева И.А., Груздев Д.С., Горленко В.М. Фототрофное сообщество холодных сульфидсодержащих Чокракских источников // XII Молодежная школа–конференция с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии», Москва, 9-10 ноября 2017 г. М.: МАКС Пресс, 2017. – с. 22-23.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Текст работы изложен на 169 страницах, содержит 41 рисунок, 15 таблиц и 2 приложения. Список литературы содержит 342 наименования.

Место выполнения работы и благодарности. Работа была выполнена на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» в лаборатории экологии и геохимической деятельности и в лаборатории молекулярной диагностики. Все оригинальные нуклеотидные последовательности, опубликованные в ходе выполнения данной работы, были определены с помощью оборудования ЦКП «Биоинженерия» Института Биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН.

Автор выражает огромную благодарность профессору, д.б.н. Владимиру Михайловичу Горленко за ценнейшие советы и помощь в выполнении всех этапов данной работы, от планирования экспериментов до написания публикаций и текста диссертации.

Автор выражает глубокую признательность И.А. Брянцевой, В.А. Гайсину, Д.С. Груздеву, а также Б.Б. Кузнецову за практическую помощь и ценные рекомендации.

Автор также выражает искреннюю благодарность всем сотрудникам лаборатории экологии и геохимической деятельности микроорганизмов Института Микробиологии им. С.Н. Виноградского и лаборатории молекулярной диагностики Института Биоинженерии. Кроме того, автор благодарит коллектив лаборатории микробиологии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ) и в особенности Д.Д. Бархутову за организацию экспедиции на озеро Киран.

Финансовая поддержка. Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН «Эволюция органического мира и планетарных процессов», а также при поддержке грантов РФФИ № 15-04-07655 «Филогенетическое и функциональное разнообразие аноксигенных нитчатых фотосинтезирующих бактерий в морских и континентальных водоемах с экстремальными значениями солености и pH», № 16-04-00830 «Новые полиэкстремофильные хемотрофные и фототрофные микроорганизмы из

природных и антропогенных экосистем: фундаментальный аспект и перспективы их прикладного использования» и № 19-04-00423 «Биоразнообразие и эволюция микробных сообществ цианобактериальных матов слабоминерализованных, экстремально соленых и содовых местообитаний».

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1 Общая характеристика АФБ

Фотосинтез впервые появился у прокариот более трех миллиардов лет назад и представляет собой один из самых фундаментальных биологических процессов на Земле (Canfield et al, 2006; Hohmann-Marriott, Blankenship, 2011). Виды, способные к фотосинтезу с помощью (бактерио)-хлорофиллов, относятся к семи бактериальным филумам: Cyanobacteria, Proteobacteria, Chlorobi, Chloroflexi, Firmicutes, Acidobacteria и Gemmatimonadetes (рис. 1, таблица 1). Цианобактерии осуществляют кислородный фотосинтез, в то время как фототрофные представители последних шести филумов – анакислородный, и поэтому получили название анакислородных фототрофных бактерий (АФБ). Помимо общей способности к фотосинтезу, АФБ являются чрезвычайно гетерогенной эубактериальной группой на основании морфологических, физиологических и молекулярных данных.

Исследование фотосинтетических бактерий получило развитие после работ Энгельманна и Виноградского в конце XIX-ого века. Первой открытой группой фотосинтетических бактерий стали пурпурные бактерии, которые подразделяются на пурпурных серных бактерий (ПСБ), широко представленных в филуме *Gamma*proteobacteria, и несерных пурпурных бактерий (НПБ), принадлежащих филумам *Alpha*- и *Beta*proteobacteria. На данный момент выделено и описано более 160 видов пурпурных бактерий, принадлежащих 57 родам, 12 семействам и 7 порядков в классе Proteobacteria (Imhoff, 2017). Для ПСБ типичен фотоавтотрофный рост, в то время как для НПБ – фотогетеротрофный. В то же время многие ПСБ способны расти фотогетеротрофно, используя органические вещества в качестве доноров электронов и источников углерода (Imhoff, 1995). Кроме того, для некоторых видов был продемонстрирован хемолитоавтотрофный рост (при аэробных условиях в темноте) (Kampf, Pfennig, 1980; Madigan, Gest, 1979; Siefert, Pfennig, 1979). Почти все ПСБ, а также многие представители НПБ растут в фотоавтотрофных условиях с водородом или восстановленными соединениями серы в качестве доноров электронов. Основные фотосинтетические пигменты пурпурных бактерий – это бактериохлорофилл *a* или *b* и различные каротиноиды: спириллоксантин, родопинал, сфероиден или каротиноиды океноновой серии (Schmidt, 1978). ПСБ представлены двумя семействами – *Chromatiaceae* и *Ectothiorhodospiraceae*. К семейству *Chromatiaceae* относятся фототрофные бактерии, которые при определенных условиях роста откладывают внутри клеток гранулы

элементарной серы. Представители семейства *Ectothiorhodospiraceae* при окислении сульфида откладывают элементарную серу вне клеток.

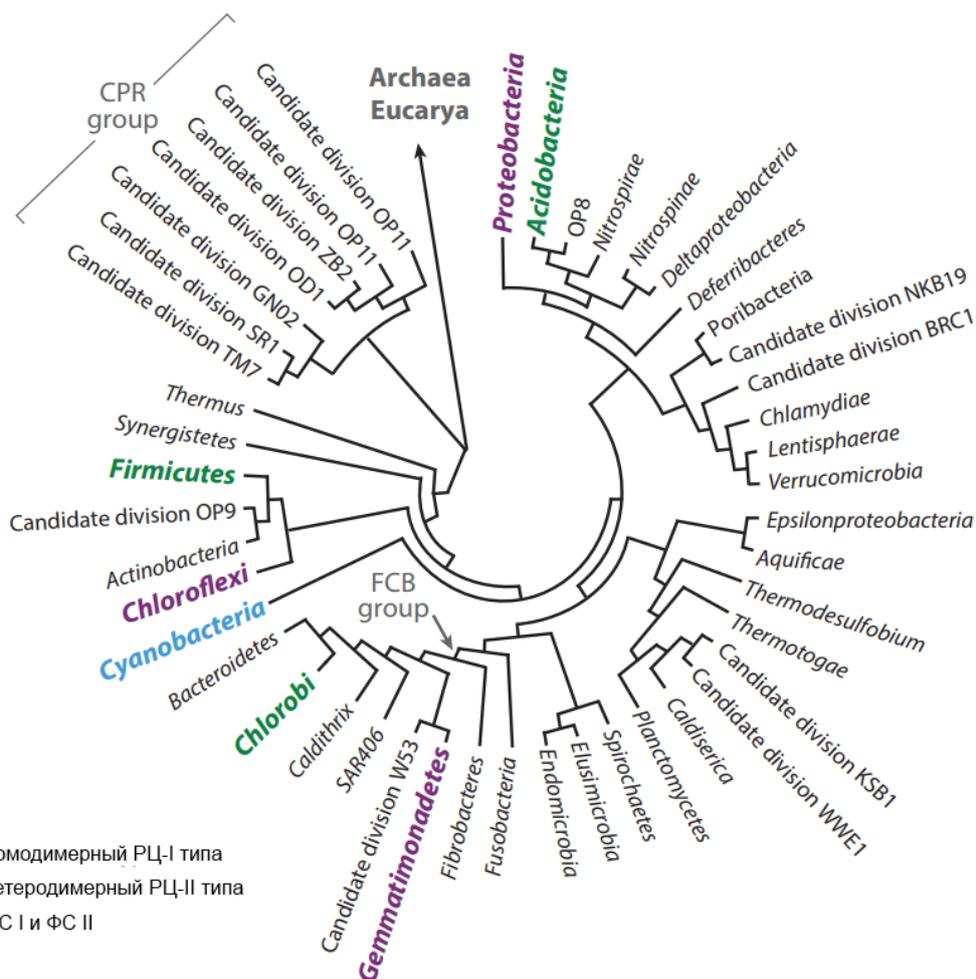


Рисунок 1. Филогенетическое положение бактериальной филумов, содержащих фототрофные бактерии (показано цветом). Филумы с гомодимерными РЦ-I типа обозначены зеленым цветом; филумы с гетеродимерными РЦ-II типа обозначены фиолетовым. Большинство цианобактерий (синий) содержат РЦ-I типа (ФС I) и РЦ-II типа (ФС II). Сокращения: РЦ, реакционный центр; ФС, фотосистема (цит. по (Thiel et al, 2018)).

Группа НПБ – самая разнообразная группа фототрофных бактерий. Это разнообразие отражается в значительно различающейся морфологии, строении внутренней мембраны, составе каротиноидов, использовании источников углерода и доноров электронов и др. Большинство видов подвижны при помощи жгутиков, а также не образуют газовые везикулы, за исключением *Rhodofera antarcticus* (Imhoff, 1995; Madigan et al, 2000). Большая часть НПБ окисляет сульфид до элементарной серы (Hansen, Gemerden, 1972). Некоторые виды окисляют до сульфата с промежуточным образованием серы, как это происходит у ПСБ семейства *Ectothiorhodospiraceae* (Imhoff, 2017). Большинство видов толерантны к кислороду и хорошо растут в аэробных условиях в

темноте. В этих условиях синтез фотосинтетических пигментов подавляется, и культуры слабо окрашены или бесцветны. Наибольшее количество НПБ включают семейства *Rhodospirillaceae* и *Rhodobacteraceae* класса *Alphaproteobacteria*, к которым относятся не только фототрофные бактерии. Немногие виды относятся к классу *Betaproteobacteria*.

Зеленые серные бактерии (ЗСБ) представляют собой филогенетически когерентную группу АФБ, которые вместе с несколькими хемотрофами образуют филум *Chlorobi* (Hiras et al, 2016; Imhoff, 2014; Imhoff, Thiel, 2010). Фототрофные представители *Chlorobi* объединены в одно семейство *Chlorobiaceae* (Trüper, Pfennig, 1992). ЗСБ в настоящее время состоят из четырех признанных родов: *Chlorobium* (Chl.), *Chlorobaculum* (Cba.), *Prosthecochloris*, и *Chloroherpeton* (Chp.), каждый из которых, кроме *Chloroherpeton*, содержит несколько видов. Семейство *Chlorobiaceae* включает как пресноводные, так и морские виды, а последним необходим NaCl для роста (Imhoff, 2014). ЗСБ имеют характерные светособирающие структуры, хлоросомы, располагающиеся около цитоплазматической мембраны (Cohen-bazire et al, 1964; Staehelin et al, 1978). Белок Fenna-Matthews-Olson представляет собой водорастворимый белок бактериохлорофилл *a*, который отвечает за перенос энергии между хлоросомами и реакционным центром. Это характерная особенность ЗСБ, которая отсутствует у АНФБ (Blankenship et al, 1995a). ЗСБ – облигатные анаэробные и фототрофные бактерии. Попытки продемонстрировать рост в темноте не увенчались успехом. Таким образом, ЗСБ и *Chloracidobacterium* (Tank, Bryant, 2015a) – на настоящий момент единственные фототрофы, которые не могут расти в темноте; ПСБ и НПБ, АНФБ, гелиобактерии и некоторые цианобактерии способны к росту в темноте (Madigan et al, 2015). Во время роста ЗСБ сульфид (а также тиосульфат некоторыми видами, которые способны к его утилизации) окисляется до серы, который затем окисляется до сульфата (Gregersen et al, 2011). ЗСБ – единственная группа фототрофных бактерий, использующая обратный цикл трикарбоновых кислот в качестве пути фиксации углекислоты (Evans et al, 1966; Fuchs et al, 1980).

Зеленые несерные бактерии, получившие название аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий, относятся к филуму *Chloroflexi*, который помимо фототрофов содержит также нефототрофные организмы. За исключением недавно описанной нитчатой хлорофототрофной бактерии ‘*Ca. Roseilinea gracile*’, которая относится к классу *Anaerolineae* (Klatt et al, 2011; Thiel et al, 2016), хорошо описанные хлорофототрофные организмы в таксоне *Chloroflexi* включают монофилетическую линию в порядке *Chloroflexales*. Фототрофные бактерии этого порядка представлены термофильными (семейства *Chloroflexaceae* и *Roseiflexaceae*) и мезофильными (*Oscillochloridaceae*)

организмами. Виды, принадлежащие этим семействам, обладают схожими морфологическими признаками. Это многоклеточные нитчатые бактерии, обладающие скользящим типом движения и осуществляющие аноксигенный фотосинтез (Hanada, 2014). Представители семейств *Chloroflexaceae* и *Oscillochloridaceae*, как и ЗСБ, содержат хлоросомы, в то время как у бактерий из семейства *Roseiflexaceae* их нет. *Chloroflexus aurantiacus* использует 3-гидроксипропионатный путь фиксации углекислоты (Eisenreich et al, 1993; Holo, 1989; Sirevag, Castenholz, 1979; Strauss et al, 1992; Strauss, Fuchs, 1993; Zarzycki et al, 2009; Zarzycki, Fuchs, 2011), в то время как *Oscillochloris trichoides* ассимилирует углекислоту посредством цикла Кальвина (Ivanovsky et al, 1999; Tourova et al, 2006). Сравнительный геномный анализ (Klatt et al, 2007) показал, что три АНФБ, *Cfl. aggregans*, *Roseiflexus castenholzii* и *Roseiflexus* sp. RS-1, обладают набором генов 3-гидроксипропионатного цикла, однако фотоавтотрофный рост для этих бактерий показан не был (Hanada et al, 2002). Подробнее об этой группе бактерий рассказано в пункте 2.1.

Семейство *Heliobacteriaceae* (филум Firmicutes) состоит из 11 описанных видов бактерий (Madigan et al, 2010; Sattley, Madigan, 2014) и одного кандидатного таксона ‘*Candidatus Heliomonas lunata*’ (Asao et al, 2012). Гелиобактерии имеют грамположительную структуру клеточной стенки, характеризующуюся толстым слоем пептидогликана и отсутствием внешней мембраны. Подобно видам *Clostridium*, *Desulfotomaculum* и *Bacillus*, к которым гелиобактерии очень близки, гелиобактерии в основном являются почвенными обитателями, которые способны превращаться в термостойкие эндоспоры, позволяющие клеткам оставаться жизнеспособными во время неблагоприятных условий окружающей среды (Madigan, 2017). Гелиобактерии – строгие анаэробы. Гелиобактерии, описанные на настоящий момент, являются либо нейтрофильными, либо алкалофильными. Нейтрофильные виды обитают в различных почвах, в том числе связанных с горячими источниками, и классифицируются на три рода: *Heliobacterium* (типовой род, состоящий из пяти видов), *Heliobacillus* (один вид) и *Heliophilum* (один вид). Алкалофильные гелиобактерии, выделенные из почв и отложений содовых озер, включают виды рода *Heliorestis* (всего четыре), а также кандидатный таксон ‘*Heliomonas*’. Гелиобактерии хорошо растут в фотогетеротрофных условиях с пируватом в качестве источника углерода (Sattley et al, 2014; Sattley, Madigan, 2014). Кроме того, нейтрофильные виды способны к хемотрофному росту в темноте благодаря ферментации пирувата (Kimble et al, 1994). Автотрофный рост не наблюдался ни у одного из видов гелиобактерий (Sattley et al, 2014). Почти все виды гелиобактерий фиксируют азот (Asao, Madigan, 2010; Kimble, Madigan, 1992). Также гелиобактерии синтезируют уникальный

бактериохлорофилл – бхл *g*, который позволяет им поглощать свет такой длины волны, которую не используют конкурирующие фототрофы (Madigan, 2006).

Аэробные аноксигенные фототрофы (ААФ) были впервые выделены в чистую культуру почти 40 лет назад. ААФ представляют собой разнообразную группу бактерий, которые синтезируют бактериохлорофилл в кислородных условиях. Кислород им необходим для роста и фотосинтетического электронного транспорта, в отличие от других аноксигенных фототрофов. Все ААФ относятся к филуму Proteobacteria. Большинство ААФ относится к классу α -Proteobacteria, всего один вид, *Roseatales depolymerans*, принадлежит классу β -Proteobacteria, и два вида, *Congregibacter litoralis* и *Chromocurvus halotolerans*, к γ -Proteobacteria. Представители ААФ, относящиеся к β -proteobacteria доминируют в пресноводных средах обитания, а γ -proteobacteria – в соленых (Lehours, Jeanthon, 2015; Yurkov, Hughes, 2013; Zheng et al, 2015). По типу питания ААФ – облигатные гетеротрофы. Основным светособирающим пигментом является бактериохлорофилл *a*. Однако, несмотря на то, что ААФ осуществляют аноксигенный фотосинтез аналогично НПБ, он отличается тем, что не связан с фиксацией углерода, так как все ААФ не имеют ключевого фермента цикла Кальвина, RUBISCO (Yurkov, Hughes, 2013). Несмотря на то, что ААФ не способны к автотрофии, они фиксируют минимальное количество углекислоты через анаплеротические реакции (Yurkov, Hughes, 2013), хоть и на уровне, недостаточном для роста. Отличительная особенность ААФ – это способность к расщеплению очень сложных органических веществ с помощью широкого спектра белков и ферментов. Это делает их незаменимыми в цикле углерода как в солёных, так и в пресноводных системах, поскольку свободный углерод, как правило, для других микроорганизмов очень сложный для расщепления как структурно, так и химически (Fauteux et al, 2015).

Внутри филума Acidobacteria известен пока один представитель фототрофных бактерий – *Chloracidobacterium thermophilum* (Bryant et al, 2007). *Cab. thermophilum* – это аэробная хлорофототрофная бактерия с гомодимерным реакционным центром I типа I (РЦ), она также содержит бактериохлорофилл *a*-связанный белок Fenna-Matthews-Olson и хлоросомы, аналогичные таковым у Chlorobi. Бактериохлорофилл *c* и кетакаротиноиды – основные светособирающие пигменты в хлоросомах, в то время как бхл *a*, Zn-бхл *a'* и хлорофилл *a* были обнаружены в РЦ (Garcia Costas et al, 2012; Tsukatani et al, 2012). С помощью анализа генома было предсказано, что *Cab. thermophilum* – хлорофотогетеротроф, так как ни один из ключевых ферментов ни одного из путей фиксации углекислоты не был обнаружен. У *Cab. thermophilum* отсутствуют гены

сульфат-редукции, и поэтому для роста бактерии необходимы восстановленные источники серы (Tank, Bryant, 2015a; Tank, Bryant, 2015b). Также не были обнаружены гены азотфиксации и нитрат-редукции. *Cab. thermophilum* представляет собой хлорофотогеротрофную ацидобактерию, для роста которой необходимы микроаэробные условия и все три аминокислоты с разветвленной цепью, лизин и витамин В₁₂. Открытие и выделение в чистую культуру *Cab. thermophilum* оказалось возможным благодаря сочетанию современных молекулярных методов и методов классической микробиологии.

Таблица 1. Суммарная характеристика известных групп фототрофных бактерий (по (Zeng, Koblížek, 2017)).

Филум	Название для фототрофов	РЦ	Основные пигменты	Цикл фиксации CO ₂	Год открытия
Cyanobacteria	Цианобактерии	РЦ- I и II	Хлорофиллы, каротиноиды, фикобиллины	Цикл Кальвина	XIX в.
Proteobacteria	Пурпурные бактерии	РЦ- II	Бхл <i>a/b</i> , каротиноиды	Цикл Кальвина	XIX в.
Chlorobi	ЗСБ	РЦ- I	Бхл <i>a/c/d/e</i> , каротиноиды	Восстановительный цикл трикарбоновых кислот	1901, 1906
Chloroflexi	АНФБ	РЦ- II	Бхл <i>a/c</i> , каротиноиды	3-гидроксипропионатный цикл (цикл Кальвина у <i>Osc. trichoides</i>)	1974
Firmicutes	Гелиобактерии	РЦ- I	Бхл <i>g</i> , каротиноиды	Нет	1983
Acidobacteria		РЦ- I	Бхл <i>a/c</i> , каротиноиды	Нет	2007
Gemmatimonadetes		РЦ- II	Бхл <i>a</i> , каротиноиды	Нет	2014

В 2014-ом году была описана новая бактерия *Gemmatimonas (G.) phototrophica*, первый и пока единственный хлорофототроф, относящийся к филуму Gemmatimonadetes (Zeng et al, 2014). *G. phototrophica* представляет собой грамтрицательную палочковидную бактерию, растущую в полуаэробных условиях. Фотосинтетическими пигментами в клетках выступают бактериохлорофилл *a* и каротиноиды. Интересным фактом является то, что клетки *G. phototrophica*, растущие в темноте в течение одного года, всё равно имели в своём составе бактериохлорофилл *a*. Также *G. phototrophica* содержит каротиноиды осциллольной серии (oscillol), которые не играют роль в собирании света, а служат для фотозащиты. *G. phototrophica* содержит полностью функциональный фотосинтетический РЦ II типа, соединенный с эффективной электронно-транспортной цепью. Несмотря на наличие светособирающего аппарата, *G. phototrophica* не является облигатным фототрофом, поскольку для роста ей необходим органический субстрат и она способна к росту в темноте (Zeng, Koblížek, 2017).

2 Характеристика АНФБ

2.1 Биоразнообразие АНФБ

Филогенетический анализ не только чистых культур, но и обогащенных кокультур является ключом к пониманию филогенетического разнообразия АНФБ и взаимосвязи между ними, поскольку АНФБ представляют собой большую и разнородную группу микроорганизмов (таблица 2 и рис. 2). АНФБ относятся к филуму Chloroflexi, который был назван в честь первого открытого рода *Chloroflexus* и типового вида *Chloroflexus aurantiacus*, описанного в 1974-ом году (Pierson, Castenholz, 1974a). Все представители семейства *Chloroflexaceae*, к которому принадлежит *Chloroflexus aurantiacus*, являются термофилами зелёного цвета. Они содержат бактериохлорофилл *a* и *c* в качестве фотосинтезирующих пигментов, а последний присутствует во внутриклеточных везикулах, хлоросомах. *Cfl. aurantiacus* может расти фотогетеротрофно на свету и хемогетеротрофно в темноте, а некоторые штаммы, например, штамм ОК-70-fl, способны к фотоавтотрофному росту. При этом они фиксируют углекислоту в качестве единственного источника углерода в присутствии сульфида.

Другой вид рода *Chloroflexus* – это *Cfl. aggregans* с типовым штаммом MD-66 (Hanada et al, 1995b), выделенный из горячего источника Okukinu Meotobuchi, Япония. Характерной особенностью *Cfl. aggregans* является способность к образованию матоподобных плотных агрегатов нитей, которой не обладает *Cfl. aurantiacus*. Данная бактерия может расти либо анаэробно как фотогетеротроф, либо аэробно как хемогетеротроф. Уровень сходства последовательностей гена 16S рРНК между *Cfl. aurantiacus* и *Cfl. aggregans* очень низкий (около 93%).

Недавно был описан новый вид рода *Chloroflexus* – это *Cfl. islandicus* с типовым штаммом isl-2, выделенный из гейзера Строккур (Исландия) (Gaisin et al, 2017). Согласно филогенетическому анализу 16S рРНК, штамм isl-2 вместе с другими видами рода *Chloroflexus* принадлежит к одному кластеру. Уровень сходства последовательностей гена 16S рРНК с наиболее близким штаммом *C. aggregans* MD-66 составляет 97.0%.

Еще одно семейство термофильных АНФБ, *Roseiflexaceae*, было предложено в 2013-ом году (Gupta et al, 2013). Оно состоит из двух родов: *Roseiflexus* (Hanada et al, 2002) и *Heliothrix* (Pierson et al, 1985), нитчатых бактерий от красновато-бурого до красно-оранжевого цвета. На дендрограмме эти две филогенетические удаленные друг от друга бактерии кластеризуются вместе. Они представляют собой факультативных фототрофов с оптимальной температурой роста 45-55°C, а в качестве главных фотосинтетических пигментов содержат бактериохлорофилл *a* и производные кетомоксикоксантина. В

отличие от других представителей подпорядка *Chloroflexinae* *Roseiflexus* и *Heliothrix* не содержат хлоросом.

Heliothrix oregonensis – это первая обнаруженная АНФБ, не содержащая хлоросом (Pierson et al, 1985). Бактерия была выделена как стабильная сокультура с нефототрофной аэробной бактерией, *Isosphaera pallida*. Бактерия росла фотогетеротрофно. Последовательность гена 16S рРНК *Htr. oregonensis* была частично определена (Weller et al, 1992). Уровень сходства по гену 16S рРНК с другой бактерией этого семейства, *Roseiflexus castenholzii* составляет всего 78.6%.

Второй представитель семейства *Roseiflexaceae*, *Roseiflexus castenholzii*, был описан в 2002-ом году. *Rof. castenholzii* образует четкий красный слой внутри микробного мата и растет фотогетеротрофно в анаэробных условиях на свету и аэробных в темноте. Ни фотоавтотрофный, ни ферментативный рост не были показаны, как и наличие инвагинаций внутрицитоплазматической мембраны (Hanada et al, 2002).

Oscillochloris trichoides – единственный представитель семейства *Oscillochloridaceae* и вообще мезофильных АНФБ, доступный в чистой культуре (Керпен et al, 2000; Керпен et al, 1994; Кеппен, 2010). Он является облигатным анаэробом и фототрофом. Фотолитотрофный рост возможен в присутствии сульфида и/или молекулярного водорода в качестве доноров электронов. Сульфид окисляется до элементарной серы и откладывается вне клетки. Также в 1975 году описана АНФБ *Chloroflexus aurantiacus* var. *mesophilus*, ныне утерянная, единственная мезофильная АНФБ в чистой культуре, поддерживающая рост в анаэробных и аэробных условиях (Горленко, 1975).

Бактерия *Oscillochloris chrysea* ранее считалась цианобактерией *Oscillatoria coerulea* Gicklhorn, 1921. Являясь самой крупной АНФБ, 4.5-5.5 мкм шириной, *Osc. chrysea* была практически единственным фотосинтезирующим микроорганизмом на поверхности сероводородного ила пресного ручья, загрязненного бытовыми сточными водами (Пивоварова, Горленко, 1977). В анаэробной зоне *Osc. chrysea* располагалась в анаэробной сульфидсодержащей зоне, тогда как ночью мигрировала в кислородсодержащую зону, что позволяет предположить, что в темноте этот микроорганизм переходит на аэробный метаболизм подобно *Chloroflexus*.

Второй род семейства *Oscillochloridaceae* – *Chloronema*. Он представлен двумя видами, и обе бактерии не выделены в чистую культуру. *Chloronema giganteum* была выделена из планктона озера Лесная Ламба в Карелии и позже описана в озере Вехтен (Нидерланды) (García-Gil, Abellà, 1992; Steenbergen, Korthals, 1982; Дубинина, Горленко, 1975). Клетки достаточно крупные 2.0-2.5 мкм в ширину, и их чехлы пропитаны окислами

железа. Встречаются два типа трихомов одинакового диаметра: прямые или закрученные в спираль. Количество спиральных форм примерно в десять раз меньше. Бактерия может развиваться в зонах, не содержащих сероводород. Про *Chloronema spiroideum* известно мало, её чехол тоже более или менее оруднен окислами железа. Передвигается скольжением по спирали внутри широкого чехла. Также представители рода *Chloronema* – единственные АНФБ (до начала данного исследования), синтезирующие бактериохлорофилл *d*.

К группе АНФБ принадлежат так же несколько кандидатных таксонов – это ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’, ‘*Candidatus Chloroploca asiatica*’, ‘*Candidatus Roseilinea gracile*’ и ‘*Candidatus Chloranaerofilum corporosum*’. Самым интересным в этом ряду является бактерия ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’, филогенетически удаленная от других АНФБ. ‘*Ca. Chlorothrix halophila*’ была выделена из гиперсоленого мата соленого пруда Экспортатора Де Саль (Герреро Негро, Мексика) и для своего роста использует высокие концентрации сульфида (до 100 мМ) и NaCl (до 120 г/л). Также бактерия способна к фотоавтотрофному росту в присутствии сульфида (в отсутствии сульфида фотосинтез не наблюдался).

В 2014-ом году был описан второй кандидатный таксон в группе АНФБ – ‘*Candidatus Chloroploca asiatica*’ (Gorlenko et al, 2014). 5 штаммов ‘*Ca. Chloroploca asiatica*’ были выделены из микробных матов щелочных озер Бурятии, Забайкальского края и Монголии, а также из обрастаний в русле щелочного сульфидного источника гидротермальной системы Умхей (Бурятия). Для этих бактерий характерно образование коротких, прямых, изогнутых или волнистых трихомов длиной 15-30 мкм и диаметром около 1 мкм, окруженных тонким чехлом, сорбирующим железо. ‘*Ca. Chloroploca asiatica*’ филогенетически удалена от ближайших соседей на 9–10%.

В 2016-2017-ом годах были описаны еще два кандидатных таксона – это термофильные бактерии ‘*Ca. Roseilinea gracile*’ и ‘*Ca. Chloranaerofilum corporosum*’. Бактерия ‘*Ca. Chloranaerofilum corporosum*’ относится к подпорядку *Chloroflexineae*, однако значительно отличается от всех известных представителей филума *Chloroflexi* (сходство последовательностей гена 16S рРНК менее 91%). Наиболее близким организмом является *Osc. trichoides*, однако в отличие от него, ‘*Ca. Chloranaerofilum corporosum*’ фиксирует углекислоту с помощью 3-гидроксипропионатного цикла (Tank et al, 2017).

Таблица 2. Сравнительная характеристика мезофильных АНФБ.

Семейство	<i>Oscillochloridaceae</i>						
	<i>Oscillochloris</i>		<i>Chloronema</i>				
Род							
Вид	<i>Osc. trichoides</i>	<i>Osc. chrysea</i>	<i>Cln. giganteum</i>	<i>Cln. spiroideum</i>	' <i>Candidatus</i> Chlorothrix halophila'	' <i>Candidatus</i> Chloroploca asiatica'	<i>Chloroflexus aurantiacus</i> var. <i>mesophilus</i>
Типовой штамм	DG-6	Не доступна	Не доступна	Не доступна			
Место обитания	Мезофильные, пресноводные, эстуарные и щелочные воды		Мезофильный планктон		Гиперсолёный мат	Микробные маты содовых озер и обрастания термальных сульфидных источников	Донные осадки пресных озер
Диаметр клеток (мкм)	1.0-1.5	4.5-5.5	2.0-2.5	1.5-2.0	2.0-2.5	0.7-1.0	0.5-0.7
Чехол	+/- (+ у DG-6)	-	+	+	+-	+	+
Газовые вакуоли	+	+	+	+	-	+	-
Окраска по Граму	Вариабельно	Грамполож.	НО	НО	Вариабельно	Вариабельно	Грамотриц. (?)
Топт., °С	28-30	10-20	4-15	Мезофил	35-38	25-32	20-25
Метаболизм							
• Фотогетеротроф	+ (фотолито-гетеротроф)	НО	Предположительно +	НО	НО	-	+
• Фотоавтотроф	+	+	+	НО	+	+	-
• Аэробный рост	-	+	+	НО	-	-	+
Хлоросомы	+	+	+	+	+	+	+
Бактериохлорофилл	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>	<i>d (и c)</i>	<i>d (и c)</i>	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>
Пики <i>in vivo</i> (нм)	456, 748, 852	460, 760, 810, 850	720	НО	461, 683, 759, (850)	462, (515), 742, 805, 863	460, 755
Источник	(Keppen et al, 2000; Keppen et al, 1994)	(Горленко, Пивоварова, 1977)	(Gorlenko, Pierson, 2001; Дубинина, Горленко, 1975)		(Klappenbach, Pierson, 2004; Olson et al, 2007)	(Gorlenko et al, 2014)	(Горленко, 1975; Пивоварова, Горленко, 1977)

НО – не определено

Таблица 2 (продолжение). Сравнительная характеристика термофильных АНФБ. НО – не определено

Семейство	<i>Chloroflexaceae</i>				<i>Roseiflexaceae</i>		
Род	<i>Chloroflexus</i>				<i>Heliothrix</i>	<i>Roseiflexus</i>	
Вид	<i>Cfl. aurantiacus</i>	<i>Cfl. aggregans</i>	<i>Cfl. islandicus</i>	' <i>Candidatus Chloranaerofilum corporosum</i> '	<i>Htr. oregonensis</i>	<i>Rfl. castenholzii</i>	' <i>Candidatus Roseilinea gracile</i> '
Типовой штамм	J-10-fl (ATCC 29366, DSM 635)	MD-66 (DSM 9485)	isl-2 (VKM B-2978, DSM 29225, JCM 30533)		IS/F-1 (сокультура с <i>Isophaera pallida</i>)	HLO8 (DSM 13941, JCM 11240)	
Место обитания	Термофильные горячие источники, под матом			Термофильные горячие источники	Термофильные горячие источники, на поверхности мата	Термофильные горячие источники, под матом	Термофильные горячие источники
Диаметр клеток (мкм)	0.7-1.2	1.0-1.5	~0.6	2	1.5	0.8-1.0	0.2
Чехол	+-	-	-	НО	-	-	НО
Газовые вакуоли	-	-	-	НО	-	-	НО
Окраска по Граму	Грамотриц.	Грамотриц.	Грамотриц.	НО	НО	Грамотриц.	НО
Топт., °С	55	55	55 (46-59)	52	40-55	50	термофил
Метаболизм							
• Фотогетеротроф	+	+	+	+	+	+	НО
• Фотоавтотроф	+- (разные штаммы)	-	-	НО	НО	-	НО
• Аэробный рост	+	+	+	-	НО	+	+
Хлоросомы	+	+	+		-	-	-
Бактериохлорофилл	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>a</i>
Пики <i>in vivo</i> (нм)	462, 740, 808, 868	464, 740, 808, 868	461, 741, 805, 868	467, 747	795, 865	801, 878	НО
Источник	(Hanada et al, 1995b; Pierson, Castenholz, 1974a; Pierson, Castenholz, 1974b)		(Gaisin et al, 2017)	(Tank et al, 2017; Thiel et al, 2016; Thiel et al, 2018)	(Pierson et al, 1985; Pierson et al, 1984)	(Hanada et al, 2002)	(Tank et al, 2017; Thiel et al, 2016)

Бактерия *Kouleothrix aurantiaca*, представитель группы, ранее известной как ‘Eikenboom morphotype 1851’ (Seviour, Blackall, 1998), имеет все гены, необходимые для аноксигенного фотосинтеза: РЦ II типа, полный путь биосинтеза бактериохлорофилла путь и цитохром *bc* комплекс, но не имеет Альтернативного Комплекса III (Ward et al, 2018). Несколько штаммов этой бактерии были выделены из активного ила в установке для очистки промышленных сточных вод (Kohn et al, 2002). Клетки бактерии оранжевого цвета, они организованы в длинные, достигающие до нескольких миллиметров, нити, растущие при температуре 25-30°C. Филогенетически бактерия *Kouleothrix aurantiaca* тесно связана с родом *Roseiflexus*, однако фототрофный рост культуры не наблюдался.

2.2 Морфология и особенности строения клеток АНФБ

АНФБ филума *Chloroflexi* обладают следующими фенотипическими особенностями: многоклеточная нитчатая морфология (клетки АНФБ в диаметре от 0.2 мкм у ‘*Candidatus Roseilinea gracile*’ до 4.5-5.5 мкм у *Osc. chrysea*), подвижность при помощи скольжения и способность к аноксигенному фотосинтезу. Различные характеристики АНФБ приведены в таблице 2.

2.2.1 Способность к скольжению

Скользящая подвижность, характерная для всех АНФБ, – это способ их перемещения на твердой или полутвердой поверхности в отсутствие жгутикоподобных органов (Castenholz, 1982). Эта способность позволяет микроорганизму образовывать микробные маты в естественных условиях вместе с цианобактериями и другими бактериями. Скорость скольжения составляет 0.01-0.04 мкм/с (на поверхности 1.5%-ного агара) у *Chloroflexus aurantiacus* (Pierson, Castenholz, 1974a) до 10 мкм у *Chloronema* spp. (Gorlenko, Pierson, 2001). Способность к скольжению может быть утрачена в культуре. Внутри нитей клетки упорядочены, размножение происходит простым делением, а разветвление нитей не наблюдается (Overmann, 2007). С помощью микроскопических стеклянных бус было показано, что скольпящее движение происходит за счет поверхностных клеточных структур (Fukushima et al, 2016).

Уникальной особенностью бактерии *Chloroflexus aggregans* при росте на свете является образование матообразных плотных агрегатов. Агрегирование наблюдали в течение 20-30 мин каждый раз после встряхивания (Hanada et al, 1995b).

2.2.2 Клеточное строение

Клетки АНФБ красятся грамотрицательно (Hanada et al, 1995b; Hanada et al, 2002; Pierson, Castenholz, 1974a). Однако химические свойства клеточной стенки *Chloroflexi*

напоминают химические свойства грамположительных бактерий, поскольку (1) пептидогликан содержит L-орнитин в качестве диаминокислоты, (2) образует комплекс с полисахаридом и (3) отсутствует липополисахарид-содержащая внешняя мембрана, а также сами липопротеины, характерные для других грамотрицательных бактерий (Castenholz, 2001; Sutcliffe, 2011). Единственная АНФБ, которая красится грамположительно, – это *Oscillochloris chrysea*, которая имеет очень толстый слой пептидогликана и не содержит внешней мембраны (Горленко, Пивоварова, 1977).

Самым общим типичным морфологическим признаком АНФБ является объединение клеток в трихомы (нити), что отражено в названии группы. Толщина трихомов варьирует в зависимости от вида бактерии: от 0.2 мкм, как у '*Ca. Roseilinea gracile*', и до 5.5, как у *Osc. chrysea* (Thiel et al, 2016; Горленко, Пивоварова, 1977). Для бактерий рода *Chloronema*, обитающих в хемоклине стратифицированных озер, характерно образование трихомов спиралевидной формы при повышении концентрации сероводорода в среде (Abella, Garcia-Gil, 1992). Однако у большинства АНФБ трихомы прямые. У некоторых представителей образуется внешний слой материала, покрывающий трихом, так называемый чехол, видимый на концах нитей (Pierson, Castenholz, 1974a). Молодые трихомы активно высвобождаются из чехла, как показано для бактерий рода *Chloronema* (Дубинина, Горленко, 1975). У бактерии '*Ca. Chloroploca asiatica*' в чехле могут находиться сразу несколько нитей (Gorlenko et al, 2014). При избытке в среде солей железа чехлы бактерии '*Ca. Chloroploca asiatica*' приобретали темно-серый цвет, скорей всего это связано с накоплением в нем сульфида железа.

Практически у всех мезофильных АНФБ (кроме '*Ca. Chlorothrix halophila*') в клетках присутствуют газовые вакуоли. Газовые вакуоли представляют собой низкоплотные, заполненные газом тельца включения, которые обычно синтезируются фототрофными микроорганизмами. Они обеспечивают плавучесть и контролируют положение клетки в столбе жидкости, в большинстве случаев позволяя перемещаться с глубины к поверхности, ближе к свету и кислороду (Shively et al, 2006) и находиться во взвешенном состоянии в планктоне озер, как например *Chloronema giganteum* (Дубинина, Горленко, 1975). Впервые газовые вакуоли у АНФБ были обнаружены у представителей рода *Chloronema* (Дубинина, Горленко, 1975). В клетках *Chloronema* газовыми вакуолями заполнена центральная часть клеток. В клетках '*Ca. Chloroploca asiatica*' газовые вакуоли сосредоточены возле клеточных перегородок. Похожий тип локализации газовых вакуолей описан для *Oscillochloris* spp. (Горленко, Коротков, 1979; Горленко, Пивоварова, 1977; Кеппен и др., 1993). *Oscillochloris trichoides* образует газовые вакуоли на поздних стадиях роста культуры. Газовые вакуоли располагаются рядом с клеточными перегородками, иногда по обе стороны от перегородки (Кеппен и др., 1993).

У многих АНФБ в цитоплазме встречаются включения поли- β -оксималяной кислоты, которая играет роль запасного вещества (Keppen et al, 1994; Pierson, Castenholz, 1974a). В ряде случаев наблюдаются гранулы полифосфата (Gorlenko et al, 2014; Pierson, Castenholz, 1974a). Для бактерии *Chloroflexus aurantiacus* показано образование внеклеточной серы за счет окисления сульфида при фотоавтотрофном росте (Madigan, Brock, 1977). Образование внутриклеточной серы не было описано, что нашло отражение в старом названии группы «зеленые несерные бактерии».

2.2.3 Хлоросомы

Наличие хлоросом является отличительной чертой всех АНФБ подпорядка *Chloroflexinae*. Представители семейства *Roseiflexaceae* не имеют их в своем составе (Hanada et al, 2002; Hanada, Pierson, 2006). Хлоросомы – основные антенные комплексы в ЗСБ, АНФБ и фототрофных ацидобактериях, которые впервые были описаны в 1964 году (Cohen-bazire et al, 1964). Тот факт, что хлоросомы обнаружены в трех неродственных группах бактерий, свидетельствует о том, что одна группа должна была получить их от другой путем латерального переноса гена (Olson, 1998). Это крупнейшие известные фотосинтетические светособирающие антенны, имеющие в своем составе до 250 тыс. бактериохлорофиллов (бхл) *c/d/e* (у представителей *Chloroflexi* только бхл *c* или *d*). Хлоросомы прикреплены к однослойной мембране и базальной пластинке (Oostergetel et al, 2010). Практически во всех АНФБ хлоросомы расположены по периферии клеток и только в крупных ‘*Ca. Chlorothrix halophila*’ и *Osc. chrysea* хлоросомы ориентированы перпендикулярно длинной оси трихомов (Klappenbach, Pierson, 2004; Горленко, Пивоварова, 1977). Форма хлоросом удлинённая, размером 100-200 нм в длину и 40-60 нм в диаметре. Наружный слой хлоросомы представляет собой липидный монослой толщиной до 3 нм, содержащий гликолипиды и жирные кислоты. (Oostergetel et al, 2010; Saer, Blankenship, 2017; Sørensen et al, 2008; Staehelin et al, 1980). Внутри этого липидного монослоя присутствуют молекулы бхл *c*, *d* или *e*, каротиноиды, бактериохлорофилл *a*, хиноны, а в случае более термофильных видов – сложные эфиры (Oostergetel et al, 2010; Sørensen et al, 2008). Размер хлоросомы не одинаков у разных организмов. Например, *Chloroflexus aurantiacus* имеет небольшие хлоросомы, каждая из которых содержит ~50 000 молекул бактериохлорофилла *c* (Adams et al, 2013).

Хлоросомы обеспечивают фотосинтез при очень низкой интенсивности света путем сверхбыстрого переноса возбуждения на реакционные центры и позволяют организмам, имеющим хлоросомы, жить при необычайно низкой интенсивности света, при которой другие фототрофные организмы расти не могут. На примере *Chloroflexus* показано, что оболочка хлоросомы присутствует даже тогда, когда бактерия растет в нефотосинтетических (аэробных)

условиях, и заполняется бактериохлорофиллом в условиях, которые индуцируют фотосинтетический аппарат (Oelze, Golecki, 1995; Olson, 1998).

Интересным свойством хлоросом является тот факт, что большинство пигментов формируется посредством самосборки. Это основная причина, по которой хлоросомы являются источником вдохновения для дизайна системы искусственного освещения (Oostergetel et al, 2010).

2.3 Пигментный состав клеток

2.3.1 Бактериохлорофиллы

Хлорофиллы получили свое название от компиляции двух греческих слов: «хлорос» (зеленый) и «филлос» (листья). Этот термин был введен в 1818 году двумя французскими химиками Joseph Bienaime' Caventou и Pierre Joseph Pelletier (1818).

Бактериохлорофиллы представляют собой хлорины с Mg в качестве центрального атома порфиринового кольца. Однако для аэробной АФБ *Acidiphilium rubrum* впервые был описан фотосинтез при участии Zn-содержащего бхл *a* (Zn-бактериофеофитин) (Wakao et al, 1996), а бактерия '*Ca. C. thermophilum*' имеет уникальный РЦ, который содержит и Mg-бхл, и Zn-бхл *a* (Tsukatani et al, 2012).

Основным компонентом хлоросомы являются бхл *c*, *d* или *e*, которые представляют собой основные светособирающие пигменты и иногда называются «хлоросомными бактериохлорофиллами» или «*Chlorobium* хлорофиллами». У АНФБ – это бхл *c* и *d* (бхл *e* встречается в ЗСБ). В хлоросоме обычно присутствует только один из этих типов бхл, хотя бхл *c* и *d* иногда встречаются в хлоросомах одного организма, таким примером среди АНФБ является *Chloronema giganteum* (Gich et al, 2003), а также '*Candidatus Viridilinea mediisalina*' и '*Candidatus Viridilinea halotolerans*', что было обнаружено в представленном исследовании. Бхл *c*, *d* и *e* имеют несколько уникальных свойств. Они встречаются исключительно в хлоросомах и, самое главное, они имеют склонность к самоорганизации в крупные палочковидные агрегаты. Обычно максимумы поглощения *in vivo* для этих пигментов составляют 740-750 нм для бхл *c* (740 нм для ЗСБ и 750 нм для АНФБ), 725 для бхл *d* и 712 для бхл *e*. В дополнение к бхл *c*, *d* и *e*, хлоросомы всех типов также содержат бхл *a*, который не образует агрегатов. Бхл *a* встречается в пигментно-белковом комплексе внутри базальной пластинки. Содержание бхл *a* обычно составляет 1% от общего количества бхл в *Chlorobi* и около 5% в *Chloroflexi* (Pšenčík et al, 2014).

2.3.2 Каротиноиды

Хлоросомы также содержат значительное, хотя и переменное количество каротиноидов. Каротиноиды – широкая группа пигментов, синтезируемая фототрофными организмами, которые делятся на две подгруппы: 1) каротины, представляющие собой углеводороды, и 2) ксантофилы, кислородсодержащие производные каротинов. По дислокации они также подразделяются на два разных пула: (1) каротиноиды внутренней части хлоросомы и (2) каротиноиды, связанные с бхл *a* в базальной пластинке (Schmidt, 1980). В фотосинтезирующих организмах в целом функции каротиноидов состоят в светособирании, фотозащите, а в некоторых системах в стабилизации структуры (Blankenship, Matsuura, 2003; Frank, Cogdell, 1996). Каротиноиды могут служить либо в качестве донора энергии для молекул бхл, либо в качестве акцептора энергии для молекул бхл в возбужденном триплетном состоянии - 3Бхл^* . Такой бхл особенно опасен для клеток, подвергшихся воздействию кислорода, поскольку они могут возбуждать основное состояние от $^3\text{O}_2$ до $^1\text{O}_2^*$, долгоживущей активной формы кислорода. Каротиноиды принимают энергию от 3Бхл^* и безопасно ее рассеивают через медленную фосфоресценцию или внутреннюю конверсию (Arellano et al, 2007). Основными каротиноидами в АНФБ являются γ -каротин, β -каротин (каротиноиды, которые не содержат кислорода) и их производные, которые вместо ϕ -концевой группы имеют одно или два β -кольца (Halfen et al, 1972; Maresca et al, 2008). В *Chloroflexus* γ -, так и β -каротин являются основными каротиноидами, расположенными в хлоросомах, в то время как гидроксикаротингликозидный эфир расположен главным образом в цитоплазматических мембранах (Takaichi et al, 1995). Хотя функции этих сложных эфиров еще не изучены, они могут выполнять важные функции в мембране.

У *R. castenholzii* каротиноиды располагаются в цитоплазматической мембране. Метоксикетомиксококсантин, содержащийся у *Roseiflexus* представляет собой новый каротиноид, близкий спириллоксантину и сфероидену (Takaichi, 1999), и это первый пример такого каротиноида в организмах, отличных от пурпурных бактерий. Кетомиксококсантингликозидный эфир также является основным каротиноидом. Различия в каротиноидах позволяют *Rof. castenholzii* поглощать более длинноволновый свет, чем может поглощать *Chloroflexus* (Takaichi, 2001).

Относительное поглощение каротиноидов регистрируется в области спектра ~~области~~ 400-550 нм. Количество каротиноидов зависит от вида бактерии, фазы роста, света и температуры (Oelze, Golecki, 1995). В целом каротиноиды составляют до 10% от общего числа пигментов в каждой хлоросоме (Oostergetel et al, 2010). Измерения флуоресценции в стационарном состоянии на изолированных хлоросомах показывают, что эффективность

переноса энергии от каротиноидов до бхл *c* составляет 50-80% (Dorssen van et al, 1986; Melø et al, 2000).

2.3.3 Хиноны

Хиноны играют роль гасителей возбуждения для уменьшения скорости фотосинтеза в присутствии кислорода (Frigaard et al, 1997). Например, реакционный центр ЗСБ содержит восприимчивые Fe-S кластеры, которые в присутствии кислорода и энергии, полученной из хлоросомы, могут образовывать супероксид (O_2^-), другую активную форму кислорода. Таким образом, присутствие хинонов – это механизм выживания клеток в условиях окислительного стресса (Blankenship, Matsuura, 2003; Wang et al, 1990). Количество хинонов составляет 0.1 моль на 1 моль бхл. Хлоросомы из ЗСБ в основном содержат хлоробиумхинон (1'-оксименахинон-7) с небольшим количеством неидентифицированного менахинона, тогда как хлоросомы из АНФБ содержат только менахинон (Frigaard et al, 1997; Gaisin et al, 2017; Keppen et al, 2000). Хлоросомы из '*Ca. Chloracidobacterium*' содержат восстановленную производную менахинона (Costas et al, 2012).

3 Физиологические особенности

3.1 Отношение к температуре, соли, pH

3.1.1 Отношение к температуре

АНФБ по отношению к температуре делятся на термофильных и мезофильных (таблица 2). Термофильные фототрофные бактерии считаются одними из самых древних организмов на Земле (Cavalier-Smith, 2010). В Докембрийском океане (3.5-2 млрд. лет назад) средняя температура воды составляла, вероятно, около 55-85°C (Knauth, 2005; Robert, Chaussidon, 2006) и поэтому была подходящей для предков термофильных АНФБ, таких как *Chloroflexus*, *Heliothrix* и *Roseiflexus* (Grouzdev et al, 2015). Наиболее термотолерантный представитель АНФБ и фототрофных бактерий в целом – *Chloroflexus aurantiacus*, который может расти при температуре до 70°C. Оптимальной для него является температура 55°C (Pierson, Castenholz, 1974a), как и для *Chloroflexus aggregans* и *Chloroflexus islandicus* (Gaisin et al, 2017; Hanada et al, 1995b). При таких же температурах (56-60°C) росла бактерия *Heliothrix oregonensis* (Pierson et al, 1985). Для *Roseiflexus castenholzii* оптимальная температура составляет 45-55°C (Hanada et al, 2002), а штаммы *Roseiflexus* sp. RS-1 и RS-2 имеют более высокий оптимум 55-60°C (Meer van der et al, 2010).

Среди мезофильных представителей АНФБ наиболее низким оптимумом роста обладают *Cln. giganteum* (4-15°C) и *Osc. chrysea* (10-20°C) (Gorlenko, Pierson, 2001; Горленко, Пивоварова, 1977). Для *Osc. trichoides* и ‘*Candidatus Chloroploca asiatica*’ наиболее подходящей является температура ~30°C (Gorlenko et al, 2014; Keppen et al, 1994), а для ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’ ~ 35–38°C (Klappenbach, Pierson, 2004).

3.1.2 Отношение к соли

Все АФНБ по отношению к соли делятся на пресноводные, галофильные и галотолерантные. Галофильной бактерией является ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’, растущая при концентрации NaCl 5-12% (Klappenbach, Pierson, 2004), галотолерантной – ‘*Candidatus Chloroploca asiatica*’ (Gorlenko et al, 2014), а другие представители (*Chloroflexus*, *Roseiflexus*, *Heliothrix*, *Chloronema*, *Oscillochloris*) являются пресноводными (Gorlenko, Pierson, 2001; Hanada et al, 2002; Keppen et al, 1994; Pierson et al, 1985; Горленко, Пивоварова, 1977; Дубинина, Горленко, 1975).

3.1.3 Отношение к pH

Все АНФБ в основном являются алкалотолерантами с оптимальным слабощелочным pH среды 7.5-8.0. В наиболее широком диапазоне pH растут *Chloroflexus islandicus* (6.1-9.3) и *Roseiflexus castenholzii* (6.0-9.0) с оптимумом pH ~ 7.5-8.0 (Gaisin et al, 2017; Hanada et al, 2002). Бактерии *Osc. trichoides*, *Chloroflexus aggregans*, ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’ и разные штаммы *Chloroflexus aurantiacus* растут при pH 7.0-9.0 с оптимумом 7.5-8.0 (для *Chloroflexus aggregans* более узкий оптимум pH 7.5) (Klappenbach, Pierson, 2004; Hanada et al, 1995b; Keppen et al, 1994; Pierson, Castenholz, 1974a). Для *Heliothrix oregonensis* оптимальный pH 8.0-8.5 и ‘*Candidatus Chloroploca asiatica*’ pH 8.0 (Gorlenko et al, 2014; Pierson et al, 1985).

3.2 Фотосинтез

Фотосинтез – это использование солнечной энергии растениями, водорослями и некоторыми бактериями для синтеза сложных органических молекул (Amesz, 1987; Encyclopedia of Plant Physiology Photosynthesis III Vol 19., 1986), проходящий при участии фотосинтетических пигментов (хлорофилл у растений, бактериохлорофилл у бактерий и бактериородопсин у архей). Фототрофия относится к метаболическому процессу, в котором для роста организмы превращают световую энергию в химическую. Таким образом, все фотосинтетические бактерии являются фототрофами, но не все фототрофные бактерии являются фотосинтетиками (Bryant, Frigaard, 2006).

В деталях фотосистема АНФБ была изучена главным образом на штаммах вида *Chloroflexus aurantiacus*, который стал модельным объектом для изучения биологии этой

группы в целом. АНФБ имеют химерную фотосистему, сочетающую свойства фотосистем ЗСБ (наличие хлоросом) и пурпурных бактерий (коровый антенный комплекс B808-866), а также обладают некоторыми уникальными электрон-транспортными белками, отличными от других фототрофных бактерий.

У ЗСБ хлоросома соединена с фотореакционным центром через специальный пигментно-белковый комплекс, образованный FMO-белком (*fmo*-белок), который представляет собой водорастворимый белок бхл *a*, переносящий энергию между хлоросомами и РЦ (Fenna, Matthews, 1975). В отличие от ЗСБ, АНФБ не имеют в своем составе *fmo*-белка. В АНФБ энергия возбуждения от хлоросом проходит через небольшой белок, CsmA, находящийся в базальной пластинке (рис. 3).

Базальная пластинка (B798 light-harvesting baseplate) является посредником в передаче энергии от хлоросомных бактериохлорофиллов *c*, *d* или *e* к мембранной антенне и РЦ. Она имеет характерный максимум поглощения при 798 нм и состоит в основном из копий CsmA-белка, молекул бхл *a* и каротиноидов. CsmA является наиболее распространенным белком хлоросома и составляет около половины общего содержания белков в хлоросоме (Frigaard et al, 2004). Каждый CsmA-белок специфически связывается по меньшей мере с одной молекулой бхл *a* и далее – с каротиноидами (Blankenship et al, 1995b; Frigaard, Bryant, 2006; Oelze, Golecki, 1995; Staehelin et al, 1978; Staehelin et al, 1980). В АНФБ отношение содержания бхл *a*, находящегося в базальной пластинке, к бхл *c* составляет около 1:20 (Schmidt, 1980).

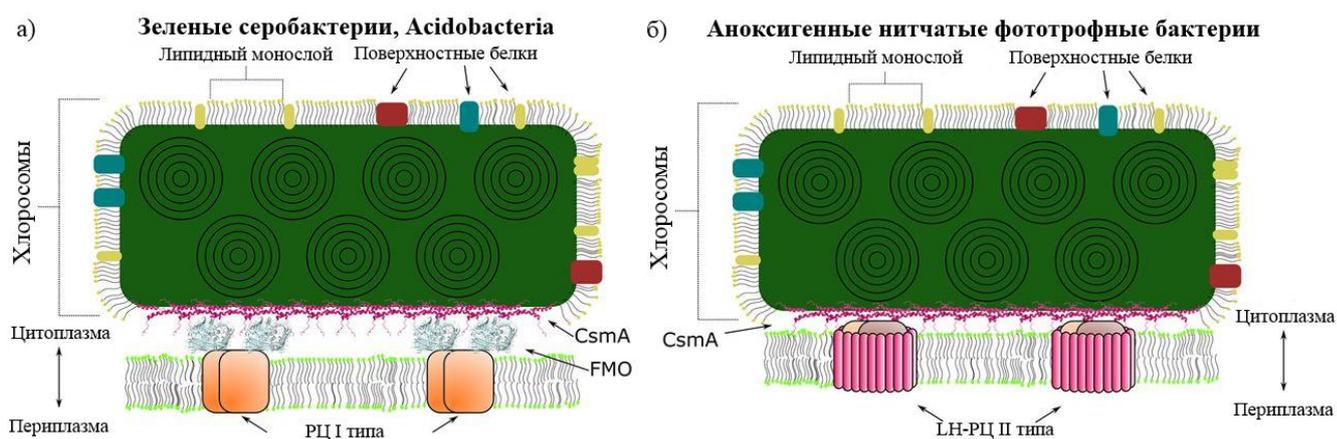


Рисунок 3. Передача световой энергии от хлоросом к реакционному центру у ЗСБ, Acidobacteria (а) и АНФБ (б). Хлоросома покрыта липидным монослоем, содержащим множество поверхностных встроенных внутрь белков. Внутри монослоя множество бактериохлорофиллов, хинонов и каротиноидов, показанных концентрическими кругами. Структура CsmA базальной пластинки показана розовым цветом. (а) ЗСБ и Acidobacteria содержат FMO-белок, который передает энергию в РЦ I типа. (б) В АНФБ интегральный комплекс LH1 / LH2-подобных антенн и РЦ II типа (цит. по (Saer, Blankenship, 2017)).

От базальной пластинки энергия от бактериохлорофиллов поступает в мембран-связанный светособирающий комплекс (ЛН-комплекс В808-866, названный в соответствии с его максимумами поглощения; антенна РЦ, или коровая антенна), который находится в тесной связи с РЦ. Светособирающий комплекс представляет собой группу трансмембранных белков, прилегающих к РЦ в виде кольца (Collins et al, 2010; Xin et al, 2005). Комплекс содержит три молекулы бхл *a* на два антенных полипептида, которые аналогичны α -и β -субъединицам ЛН1 и ЛН2 пурпурных бактерий (Wechsler et al, 1985; Wechsler et al, 1987). *R. castenholzii* не содержит хлоросомы, но содержит ЛН-комплекс, который, как правило, аналогичен найденному в *Sfl. aurantiacus*, однако его максимумы поглощения составляют около 800 и 880 нм (Hanada et al, 2002; Yamada et al, 2005).

ЛН-комплекс передает энергию непосредственно на реакционный центр. АНФБ содержат хиноновый тип РЦ (РЦ-II), подобный тому, который обнаружен в пурпурных бактериях (филум Proteobacteria), тогда как ЗСБ содержат FeS тип РЦ (РЦ-I), аналогичный обнаруженным в гелиобактериях (филум Firmicutes) и в фотосистеме I цианобактерий и хлоропластов (Hillier, Babcock, 2001). В качестве вторичного акцептора электронов выступает молекула хинона (Blankenship et al, 1983). Главные отличия РЦ АНФБ от РЦ пурпурных бактерий состоят в следующем. Во-первых, АНФБ имеют только две полипептидные субъединицы – L и M, которые являются гомологами субъединиц пурпурных бактерий, но они не содержат гомолога H-субъединицы (Ovchinnikov et al, 1988a; Ovchinnikov et al, 1988b; Shiozawa et al, 1987; Shiozawa et al, 1989). H-субъединица в пурпурных бактериях находится на цитоплазматической стороне мембраны в положении, занятом хлоросомой в АНФБ. Во-вторых, РЦ имеет три молекулы бхл *a* (четыре у пурпурных бактерий), три молекулы бактериофеофетина *a* (две у пурпурных бактерий), марганец на месте негемового железа, и менахиноны Qa и Qb вместо двух молекул убихинона или одного из хинонов каждого типа (Hale et al, 1983; Vasmel, Amesz, 1983). Кроме того, в РЦ *Chloroflexus* отсутствуют каротиноиды (Pierson, Thornber, 1983).

Из восстановленного РЦ электроны поступают в менахинон, единственный хинон, найденный у *S. aurantiacus* (Hale et al, 1983), который превращается в менахинол. Затем, менахинол окисляется альтернативным комплексом АСIII (АСIII, от английского названия Alternative Complex III), который выполняет функцию цитохрома bc1 (Gao et al, 2009; Majumder et al, 2013), доставляя электроны в растворимый медь-содержащий белок аурацин, прикрепленный к периплазматической стороне внутренней клеточной мембраны (Driessche van et al, 1999; Lee et al, 2009). Аурацианин, в свою очередь, переносит электроны на цитохром с-

554 (Freeman, Blankenship, 1990) и восстанавливает окисленный РЦ, тем самым завершая циклическую цепь.

Гены белков фотореакционного центра и LH-комплекса собраны в опероны, которые у пурпурных бактерий и АНФБ получили название «*psf* опероны». В разных публикациях встречаются разные расшифровки этого названия: photosynthetic formation unit (Verméglio, Joliot, 2002), photosynthetic unit forming (Zheng et al, 2011) или photosynthetic unit fixed (Tang et al, 2011).

3.3 Использование неорганических и органических соединений в качестве донора электронов

Для биологического восстановления CO₂ требуются как АТФ, так и электроны, которые могут давать НАДФН или восстановленный ферредоксин. Однако конечный донор электронов зависит от организма. Аноксигенные фототрофные бактерии вместо воды в процессе фотосинтеза используют сульфид, серу, тиосульфат, сульфит, водород, а также селен, закисное железо, арсенат, нитриты и разные органические соединения.

Пресноводный мезофил *Oscillochloris trichoides* может расти фотолитоавтотрофно с сульфидом или водородом в качестве донора электронов и углекислоты в качестве источника углерода (Kerpen et al, 1994). Сульфид также является донором электронов для монокультур строго фототрофных бактерий ‘*Ca. Chloroploca asiatica*’ и ‘*Ca. Chlorothrix halophila*’ (Klappenbach, Pierson, 2004; Gorlenko et al, 2014).

Хотя *Chloroflexus aurantiacus* обычно растет хорошо в фотогетеротрофных условиях, некоторые штаммы этого вида могут расти фотоавтотрофно. Мэдиган и Брок (Madigan, Brock, 1975) показали, что штамм *Chloroflexus aurantiacus* ОК-70-fl может окислять сульфид фотогетеротрофно, с фиксацией углекислого газа. Фотоавтотрофный рост также достигается с водородом вместо сульфида в роли донора электрона (Holo, Sirevag, 1986). Штамм *Chloroflexus aurantiacus* GCF, который растет в горячем источнике в отсутствие цианобактерий, показывает высокий уровень сульфидзависимой фототрофии даже в лаборатории (Castenholz, 1973; Giovannoni et al, 1987). Сульфид- или водород-зависимая фотоавтотрофия помимо штамма GCF также наблюдается в *Chloroflexus aurantiacus* штамм ОК-70-fl, но отсутствует у других штаммов, например у J-10-fl, типового штамма *Chloroflexus aurantiacus* или у любого штамма близкородственных видов, *Chloroflexus aggregans* и *Chloroflexus islandicus* (Gaisin et al, 2017; Hanada et al, 1995b). Не зависящие от сульфида виды и штаммы *Chloroflexus* используют в качестве доноров электронов трикарбоновые кислоты (ацетат, пируват, аспартат, сукцинат,

лактат, бутират), спирты (метанол, этанол, глицерол, маннит), пептиды (глицил-глицин), сахара (фруктоза, сахароза), комплексные органические добавки (соетон, казаминовые кислоты, гидролизат казеина, дрожжевой экстракт) (Gaisin et al, 2017; Hanada et al, 1995b; Madigan et al, 1974).

Roseiflexus castenholzii является «истинным» гетеротрофом и нуждается в дрожжевом экстракте для хорошего фототрофного роста. Донорами электронов также могут выступать цитрат, лактат, глюкоза и казаминовые кислоты, но рост значительно хуже, чем при использовании дрожжевого экстракта. Фотоавтотрофный рост не наблюдается при любых условиях культивирования (Hanada et al, 2002).

3.4 Пути автотрофной фиксации углекислоты

Главной движущей силой, обеспечивающей функционирование углеродного цикла, является процесс автотрофной фиксации CO_2 . В качестве источника энергии для ассимиляции CO_2 используется либо свет (окисленные и анокисленные фототрофы), либо энергия окисления неорганических соединений (хемолитоавтотрофы).

В настоящее время известны 3 пути фиксации углекислоты среди анокисленных фототрофных бактерий: 1) цикл Кальвина (у протеобактерий, из АНФБ – у *Osc. trichoides*); 2) 3-гидроксипропионатный цикл (у АНФБ); 3) восстановительный цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) (у ЗСБ). АНФБ семейства *Roseiflexaceae* и филума Acidobacteria, аэробные анокисленные фототрофные бактерии, принадлежащие классам α -, β -, γ -Proteobacteria и филуму Gemmatimonadetes, не фиксируют CO_2 и являются облигатными фотогетеротрофами.

Пути фиксации CO_2 значительно отличаются друг от друга в ключевых и/или уникальных ферментативных реакциях, центральных промежуточных продуктах метаболизма, получаемых из CO_2 , требуемых количествах АТФ и требуемых типах восстановителя. В цикле Кальвина на образование одной молекулы глицеральдегид-3-фосфата требуется 6 NADPH и 9 АТФ. Для сравнения, в восстановительном ЦТК на образование одной молекулы ацетил-СоА требуются 4 NADH, 2 восстановленных ферредоксина и только 5 АТФ. Восстановленный ферредоксин является основным продуктом световой реакции только в РЦ FeS-типа. 3-гидроксипропионатный цикл требует 8 АТФ и, следовательно, энергетически менее выгодный, чем восстановительный ЦТК.

3.4.1 Цикл Кальвина

Основным механизмом, обеспечивающим включение биосферного CO_2 в глобальный круговорот углерода, в настоящее время является восстановительный пентозофосфатный цикл (Calvin-Benson-Bassham cycle, CBВ cycle или цикл Кальвина). Рибулозо-1,5-

бисфосфаткарбоксилаза (РБФК) – ключевой фермент цикла – самый распространенный на Земле фермент. Уникальной особенностью РБФК является то, что это и один из самых медленно работающих ферментов (Tabita, 1999). Его доля в листьях растений и клетках облигатных автотрофов может достигать величины 50 %.

Общий баланс реакций цикла можно представить уравнением:
 $3 \text{CO}_2 + 6 \text{НАДФ} \cdot \text{Н} + 5 \text{H}_2\text{O} + 9 \text{АТФ} \rightarrow \text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3\text{-PO}_3 + 3 \text{H}^+ + 6 \text{НАДФ}^+ + 9 \text{АДФ} + 8 \text{Ф}_\text{н} + 3 \text{H}_2\text{O}$.
 Общая схема цикла представлена на рис. 4.

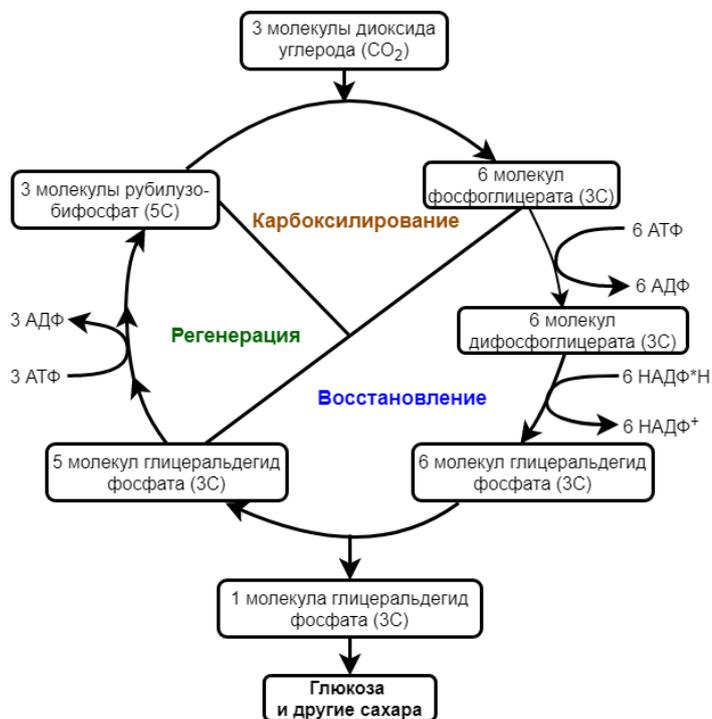


Рисунок 4. Цикл Кальвина (рисунок автора по (Blankenship, 2014)).

3.4.2 3-Гидроксипропионатный цикл

Впервые 3-гидроксипропионатный цикл в качестве автотрофной системы фиксации CO_2 был обнаружен у *Chloroflexus aurantiacus* (Strauss, Fuchs, 1993). Конечным продуктом функционирования цикла является глиоксилат. Хотя в геноме филогенетически близких видов *Cfl. aggregans* и *Roseiflexus* spp. показано наличие генов, кодирующих ферменты цикла (Klatt et al, 2007), эти бактерии не способны к фотоавтотрофному росту. Гены, кодирующие ферменты цикла, также были обнаружены у бактерий ‘*Ca. Chloroploca asiatica*’ и ‘*Ca. Chloranaerofilum corrogosum*’. Бактерия ‘*Ca. Chloroploca asiatica*’ оказалась способной к росту в фотоавтотрофных условиях. По-видимому, основной функцией данного цикла является поддержание жизнеспособности бактерии при отсутствии в среде доступных органических субстратов.

3-гидроксипропионатный цикл отличается от цикла Кальвина формой используемого неорганического углерода: CO_2 в цикле Кальвина против HCO_3^- в 3-гидроксипропионатном цикле. Поскольку концентрация бикарбоната в слабощелочной воде, где обитает *Chloroflexus*,

3.5 Источники азота

Азот является важным веществом для биосинтеза белков, нуклеиновых кислот и бактериохлорофиллов. *Chloroflexus aurantiacus*, *Chloroflexus islandicus* и *Roseiflexus castenholzii* хорошо растут с аммонием в качестве единственного источника азота (Gaisin et al, 2017; Hanada et al, 2002; Heda, Madigan, 1986). Также все штаммы *Chloroflexus aurantiacus* поддерживают хороший рост на некоторых аминокислотах (аланин, аспарат, глутамат, глутамин, глицин и серин) и более низкий темп роста – на тирозине и валине. Большинство штаммов могут расти на цистеине. Ни один из тестируемых штаммов не был способен расти на нитрате, пролине, аденине и мочеvine. Также ни у одного штамма не была обнаружена активность нитрогеназы и способность к азотфиксации. По всей видимости, отсутствие нитрогеназной активности у исследованных штаммов *Cfl. aurantiacus* обусловлено их термофильностью (Heda, Madigan, 1986; Кеппен и др., 1989).

Источниками азота для *Oscillochloris trichoides* DG-6 могут служить аммоний, мочеvine, глицин, глутамат, глутамин и аспаргин. Возможен рост и за счет потребления молекулярного азота, но слабый. Способность штамма DG-6 к азотфиксации подтверждена наличием у него нитрогеназной активности (Кеппен и др., 1989; Кеппен и др., 1993). Наиболее высокая активность нитрогеназы проявлялась в клетках *Osc. trichoides* при pH 8.2-8.4 и 40°C (Кеппен и др., 1989). Как и *Osc. trichoides* (Kuznetsov et al, 2011), *Roseiflexus* spp. содержит оперон, кодирующий *nifB* и структурные гены нитрогеназы. Нитрогеназная активность не была обнаружена ни у одного штамма *Roseiflexus* spp., но сходство общей последовательности генов *nifHBDK* с *Osc. trichoides* предполагает, что эти гены могут кодировать функциональную нитрогеназу (Klatt et al, 2013).

3.6 Темновой метаболизм

Представители родов *Chloroflexus* (большинство штаммов) и *Roseiflexus* способны к хемогетеротрофному росту в аэробных условиях в темноте и на свету за счет дыхания (Gaisin et al, 2017; Hanada et al, 1995b; Hanada et al, 2002; Pierson, Castenholz, 1974a). Для роста в темноте необходимо наличие органических субстратов, которые окисляются при участии молекулярного кислорода.

Основное отличие в морфологии клеток *Chloroflexus aurantiacus*, выросших при анаэробных условиях на свету, от клеток, выросших в аэробных условиях в темноте, заключается в отсутствии хлоросом в клетках, выращенных аэробно (Sprague et al, 1981). Также в аэробных условиях подавляется синтез бактериохлорофиллов, но при изменении условий на

фототрофные или микроаэробные клетки *Cfl. aurantiacus* сразу возобновляли синтез бактериохлорофиллов (Pierson, Castenholz, 1974b). Культура клеток в темноте имеет оранжевый цвет ввиду большого содержания каротиноидов (Pierson, 1985). Разные штаммы *Cfl. aurantiacus* способны к росту на промежуточных продуктах ЦТК, короткоцепочечных спиртах, аминокислотах, гексозах и по меньшей мере одной пентозе в аэробных условиях в темноте, тогда как рост *Cfl. islandicus* поддерживается меньшим спектром субстратов (глицерол, гексозы, дрожжевой экстракт, сахароза, из карбоновых кислот только ацетат, и др.) (Gaisin et al, 2017; Madigan et al, 1974). *Cfl. aggregans* аэробно в темноте растет на казиминовых кислотах и дрожжевом экстракте (Hanada et al, 1995b).

В аэробных условиях источником серы для биосинтеза может быть только сульфат, тогда как сера и частично восстановленные серные соединения, сульфит и тиосульфат, рост не поддерживают.

Штаммы *Cfl. aurantiacus* А, В-3, UZ способны медленно расти в темноте в атмосфере аргона в присутствии глюкозы и других сахаров с образованием ацетата, формиата, лактата, малата и этанола. Также рост возможен на пирувате или лактате (Красильникова, Кондратьева, 1987). Судя по активности ферментов, метаболизм углеводов *Cfl. aurantiacus* в анаэробных условиях в темноте и на свету, а также в аэробных условиях в темноте осуществляется главным образом по пути Эмбдена-Мейергофа (Красильникова и др., 1986). *Cfl. islandicus* способен расти в анаэробных условиях в темноте на сахарозе и дрожжевом экстракте (Gaisin et al, 2017). Бактерия *Cfl. aggregans* оказалась неспособна к росту в анаэробных условиях в темноте (Hanada et al, 1995b).

Большинство мезофильных АНФБ являются строгими анаэробами и не способны к аэробному росту в темноте, исключением являются *Osc. crysea*, *Chloronema giganteum* *Chloroflexus aurantiacus* var. *mesophilus*.

4 Распространение АНФБ в природе

4.1 Микробный мат как естественная среда обитания АНФБ

Микробные маты (ММ) развиваются на донных отложениях различных водоемов, таких как приливно-отливные зоны морей и океанов, лагуны, гиперсоленые пруды, литорали содовых озер, в местах выхода на поверхность горячих и холодных источников (Ecology of Cyanobacteria II, 2012). Мат отличается от биопленки размером и когерентным типом структуры (Stal, 2001).

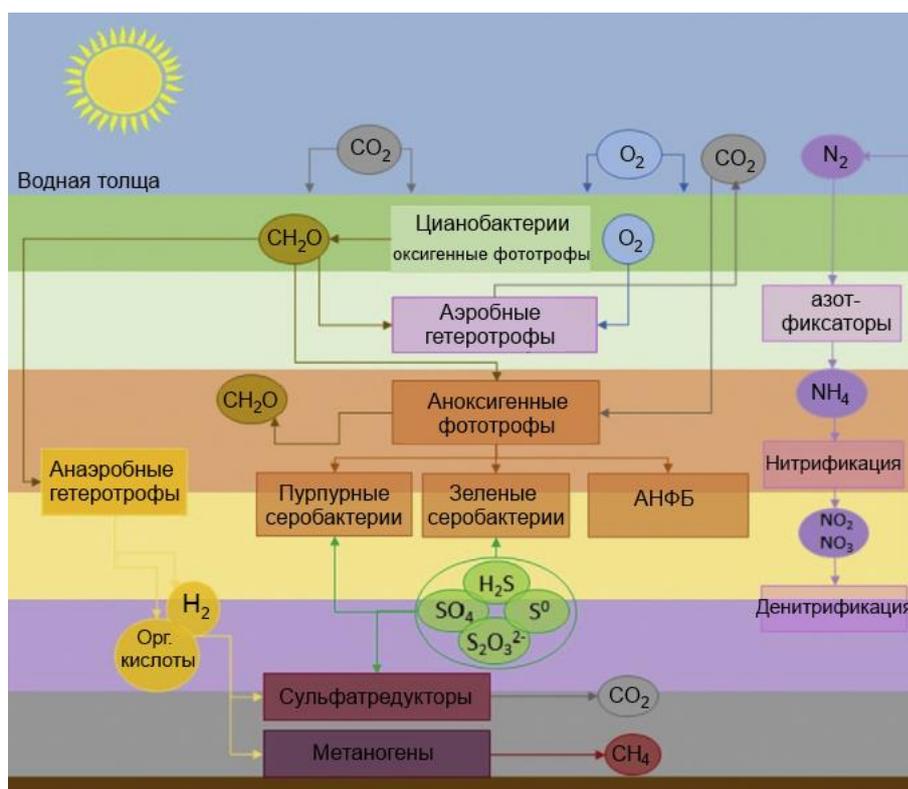


Рисунок 6. Структура и метаболические пути в фотосинтетическом мате (цит. по (Prieto-Barajas et al, 2018)).

Микробные маты – древнейшие высокопродуктивные фототрофные сообщества, о чем свидетельствуют находки литифицированных матов – строматолитов. Самые древние микробные маты были найдены в осадочных породах возраста 3.7-3.5 млрд лет (эра Архея) на западе Австралии (Allwood et al, 2006; Ley et al, 2006; Noffke et al, 2013; Nutman et al, 2016; Westall et al, 2006) и в Южной Африке (Tice, Lowe, 2004). ММ преобладали в эру Протерозоя (2.5-0.57 млрд. лет назад) по всему миру (Green, Jahnke, 2010). На протяжении всей истории Земли ММ играют важную роль в изменении состава атмосферы, производя O₂, H₂ и CH₄ (Hoehler et al, 2001), а также совместно со строматолитами представляют собой первые экосистемы. Таким образом, ММ являются естественной лабораторией, в которой можно изучать микробное разнообразие (модели и структуру сообщества), эволюционные процессы и адаптацию микроорганизмов к экстремальным условиям окружающей среды.

Входящие в состав ММ кислородные и аноксигенные фототрофные микроорганизмы формируют тонкие, окрашенные в зеленый и красный цвет слои (рис. 6). Вертикальная стратификация ММ возникает в результате физико-химического градиента, который формируется в связи с жизнедеятельностью микроорганизмов, прежде всего сульфидогенов. В результате этого градиента создаются микроныши, благоприятные для преимущественного развития определенных функциональных групп микроорганизмов (van Gemerden, 1993;

Nealson, Berelson, 2003). Теоретически микробные маты могут состоять из одного конкретного вида (Stal, 2001).

Основу ММ обычно составляют нитчатые микроорганизмы, прежде всего цианобактерии, а также одноклеточные формы различной физиологии. ММ, в которых основными первичными продуцентами являются цианобактерии, принято называть цианобактериальными матами. Кроме цианобактерий в мате присутствуют аноксигенные фотосинтезирующие бактерии, относящиеся к α -, β -, γ -Proteobacteria, представители филума Chlorobi, гелиобактерии филума Firmicutes, аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии филума Chloroflexi, а также хлоросомсодержащие Acidobacteria; аэробные гетеротрофы и анаэробы, сульфатредуцирующие бактерии, серуокисляющие бактерии и метаногенные археи (Bryant et al, 2007; van Gemerden, 1993; Klatt et al, 2016; Nicholson et al, 1987) (рис. 6). Среди АНФБ только бактерия рода *Chloronema* ведет планктонный образ жизни, подавляющее большинство АНФБ существует в микробном мате (Дубинина, Горленко, 1975).

Фототрофные организмы содержат разные светособирающие структуры и фотосистемы, которые используют свет разной длины волны. Эти отличия позволяют фототрофным микроорганизмам сосуществовать друг с другом. Цианобактерии имеют в своем составе тилакоиды с хлорофиллом *a* (680 нм) и фикобилинами (например, фикоэритрин, фикоцианин), ЗСБ и АНФБ – хлоросомы с бактериохлорофиллом *c* (740 нм), *d* (725 нм) или *e* (714 нм) и пурпурные бактерии – внутрицитоплазматические мембраны с бактериохлорофиллом *a* (800-890 нм) или бактериохлорофиллом *b* (1015 нм) (Stolz, 2007).

Вода поглощает большинство волн инфракрасного спектра в пределах первого метра, а более длинные волны проникают дальше в мелководные отложения (Jørgensen et al, 1987; Jørgensen, Marais Des, 1986; Pierson et al, 1987; Polerecky et al, 2007). Таким образом, в определенных слоях аноксигенные зеленые и пурпурные бактерии являются преобладающими микроорганизмами и вносят значительный вклад в биомассу (D'amelio et al, 1987; Nübel et al, 2001; Polerecky et al, 2007; Stolz, 1990).

В природе маты обычно плотно прилегают к почве или погруженным осадкам, а затем поднимаются на поверхность благодаря плавучести, создаваемой образованными внутри мата газами. ММ после прекращения роста могут полностью разлагаться, не оставляя видимого следа, и впоследствии на поверхности освобожденного осадка начинает формироваться новый мат.

4.2 Положение АНФБ в экосистеме

Микробный мат можно рассматривать как живой объект, образованный бактериями, которые вместе выполняют физиологические функции целого организма.

Для защиты от УФ-излучения цианобактериальный мат располагается под биопленкой диатомовых водорослей (в этом случае они образуют коричневый слой поверх мата), также он может находиться под только что образовавшимся слоем песка или под слоем отмерших цианобактерий. Их чехлы содержат УФ-фильтр – пигмент цитонемин и другие солнцезащитные пигменты, такие как микоспорин-подобные аминокислоты (Garcia-Pichel, Castenholz, 1994; Garcia-Pichel, Castenholz, 1991).

Экосистема мата зависит от тесных взаимодействий между ключевыми группами бактерий. В роли первичного продуцента в мате выступают диатомовые водоросли и цианобактерии, а оставшееся бактериальное сообщество участвует в разложении органических соединений и утилизации питательных веществ. Анаэробные аноксигенные пурпурные серные бактерии образуют слой под цианобактериями. Иногда эти сообщества разделены слоем гидроксида железа ржавого цвета, который представляет собой буфер между аэробным и постоянно анаэробным слоем (Stal, 1994). Зеленые серобактерии могут образовывать слой под пурпурными серными бактериями (Pierson et al, 1987). В содовых озерах ЗСБ не встречаются, и их положение занимают АНФБ (Компанцева и др., 2005). Установлено, что '*Ca. Chlorothrix halophila*' в матах ассоциируется с цианобактерией *Microcoleus chthonoplastes* (Klappenbach, Pierson, 2004). Плоские многослойные маты, развивающиеся в очень мелких бассейнах, лагунах и солончаках, часто имеют отчетливый слой аноксигенных пурпурных бактерий с бактериохлорофиллом *b* под слоем цианобактерий и слоями пурпурных и зеленых бактерий (Nicholson et al, 1987; Pierson et al, 1987; Stolz, 1990).

Иногда под пурпурными цианобактериями образуется второй слой цианобактерий (Krumbein et al, 1977). Такие «перевернутые маты» образуются на отложениях, получающих высокую нагрузку экзогенным органическим веществом, например, водорослями (van Gemerden et al, 1989b; van Gemerden et al, 1989a). При разложении этих веществ образуется большое количество сульфида, что приводит к ингибированию роста цианобактерий. Пурпурные серобактерии утилизируют сульфид, тем самым позволяя цианобактериям развиваться слоем ниже.

Совокупная активность цианобактерий и сульфатредуцирующих бактерий приводит к резким и изменяющимся градиентам сульфида и кислорода. Во время дневных и ночных

миграций АФБ меняют свое положение в мате в ответ на изменения вертикальных градиентов кислорода и pH (Fourçans et al, 2006).

А) Что происходит с матом в светлое время суток

Выделение кислорода происходит только на свету. Кислород, который вырабатывается путем фотосинтеза, накапливается в мате и может покидать его только посредством диффузии. Полисахаридная матрица мата задерживает диффузию кислорода, поэтому может встречаться двух-трехкратное пересыщение кислорода в цианобактериальных матах (Revsbech et al, 1983). Максимальная концентрация кислорода в водной толще наблюдается в период наибольшей освещенности (в полдень). Таким образом, в поверхностном слое мата создаются условия для аэробных форм микроорганизмов. Диффузия кислорода в глубину мата приводит к аэробным или микроаэробным условиям ниже фотической зоны (освещаемая солнцем верхняя толща воды водоёма). С другой стороны, объем кислорода, затрачиваемого на дыхание и химическое окисление, может превышать накопление кислорода посредством фотосинтеза, что приводит к аноксигенным условиям внутри части эуфотической зоны.

В это же время во время фотосинтеза углекислый газ фиксируется и расходуется матом. Он может пополняться только вследствие диффузии из вышележащей среды.

Процесс азотфиксации является зависимым от освещения и осуществляется в мате как гетероцистными цианобактериями, так и негетероцистными нитчатými цианобактериями. У этих нитчатых цианобактерий есть специальные клетки, гетероцисты, утратившие способность к кислородному фотосинтезу и CO_2 -фиксации. Они и становятся сайтами фиксации азота, поскольку нитрогеназа чрезвычайно чувствительна к кислороду. Однако гетероцистные цианобактерии удивительно редко встречаются в прибрежных микробных матах (Stal et al, 1994). В таких матах в фиксации азота участвуют цианобактерии, которые делятся на две группы в зависимости от способа фиксации азота (Bergman et al, 1997; Stal, 1995): одна группа способна фиксировать азот только при анаэробных условиях, тогда как вторая – в полностью аэробных условиях (Bergman et al, 1997).

Б) Что происходит с матом в темное время суток

В темноте цианобактерии переходят на дыхание для удовлетворения потребности в энергии (Stal, Moezelaar, 1997). Объем необходимого для дыхания цианобактерий и других микроорганизмов кислорода превышает объем кислорода, который диффундирует из вышележащей воды или атмосферы. Следовательно, в темноте микробный мат является почти полностью бескислородным (любой кислород, диффундирующий в мат, немедленно утилизируется). Было показано, что аноксигенные условия часто устанавливаются в течение

нескольких минут после наступления темноты. Это означает, что цианобактерии в мате сталкиваются с недостатком кислорода практически всю ночь (Revsbech et al, 1983). И таким образом, в темноте им необходимо переключаться на ферментативный метаболизм.

Матообразующие цианобактерии способны превращать внутриклеточные углеводороды (гликоген) в низкомолекулярные органические соединения, такие как ацетат, лактат и этанол, в дополнение к водороду, CO₂ и муравьиной кислоте (Stal, Moezelaar, 1997). Значительная часть гликогена ферментируется и восполняется фотосинтетической фиксацией CO₂ в течение последующего дня. Следовательно, важная часть фиксированного CO₂ превращается в низкомолекулярные органические соединения и становится доступна для других микроорганизмов. Эти растворенные органические вещества служат превосходными субстратами для сульфатредуцирующих бактерий, образующих сульфид. Сульфид в свою очередь является донором электронов у аноксигенных фототрофных и хемотрофных бактерий, которые окисляют его до сульфата через элементную серу и другие серные соединения (van Gemerden, 1993).

4.3 Местообитания АНФБ

АНФБ, принадлежащие к семействам *Chloroflexaceae* и *Oscillochloridaceae*, обитают в различных типах вод, таких как горячие и холодные источники, пресноводные озера, реки, морские и гиперсоленые водоемы.

Бактерии рода *Chloroflexus* обычно обитают в нейтральных и щелочных горячих источниках, откуда в свое время были выделены типовые виды этого рода, *Chloroflexus aurantiacus* (Pierson, Castenholz, 1974a) и *Chloroflexus aggregans* (Hanada et al, 1995b). В естественной среде обитания эти организмы вместе с цианобактериями образуют желто-оранжево-зеленоватые маты. Маты различаются по морфологии и цвету, в зависимости от температуры, pH, и концентрации сульфида (Castenholz, Pierson, 1995; Jørgensen, Nelson, 1988; Pierson et al, 1984).

В Северной Америке совместные популяции *Chloroflexus* и цианобактерий встречаются при температуре от 30-40°C до 70-72°C, при этом pH от 5.5 до 10 (Pierson, Castenholz, 1995). При таких же условиях *Chloroflexus* spp. встречаются в горячих источниках в других регионах, таких как Япония, Италия и Исландия (Hanada et al, 1995a; Jørgensen, Nelson, 1988; Keppen et al, 1994; Pentecost, 1995). Однако *Chloroflexus* spp. может развиваться в естественных условиях в отсутствие цианобактерий. Темно-зеленый мат практически чистого штамма *Chloroflexus* sp. был обнаружен в Йеллоустонском национальном парке (Castenholz, 1988). Горячая вода в этом месте содержит большое количество сульфида (до 1000 мкмоль), ингибируя рост цианобактерий. Аналогичный случай был зарегистрирован в Nakabusa Hot Spring, Япония

(Sugiura et al, 2001), в котором авторы нашли чистые маты *Chloroflexus*, в которых отсутствовали цианобактерии. Этот тип мата хорошо развивается при высокой температуре (71-77°C, рН 8.5), что предотвращает рост цианобактерий.

Нет свидетельств того, что *Chloroflexus* spp. растут в кислых (менее рН 6.0) или соленых горячих источниках. Однако Пирсон и Паренте (Pierson, Parenteau, 2000) обнаружили штамм *Chloroflexus* в горячем источнике, в котором происходит отложение оксидов железа (Chocolate Pots, национальный парк Йеллоустоун). Горячая вода содержала большое количество железа (концентрация было более 100 мкмоль). Бактерия *Chloroflexus* sp. образовывала микробный мат с цианобактерией *Synechococcus* sp. Поскольку *Chloroflexus*-мат содержал обильные отложения железа, вполне возможно, что этот штамм *Chloroflexus* использует закисное железо как донор электронов для фотосинтеза, как некоторые виды пурпурных бактерий и зеленых серных бактерий (Ehrenreich, Widdel, 1994; Heising et al, 1999).

Также в микробном мате горячего Йеллоустонского источника недавно была обнаружена бактерия '*Candidatus Chloranaerofilum corporosum*' (Tank et al, 2017; Thiel et al, 2016; Thiel et al, 2018).

Мезофильные пресноводные виды АНФБ, рода *Oscillochloris* и *Chloronema*, наблюдали в основном в анаэробных средах, содержащих значительное количество сульфида, таких как альгобактериальные маты, образованных на поверхностях грязи или в бескислородных зонах пресноводных озер. В естественной среде обитания они часто ассоциированы с пурпурными серобактериями и зелеными серобактериями, а также с *Beggiatoa* и *Oscillatoria*. Хотя штаммы *Oscillochloris trichoides* в основном представляют собой пресноводные формы, они также встречаются в микробных матах сульфидсодержащих теплых источников, мелководных участках рек, прибрежных частях морей и слабоминерализованных озер, эстуариях. Другой вид, *Oscillochloris chrysea*, был выделен из обрастаний пресноводного ручья, загрязненного бытовыми сточными водами (Gorlenko, 1988; Горленко, Пивоварова, 1977).

Бактерия '*Candidatus Chloroploca asiatica*' обитает в щелочных (рН 9.1-10.2) и низкотемпературных водоемах (18-20°C) – в микробных матах содовых озер и обрастаниях в русле термальных сульфидных источников (Gorlenko et al, 2014).

Единственная АФНБ, выделенная из гиперминерализованного микробного мата, – '*Candidatus Chlorothrix halophila*' (Klappenbach, Pierson, 2004).

Все бесхлоросомные АНФБ являются термофилами и встречаются в слабосульфидных (<0.5 мМ сульфида) горячих источниках, где они образуют оранжевые, красноватые или розовые маты. Бактерия *Heliothrix oregonensis* обнаружена в некоторых горячих источниках в западной части Северной Америки, где отсутствовал сероводород (Pierson et al, 1985; Pierson et al, 1984). В естественной среде обитания она образует ярко-оранжевый слой на слое

цианобактерий. *Heliothrix oregonensis* впечатляюще доминирует в небольших щелочных бассейнах в Warm Springs Indian Reservation (Орегон).

Другой бактерией, не содержащей хлоросомы, является *Roseiflexus castenholzii* (Hanada et al, 2002). Организм образует четкий, плотный красный слой под матом из цианобактерий и *Chloroflexus* spp. В красном слое преобладают нити *Roseiflexus*. В горячем источнике Накабусы *Roseiflexus*-мат наблюдали при температуре 45.5-68.5°C и pH 7.8-8.2 (Sugiura et al, 2001). Бумер с соавторами (Boomer et al, 2000; Boomer et al, 2002) сообщили о красном мате в щелочных горячих источниках Йеллоустонского Национального парка. Диапазоны температуры и pH горячих источников, содержащих маты, составляли 30-50° C и 7.5-8.7 соответственно.

5 Возможное применение АНФБ в практике

Адаптация микроорганизмов к жизни при высоких температурах давно стала предметом обширных исследований. В связи с небольшими различиями в водородных связях, дисульфидные мостики и ионные или гидрофобные взаимодействия белков термофильных микроорганизмов, как правило, более термостабильны и термоактивны, чем у мезофильных микроорганизмов (Hase et al, 1976; Perutz, 1978; Tanaka et al, 1971; Walker et al, 1980). Мембраны термофильных бактерий отличаются от мезофильных составом жирных кислот и полярной головной группы липидного бислоя (Brock, 1986; Chan et al, 1971; Vrij De et al, 1988).

Было показано, что реакционные центры *Cfl. aurantiacus* могут использоваться в качестве инструмента для изучения Δр-зависимых процессов (Δр – протонная сила) в изолированных мембранах, чувствительных к кислороду (Speelmans et al, 1993). После слияния комплекса РЦ-липосома с мембранными везикулами *Clostridium fervidus* может быть продемонстрировано поглощение серина при анаэробных условиях. РЦ *Cfl. aurantiacus* были выбраны, поскольку их белки обладают более высокой термостабильностью, чем РЦ *Rhodobacter sphaeroides* и *R. palustris*.

Из клеточного экстракта *Cfl. aurantiacus* были выделены три сайт-специфичные эндонуклеазы *CauI*, *CauII*, *CauB31*, являющимися рестрикционными ферментами II типа, расщепляющими обе нити ДНК в фиксированных местоположениях относительно их сайтов распознавания (Bingham, Darbyshire, 1982; Molemans et al, 1982; Крамов et al, 1987). Изучение рестрикционных ферментов II типа связано с уникальной возможностью их применения при анализе ДНК и при построении рекомбинантных молекул ДНК (Cohen et al, 1973). Липкие концы, продуцируемые эндонуклеазой *CauB31*, аналогичны концам, образующимся при гидролизе ДНК эндонуклеазой *XmaI*. Это свойство *CauB31*-фрагментов может быть

использовано для их встраивания в сайты, имеющихся в полилинкерах различных широко используемых векторных молекул (O'Connor et al, 1984).

Cfl. aurantiacus содержит термотолерантную гидрогеназу, которая потенциально может применяться в различных биотехнологических процессах, включая биоремедиацию, биосинтез, биосенсоры, регенерацию коферментов и в фармацевтической индустрии (Eberly, Ely, 2008). Использование гидрогеназ для регенерации кофакторов представляет особый интерес для промышленности. Термотолерантные гидрогеназы могут работать как ферментативные «электростанции», используя H_2 для получения восстановителей, таких как NADPH и ферредоксин, которые затем могут быть использованы широким спектром ферментов, включая дегидрогеназы, редуктазы, гидролазы и синтазы, многие из них играют важную роль в переработке отходов (Andersson et al, 1998; Turner et al, 2007).

Одним из наиболее привлекательных приложений для термостабильных гидрогеназ является производство молекулярного H_2 в качестве альтернативного источника энергии. H_2 – многообещающее топливо, потому что оно чистое, дающее при сжигании только воду. Термофильные микроорганизмы необходимы в ферментативном производстве H_2 , поскольку в пищевой, бумажной промышленности и другие отраслях богатые углеводами сточные воды часто сливаются при повышенных температурах (Cheong, Hansen, 2007; Liu et al, 2003). Термофильные микроорганизмы очень подходят для деградации этих отходов, поскольку они остаются жизнеспособными и активными при высоких температурах.

При технологии очистки сточных вод с участием АФБ, включая АНФБ, нет необходимости разбавления сточных вод и, следовательно, эта технология может использоваться в регионах с нехваткой воды. Кроме того, требуемая площадь для очистных сооружений намного меньше. В отличие от активного ила, который создает дополнительную проблему утилизации осадка, фотосинтетическая обработка отходов приводит к обогащению бактериальной биомассы белком, многими витаминами и каротиноидами; а осадок, обработанный аноксигенными фототрофными бактериями, не требует автоклавирования и обработки. Кроме того, низкотемпературное сжигание небольшого количества золы (700-800°C) не влечет за собой нежелательных газов, а генерирует водород, который увеличивает процесс горения (Kobayashi, 1976). Также в работе Miura было показано, что некоторые мезофильные *Chloroflexi* (в том числе АНФБ порядка *Chloroflexales*) являются экологически значимыми в мембранной очистке городских сточных вод. Они участвуют в деградации растворимых микробных продуктов, включая углеводы и клеточные компоненты, что, следовательно, снижает потенциал мембранного загрязнения (Miura et al, 2007).

Чрезвычайно привлекательна возможность использования чистых культур *Chloroflexus* для детоксикации сульфита и получения элементной серы, что происходит с помощью двухстадийного термофильного процесса. Сера, образуемая микроорганизмами, представляет особую ценность, поскольку представляет собой химически чистый продукт (Рай, 1995).

АНФБ являются одними из самых древних фототрофов, которые присутствовали в микробных матах Докембрия и Протерозоя, и могли сыграть ключевую роль в ранней эволюции фотосинтеза (Oyaizu et al, 1987; Pierson, Parenteau, 2000). Ранее считалось, что среднецепочечные метилразветвленные алканы, такие как монометилгекса- и гептадеканы (ММА) и диметилгептадеканы, являются липидными биомаркерами цианобактерий. В работе Parenteau с соавторами было показано, что несколько ММА синтезируются двумя АНФБ, среди которых '*Ca. Chlorothrix halophila*' (Jahnke et al, 2014; Parenteau et al, 2010). Липидные биомаркеры являются ископаемыми биохимическими веществами, обнаруженными в геологических породах, основные характеристики структуры которых достаточно хорошо сохранились. Это позволяет однозначно утверждать, что они являются предшественниками известных липидов, найденных в современных организмах. Обнаружение этих липидов говорит о том, какие организмы функционировали в древних водоемах (Brocks, Summons, 2003).

Микробные маты также могут применяться в биотехнологии. Они производят такие газы, как метан, CO₂ или водород, тем самым способствуя эффективному использованию этих газов в качестве биотоплива (Nielsen et al, 2015). Также было показано, что морские микробные маты могут использоваться для биоремедиации участков, загрязненных нефтью (Cohen, 2002).

6 Заключение к литературному обзору

Анализ литературы показал, что информации о мезофильных АНФБ и, в частности, солоноводных крайне мало. Из солоноводных *Chloroflexi* в культуре известны только '*Candidatus Chlorothrix halophila*' из гиперсоленого водоема и '*Candidatus Chloroploca asiatica*' (штамм В7-9) из содового озера Доронинское. В то же время имеются работы, в которых отмечается присутствие АНФБ в лагунах (Pierson et al, 1994). Изучение новых мест обитания даст возможность для расширения биоразнообразия АНФБ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

7 Материалы исследования

В данной работе были исследованы образцы из содового озера Киран (республика Бурятия), солевых маршей и литорали озер, имевших связь с Кандалакшским заливом Белого моря, Чокракских источников (республика Крым) и теплых высокоминерализованных источников Дагестана.

Отбор образцов и определение минерального состава воды. Температуру и значение pH среды в месте отбора проб измеряли с помощью портативного pH-метра (HANNA HI 8314, Румыния). Общую минерализацию воды определяли на месте с помощью рефрактометра FG-211 (Cometa, Испания). При заборе образцы матов помещали в стерильные пластиковые пробирки на 50 мл, в которых транспортировали в лабораторию. Далее пробирки с образцами хранили при температуре 4°C.

Определение содержания ионов в пробах воды проводили в соответствии с требованиями природоохранных нормативных документов федеративных (ПНД Ф), руководящих документов (РД) и межгосударственных стандартов (ГОСТ).

Концентрацию ионов Na^+ определяли с помощью атомно-адсорбционного метода с помощью спектрометра PinAAcle 900F (PerkinElmer Inc., США). Фотометрическим методом с помощью спектрофотометра СФ-46 (ЛОМО, Россия) определяли содержание ионов NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- и SiO_3^{2-} . Титриметрическим методом определяли концентрацию ионов Ca^{2+} и HCO_3^- . Концентрацию ионов Mg^{2+} вычисляли по разности жесткости и концентрации Ca^{2+} . Концентрацию ионов CO_3^{2-} рассчитывали, предварительно определив значения общей и свободной щелочности с помощью титрования. Концентрацию ионов SO_4^{2-} определяли турбидиметрическим методом, ионов Cl^- – аргентометрическим методом, ионов F^- – потенциометрическим методом с ионселективным электродом с помощью pH-метра Анион-4100 (Инфраспек-Аналит, Россия). Сульфид определяли йодометрическим титрованием (Резников и др., 1970).

Концентрацию кислорода измеряли методом Винклера. Значение Eh определяли при помощи полевого иономера И-102.

8 Микробиологические методы исследования

8.1 Состав питательной среды и условия культивирования

Выделение и культивирование пурпурных серобактерий проводили на среде следующего состава (г/л): NH_4Cl – 0.5; KH_2PO_4 – 0.5; KCl – 0.33; MgCl_2 – 0.2; NaCl – 10; NaHCO_3 – 5; дрожжевой экстракт – 0.1; ацетат натрия – 0.5; $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ – 0.5; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ – 0.5; витамин B_{12} – 20 мкг/л; раствор микроэлементов (Pfennig, Lippert, 1966) – 1 мл/л.

Для выделения и культивирования нитчатых фототрофных бактерий использовали среду следующего состава (г/л): NH_4Cl – 0.2; KH_2PO_4 – 0.2; $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0.2; KCl – 0.3; MgCl_2 – 0.2; NaCl – 5-10; NaHCO_3 – 0.6; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ – 0.3; Na_2SO_4 – 0.3; дрожжевой экстракт – 0.05-0.2; ацетат натрия – 0.1-0.2; витамин B_{12} – 0.02; $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ – 0.5-0.7; раствор витаминов – 1 мл/л; раствор микроэлементов (Pfennig, Lippert, 1966) – 1 мл/л.

Состав комплекса микроэлементов (г/л): Трилон В – 5.0; $\text{FeSO}_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 2.0; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.1; $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0.03; H_3BO_3 – 0.3; $\text{CoCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0.2; $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0.03; $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0.02; $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0.03. Значение pH доводили до 3.0 – 4.0 (Pfennig, Lippert, 1966).

Комплекс витаминов состоял из трех растворов с различным значением pH. Каждый раствор готовили отдельно.

Кислый раствор (растворяли в 100 мл MQ, закисленной соляной кислотой до pH 3.0)

Тиамин	– 5 мг
Пантотеновая кислота	– 5 мг

Щелочной раствор (растворяли в 100 мл 0.1 N NaOH):

Биотин	– 2 мг
Парааминобензойная кислота	– 5 мг
Никотиновая кислота	– 5 мг
Пиридоксин	– 10 мг

Нейтральный раствор (растворяли в 100 мл MQ):

Фолиевая кислота	– 2 мг
Рибофлавин	– 5 мг
Витамин B_{12}	– 0.5 мг

Питательную среду стерилизовали 30 мин при 1 атм. Растворы NaHCO_3 , $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, дрожжевого экстракта, витаминов, микроэлементов стерилизовали отдельно в течение 30 мин при 1 атм и вносили необходимое количество ингредиентов непосредственно перед посевом. Значение pH готовой среды доводили до 8.0.

Выделение и очистку культур проводили на агаризованной среде (0.6%) методом последовательных разведений. Для получения плотной среды использовали бактериологический агар (финальная концентрация агара 0.6%). Агар готовили в виде 2%-ного раствора, разливали по 3 мл в пробирки с ватно-марлевыми пробками. Пробирки с агаром автоклавировали при 1 атм. Агар расплавляли перед использованием на водяной бане, после чего в пробирки добавляли 9 мл готовой питательной среды. Для накопления биомассы бактерии выращивали в жидкой среде в стеклянных флаконах с завинчивающимися крышками. Культивирование проводили при температуре 30-35°C и освещенности 2000 лк.

8.2 Микроскопия

Для исследования морфологии клеток как в бактериальной культуре, так и в природных образцах использовали световой микроскоп Olympus BX 41 (Olympus Corp., Япония) с фазовым контрастом. Фото-документацию вели с помощью оптической насадки C5060 – ADU (Olympus, Япония), цифрового фотоаппарата Olympus C-7070 (Olympus, Япония) и программного обеспечения ImageScore Lite (ООО «Системы для микроскопии и анализа», Россия).

Строение клеток изучали с помощью электронного микроскопа JEM100C (JEOL, Япония). Для электронной микроскопии готовили препараты клеток методом негативного контрастирования в 2%-ной фосфорновольфрамовой кислоте. Строение клеточной стенки выделенных бактерий изучали с помощью ультратонких срезов. Для этого материал фиксировали в 2.5%-ном глутаровом альдегиде, приготовленном на 0.05 М какодилатном буфере. Дофиксацию проводили методом Келленберга-Ритера (Kellenberger et al, 1958). Обезвоживание образцов проводили в серии разведений этанола. После финального погружения в 100%-ный этанол, материал переносили в ацетон, после чего их заключали в смесь эпона и аралдита. Ультратонкие срезы готовили на микротоме KLB-4800. Контрастирование проводили по методу Рейнольдса (Reynolds, 1963).

Вертикальное распределение микроорганизмов в водной толще исследовали с помощью подсчета микроорганизмов на стеклах обрастания. Этот метод дает правильное представление о вертикальной структуре бентосных микроорганизмов, способных присоединяться к субстратам (Gorlenko et al, 1983; Компанцева и др., 2005). Обезжиренные предметные стекла погружали в микробные маты. Стекла выдерживали в матах в течение суток, после чего их извлекали, высушивали и окрашивали генцианвиолетом. Для каждого препарата максимальная численность той или иной бактерии, наблюдаемой в вертикальном профиле, была принята за 100%. Изменение численности в соответствии с глубиной определяли относительно соответствующего максимального значения. Подсчет вели в пределах зоны обрастания.

8.3 Количественный учет различных групп АФБ

Для определения относительной численности АФБ производили посев проб в пробирки на агаризованную (0.5% агара) питательную среду с соленостью 40 г/л с учетом предельных серийных разведений. В качестве посевного материала использовали пробы микробных матов объёмом 1 мл, собранные шприцом с поверхности ложки источников. Перед посевом пробы разбавляли водой источника 1:1, затем гомогенизировали встряхиванием со стеклянными бусами. Культивирование проводили анаэробно при естественном освещении в полевых условиях. Посевы доращивали в лабораторных условиях под лампами дневного света при освещенности 2000 люкс и температуре 20–25°С. Относительную численность пурпурных и зеленых бактерий определяли микроскопированием красных и зеленых колоний, выросших в последних разведениях. На этом этапе родовую принадлежность АФБ выявляли по морфологическим признакам.

Для определения пигментов и для опытов с радиоизотопами пробы отбирали из мест формирования видимых обрастаний, характерных для микробных матов, с помощью пробочного сверла площадью 1 см².

8.4 Определение пигментов клеток

Фиксацию проб для определения состава пигментов проводили с помощью 50%-ного глицерина. Пробы хранили в темноте при комнатной температуре, а затем в холодильнике при 4°С.

Пигменты микробных матов определяли из проб, фиксированных глицерином (1:1). В лаборатории пробы обрабатывали 2 мин ультразвуком (14.5 кГц) на приборе УЗД-1 и снимали развернутые спектры фрагментов мембран (так называемый спектр пигментов «*in vivo*») на спектрофотометре Unicam -1800 в интервале длин волн 400-850 нм.

Из отдельно отобранной пробы проводили экстракцию пигментов ацетоном в течение сут в темноте при +4°С, после чего снимали спектры поглощения растворенных пигментов на спектрофотометре. Для расчётов содержания хлорофиллов использовали следующие формулы:

$$\text{Chl } a = 11.9 E_{665} \text{ (Федоров, 1979)}$$

$$\text{Bchl } c = 10.8 E_{662} \text{ (Takahashi, Ichimura, 1968)}$$

$$\text{Bchl } a = 25.82 E_{772} \text{ (Takahashi, Ichimura, 1968), где } E \text{ – оптическая плотность при соответствующей длине волны.}$$

Для анализа общего состава пигментов в природных образцах и в клетках выделенных культур бактерий использовали спектрофотометр СФ 56А (ЛОМО, Россия). Спектры поглощения пигментов регистрировали в диапазоне длин волн 350–1100 нм. Для измерения

готовили тотальные препараты фрагментов клеточных мембран, полученные при разрушении биомассы ультразвуком частотой 14.5 кГц с использованием прибора Bandelin electronic UW 2070 (Германия). Кроме того, исследовали спектральные характеристики ацетон-метанольных (7:2) экстрактов клеток изолированных штаммов. Экстракцию пигментов из бактериальной биомассы ацетон-метанольной смесью проводили в течение суток в темноте при температуре 4°C.

8.5 Определение световой фиксации углекислоты

Для определения продукции оксигенного и аноксигенного фотосинтеза отобранные пробы матов с площади 1 см² помещали в пенициллиновые флаконы объемом 20 мл, которые заполняли полностью водой источника, отобранной шприцом над поверхностью мата. Флаконы закрывали резиновыми пробками без пузырька воздуха. В качестве селективного ингибитора оксигенного фотосинтеза использовали диурон в конечной концентрации 10⁻⁷мМ. В экспериментах в трех повторностях использовали две светлые (с диуроном и без диурана), одну темную склянку и одну контрольную, фиксированную формалином (0.2 мл 40% формалина на флакон). Во все склянки шприцом добавляли по 0.2 мл (20 мкКи) раствора NaH¹⁴CO₃. Склянки экспонировали в ложе источников в температурных и световых условиях *in situ*. По завершении экспозиции (4 ч) содержимое светлых и темных флаконов фиксировали 0.2 мл 40%-ного формалина. На завершающем этапе фиксированные пробы матов подкисляли фосфорной кислотой, продували азотом для удаления меченной углекислоты, затем гомогенизировали ультразвуком, после чего 0.1 мл пробы помещали в сцинтилляционную жидкость ЖС-8. Таким образом учитывали как клеточную, так и внеклеточную продукцию. Измерение радиоактивности продуктов проводили на сцинтилляционном счетчике Rack-Betta 1219, LKB (Швеция).

Производство фотосинтеза рассчитывали по формуле Стимана-Нельсона (Кузнецов, Дубинина, 1989). Скорость оксигенного фотосинтеза вычисляли по разнице между суммарным фотосинтезом (без диурана) и аноксигенным фотосинтезом (с диуроном). В расчет брали среднеарифметическое значение данных из двух повторностей каждого варианта опыта:

$$\text{мг С} = \frac{r_{\text{св}} - r_{\text{темн}}}{R \times t} \times C_k,$$

где: мг С – суммарный фотосинтез, С_к – концентрация всех форм углерода, r_{св} радиоактивность пробы из светлой склянки без диурана, r_{темн} - радиоактивность пробы из темной склянки, t – время экспозиции. Контрольная проба, убитая формалином, не фиксировала меченый гидрокарбонат и в расчет не бралась.

9 Молекулярно-генетические методы исследования

9.1 Выделение ДНК

ДНК бактерий из природных образцов и культур выделяли с помощью набора PowerMax Soil DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc., США) с модификациями.

Модифицированная методика представлена ниже.

1. 200 мкл пробы растирали пестиком в эппендорфе на 1.7 мл.
2. К пробе добавляли 100 мг разбивающих крупинок из набора, 750 мкл PowerBead solution и 60 мкл С1-буфера.
3. Взбалтывали в течение 10 мин на максимальных оборотах на Vortex adapter.
4. Центрифугировали 30 с при 10 тыс. оборотов.
5. Отбирали супернатант (500 мкл) в чистый эппендорф и добавляли 250 мкл С2-буфера.
6. Взбалтывали в течение 5 с на максимальных оборотах на Vortex adapter.
7. Инкубировали 5 мин при 4°C.
8. Центрифугировали 1 мин при 10 тыс. оборотов.
9. Отбирали супернатант (600 мкл) в чистый эппендорф и добавляли 200 мкл С3-буфера, аккуратно перемешивали.
10. Инкубировали 5 мин при 4°C.
11. Центрифугировали 1 мин при 10 тыс. оборотов.
12. Отбирали супернатант (700 мкл) в чистый эппендорф на 2 мл и добавляли 1200 мкл С4-буфера.
13. Взбалтывали в течение 5 с на максимальных оборотах на Vortex adapter.
14. Наносили на колонку по 675 мкл (за 3 раза) и центрифугировали 1 мин при 10 тыс. оборотов.
15. Наносили на колонку 500 мкл С5-буфера.
16. Центрифугировали 1 мин при 10 тыс. оборотов.
17. Удаляли жидкость и вновь центрифугировали 1 мин при 10 тыс. оборотов.
18. Помещали колонку в чистый эппендорф и элюировали 100 мкл С6-буфера.
19. Центрифугировали 1 мин при 13 тыс. оборотов и выкидывали колонку.

Концентрацию и качество выделенной ДНК оценивали с помощью спектрофотометра SmartSpec 3000 (BIO-RAD, США).

9.2 Амплификация фрагментов исследуемых генов

Амплификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 1^x буфер полимеразы «BioTaq» (2 mM MgCl₂; 17 mM (NH₄)₂SO₄; 67mM Трис-НСl, рН 8.8), по 6 нмоль каждого из дНТФ, 20 нг ДНК-матрицы, по 6.25 пмоль прямого и обратного праймеров и 1.5 ед. «BioTaq DNA» полимеразы (Диалат ЛТД, Россия). ПЦР проводили с помощью термоциклера Mastercycler gradient (Eppendorf, Германия).

Для идентификации АНФБ в природных образцах и накопительных культурах применяли праймерные группоспецифические системы для гена 16S рРНК и оперона *pufLM*. Данные праймерные системы использовали для ПЦР и для последующего секвенирования полученных продуктов. Характеристика праймерных систем представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Использованные группоспецифические праймеры.

Целевая группа	Маркер	Праймерная система	Последовательности праймеров	Размер ампликона	Ссылки
<i>Chloroflexus</i> spp. <i>Oscillochloris</i> spp.	<i>pufL/M</i>	GreenpufF/ GreenpufR	(F) 5'- CGAGCCGGARTAYAAGATCAA-3' (R) 5'-AGAAGATCGAGAGCATGTG- 3'	1600 п.н.	(Калашников и др., 2014)
Пурпурные бактерии	<i>pufL/M</i>	RedpufF/ RedpufR	(F) 5'-СТКТТCGACTTCTGGGTCGG- 3' (R) 5'-CCATSGTCCAGCGCCAGAA - 3'	1520-1580 п.н.	(Béjà et al, 2002)
Фототрофные <i>Chloroflexi</i>	16S	ChiF/ChiR	(F) 5'- TGGCTCAGGACGAACGCT -3' (R) 5'- AGTCGCGACCCCTGCCCT -3'	1400 п.н.	(Gorlenko et al, 2014)
Зеленые серобактерии	16S	F-99-GSB/ R-1369	(F) 5'- TGGCTCAGGACGAACGCT -3' (R) 5'- AGTCGCGACCCCTGCCCT -3'	1220 п.н.	(Alexander et al, 2002)

Температурно-временной профиль ПЦР для праймерной системы GreenpufF/GreenpufR: первый цикл - 94°C × 2 мин, 56°C × 30 с, 72°C × 1 мин 30 с; последующие 42 цикла - 94°C × 30 с, 56°C × 30 с, 72°C × 1 мин 30 с; завершающий цикл - 72°C × 5 мин.

Температурно-временной профиль ПЦР для праймерной системы RedpufF/RedpufR: первый цикл - 94°C × 2 мин, 56°C × 30 с, 72°C × 1 мин 30 с; последующие 37 циклов - 94°C × 30 сек, 56°C × 30 с, 72°C × 1 мин 30 с; завершающий цикл - 72°C × 5 мин.

Температурно-временной профиль ПЦР для праймерной системы ChiF/ChiR: первый цикл - 94°C × 9 мин, 60°C × 1 мин, 72°C × 1 мин; последующие 35 циклов - 94°C × 1 мин, 60°C × 1 мин, 72°C × 2 мин; окончательная полимеризация - 72°C × 7 мин.

Температурно-временной профиль ПЦР для праймерной системы F-99-GSB/R-1369: первые 10 циклов - 94°C × 5 мин, 67°C × 30 с, 72°C × 30 с; последующие 20 циклов - 94°C × 30 с, 57°C × 40 с, 72°C × 30 с; 42°C × 1 мин, окончательная полимеризация - 72°C × 7 мин.

Для идентификации чистых культур, а также для анализа состава микробного сообщества проводили ПЦР с помощью универсальных эубактериальных праймеров Univ27f и Univ1492r, специфичных для гена 16S рРНК (Lane, 1991).

9.3 Детектирование продуктов ПЦР

Оценку качества продуктов ПЦР проводили при помощи электрофореза в 1%-ном агарозном геле в 1^x ТАЕ-буфере (40 mM Трис; 20 mM ацетат; 1 mM ЭДТА, pH 7.4). Документирование результатов электрофореза проводили при помощи системы «BioDoc II» (Biometra, Германия). Для анализа отбирали 3 мкл реакционной смеси и добавляли 1 мкл краски (50% глицерина, 6^x ТАЕ буфер (0.24 M трис-ацетат; 0.006 M ЭДТА), 0.025% бромфеноловый синий; 0.025% ксилен-цианол). В качестве стандарта размеров фрагментов использовали маркер молекулярной массы ДНК «1 kb plus DNA ladder» (Fermentas, Литва).

9.4 Очистка ПЦР-фрагментов

ПЦР-продукты очищали от примесей и неспецифичных продуктов реакции при помощи электрофореза в 0.8%-ной агарозе. По окончании электрофореза гель освещали длинноволновым ультрафиолетом и вырезали фрагменты геля, содержащие ПЦР-продукты соответствующей длины. Вырезанные фрагменты геля очищали с помощью набора «PCR-Wizard purification Kit» (Promega, США), согласно инструкции производителя. Очищенные ПЦР-продукты хранили при температуре -20°C.

9.5 Секвенирование ДНК

Секвенирование проводили с использованием уникального научного оборудования ЦКП «Биоинженерия», ФИЦ Биотехнологии РАН. Использовали автоматический генетический анализатор DNA Analyzer 3730 (Applied Biosystems, США) и набор реактивов «BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit» (Applied Biosystems, США), согласно инструкции производителя.

9.6 Анализ бактериального состава исследованных матов

Аmplификацию и секвенирование варибельного участка V3-V4 (с использованием стандартных праймеров Illumina 5'-CCTACGGGGGGGGGCGC-3' и 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') гена 16S рРНК проводили с помощью секвенатора Illumina MiSeq (парные чтения 2 × 250 bp), при использовании в качестве матрицы ДНК, выделенную из

матов для ПЦР. Последовательности депонировали в Sequence Read Archive (SRA) в NCBI. Обработку данных проводили при помощи программы QIIME (версия 1.9.1) (Caporaso et al, 2010). Все предполагаемые химеры проверяли с помощью инструмента поиска при использовании справочной бесхимерной базы в соответствии с алгоритмом UCHIME (Edgar et al, 2011). OTU (operational taxonomic unit, операционные таксономические единицы) выделяли на основании кластерного анализа и считали отдельной OTU группу последовательностей, сходных между собой более, чем на 97%. Определяли таксономическое положение OTU с использованием базы данных RDP (<http://rdp.cme.msu.edu>) (Wang et al, 2007). Для последующего анализа использовали относительную численность каждой группы на разных таксономических уровнях (тип, класс, порядок, семья и род).

Разнообразие прокариотных сообществ различных горизонтов оценивали по нескольким показателям: количеству выделенных OTU (*Sobs*, аналог видового богатства) и индексу Chao1, оценивающему предположительное реальное количество OTU в сообществе ($Chao1 = S_{obs} + \frac{a^2}{2b}$, где *Sobs* – число обнаруженных OTU, *a* – число OTU, содержащих одну последовательность, *b* – число OTU, содержащих две последовательности). (Hughes et al, 2001).

9.7 Секвенирование геномной ДНК

Геномную ДНК раздробили на фрагменты длиной 230 п.н. с помощью Illumina HiSeq 1500. Библиотеку фрагментов сделали с помощью наборов NEBNext® DNA Library Prep Reagent Set for Illumina® согласно инструкции производителей. Вставки секвенировали с помощью секвенатора HiSeq1500 (Illumina, США).

Для штамма Kir15-3F получили 4,793,690 чтений, давших 163,8-кратное покрытие генома бактерии. Чтения обработали с помощью программы FastQC v. 0.11.7 (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Полученные 291 контигов проверили на наличие контаминаций с помощью CheckM 1.0.11 (Parks et al, 2015). Финальная сборка генома составила 5,588,620 п.н. Аннотацию контигов выполнили с помощью NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (Tatusova et al, 2013), было идентифицировано 4657 генов, 4595 кодирующих последовательностей, 46 генов тРНК и 10 рРНК генов. Финальную геномную последовательность депонировали в базу данных GenBank под номером NQWI00000000.

Для штамма Chok-6 получили 4,884,260 чтений, давших 32-кратное покрытие генома бактерии. Получили 1162 контигов. Финальная сборка генома составила 6,104,039 п.н. Было идентифицировано 4725 генов, 4670 кодирующих последовательностей, 149 псевдогенов и 45 генов тРНК. Финальную геномную последовательность депонировали в базу данных GenBank под номером RSAS000000000.

9.8 Анализ полученных последовательностей

Полученные *de novo* последовательности сравнивали с последовательностями базы данных «GenBank» с помощью программы «BLAST» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Редактирование и выравнивание последовательностей, выявление открытых рамок считывания и компьютерное транслирование проводили с помощью программы «BioEdit» (Hall, 1999). Выявление химерных последовательностей выполняли с помощью программы «DECIPHER» (Wright et al, 2012). В случае положительного результата соответствующую последовательность дополнительно проверяли с помощью программы «Pintail 1.0» (Ashelford et al, 2005). Построение дендрограмм проводили с помощью программного пакета «MEGA 6.0» (Tamura et al, 2013).

9.9 Флуоресцентная гибридизация *in situ*

Для идентификации 16S рРНК штаммов Kir15-3F и Chok-6 использовали флуоресцентную гибридизацию *in situ*. Клетки фиксировали в течение 1.5 ч в растворе параформальдегида (конечная концентрация 3%), дважды отмывали в буфере PBS (pH 7.2), суспендировали в растворе (1:1) PBS : этанол (96%) и хранили при -20°C. Разработали зонд Virbin1 (5'-CTGGCGCTTTCAGCACCGACGCAA-3'), меченный Cy3 и специфичный к последовательности 16SpРНК клеток штамма Kir15-3F. Зонд разработали при помощи сервиса Decipher (Wright et al, 2014). Специфичность разработанного зонда проверили с помощью онлайн-сервиса probeCheck (Loy et al, 2008). В результате было показано, что никакая другая последовательность в базе данных SILVA111 не имеет участков комплементарных последовательности зонда. Универсальный зонд EUB338 (5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3'), меченный Cy3, использовали в качестве положительного контроля (Amann et al, 1990).

Образцы фиксированных клеток наносили на предметные стекла и высушивали при 46°C в течение 15 минут. Затем проводили гибридизацию по стандартной методике (Pernthaler et al, 2001). Условия гибридизации варьировали изменением концентрации формамида в гибридизационном буфере (20-35%). После гибридизации и отмывки пробы окрашивали 1мкМ раствором универсального ДНК-специфичного красителя DAPI в течение 10 мин, промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе. Препараты анализировали с использованием микроскопа Nikon Eclipse Ti (Nikon, Japan).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе были исследованы 4 водоема разного типа. Для этого было отобрано по несколько образцов из содового озера Киран (республика Бурятия), солевых маршей и литорали озер, имевших связь с Кандалакшским заливом Белого моря, Чокракских источников (республика Крым) и теплых высокоминерализованных источников Дагестана.

10 Микробные маты содового озера Киран

10.1 Характеристика местообитания

Уникальной экстремальной экосистемой Кяхтинского района Бурятии, расположенного вблизи границы с Монголией, является высокоминерализованное озеро Киран, также известное под названиями озеро Соленое или озеро Киранское. Озеро Киран впервые описано в литературе естествоиспытателем и путешественником П.С. Палласом. В 1825 году здесь была построена первая грязелечебница. В 1885-1924 гг. рапу озера использовали для добычи поваренной соли. Позднее были пробурены поисковые скважины, через которые произошло обводнение озера, и за счет этого распреснение и увеличение его площади. Ранее в работах Егоровой с соавторами (Егорова и др., 2011) и Цыреновой с соавторами (Цыренова и др., 2011) описаны цианобактерии в воде и микробном мате озера. Однако до наших исследований ничего не было известно о видовом составе АФБ в экосистеме озера.

Озеро Киран относится к типу непересыхающих содово-соленых озер и известно как рапное, карбонатное, с большой примесью хлоридов. Оно не имеет стока и водно-солевое питание получает за счет грунтовых вод (скважин) и временных дождевых потоков. Площадь водного зеркала составляет 0.36 км², глубина – 1.5 м, длина колеблется от 1 до 3 км, ширина в среднем 700 м. Уровень воды и общая минерализация рапы постоянно изменяются, в зависимости от сезона года и уровня осадков (Ткачук, Толстихин, 1961). Колебания рН незначительны и составляют 9.4-10.2 (Намсараев и др., 2009). В настоящее время сульфидсодержащие донные отложения озера Киран используются в бальнеологических целях.

Отбор проб проводили 3-его сентября 2015 года, когда процесс цветения воды был практически закончен. На момент отбора проб температура воды в озере составляла 28-31°C, рН 9.2-9.3. По химическому составу вода озера относится к карбонатно-натриевому типу с общей минерализацией около 35 г/л (таблица 4). Образцы 1-3 были отобраны вблизи берегов озера Киран и представляли собой цианобактериальные маты толщиной 1-5 мм.

Таблица 4. Значение рН и концентрация ионов (мг/л) в природных образцах

Образец	М, г/л	рН	NH ₄ ⁺	Na ⁺	Ca ⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	CO ₃ ⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	F ⁻	nSiO ₂ •mH ₂ O	Координаты
1	35	9.3	39.58	11017	162.32	3.65	14644	3601	6.78	<0.02	5594	230.47	12.53	134.77	50.330286 с.ш., 106.853501 в.д.
2	35	9.2	39.58	11017	148.30	13.38	14340	3901	6.49	0.14	5506	159.56	13.60	11.91	50.332958 с.ш., 106.851128 в.д.
3	36*	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	50.331991 с.ш., 106.849180 в.д.

н/д – измерения не проводились, * - измерения проводились при помощи рефрактометра в лаборатории.

Микробные маты в озере формировались за счет разложения планктонных микроорганизмов, среди которых преобладали цианобактерии. Для исследования были отобраны природные образцы в трех точках вдоль побережья озера Киран – образцы Кир1, Кир2, Кир3. Первая точка отбора находилась в месте пассивного оседания цианобактерий, тогда как две других отобраны у северо-восточного побережья, в мелководной части которого происходило накопление отмирающего планктона в результате преобладающих нагонных ветров.

10.2 Тотальный пигментный состав матов

Анализ тотальных препаратов пигментов из природных образцов озера Киран (рис. 7) выявил, что доминирующим пигментом исследованных микробных сообществ во всех образцах является характерный для цианобактерий хлорофилл *a* (максимум поглощения *in vivo* 670 нм). В образцах 2 и 3 были выявлены пики поглощения бактериохлорофилла *a* с максимумами *in vivo* при 797 и 854 нм, и пик бактериохлорофилла *a* с максимумом 896 нм в дальней инфракрасной области. Присутствие бактериохлорофилла *a* в значительных количествах характерно для клеток пурпурных бактерий. Только в образце 2 присутствовал отчетливый пик бактериохлорофилла *c* с максимумом 748 нм, который свойственен для хлоросомсодержащих бактерий.

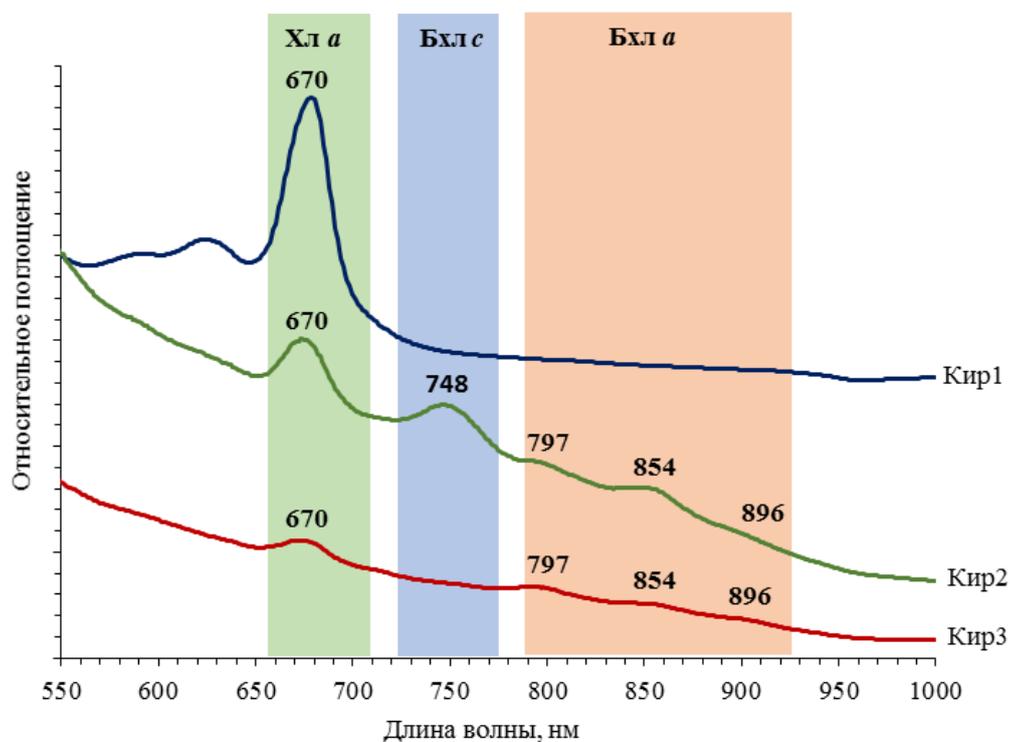


Рисунок 7. Спектры поглощения пигментов целых клеток природных образцов из озера Киран.

10.3 Вертикальная структура матов по стеклам обрастания и микроскопия

Использование стекол обрастания и последующий подсчет фотосинтезирующих бактерий под микроскопом с фазовым контрастом позволили детально изучить тонкое распределение отдельных видов по вертикали на поверхности мата в природных образцах 2 и 3. Таксономическая принадлежность основных морфотипов цианобактерий в микропрепаратах бактерий из природных образцов была установлена с помощью определителя (Komárek, Anagnostidis, 2005).

На рисунке 8 показано, что в образце 3 верхнюю аэробную микрозону занимали цианобактерия *Geitlerinema* sp. и мелкие формы нефототрофных бактерий. Эти бактерии достигали максимальной численности на глубине 2-3 мм от поверхности воды. Также в образце 2 присутствовала бактерия *Ectothiorhodospira* sp. с максимумом численности на глубине 2 мм.

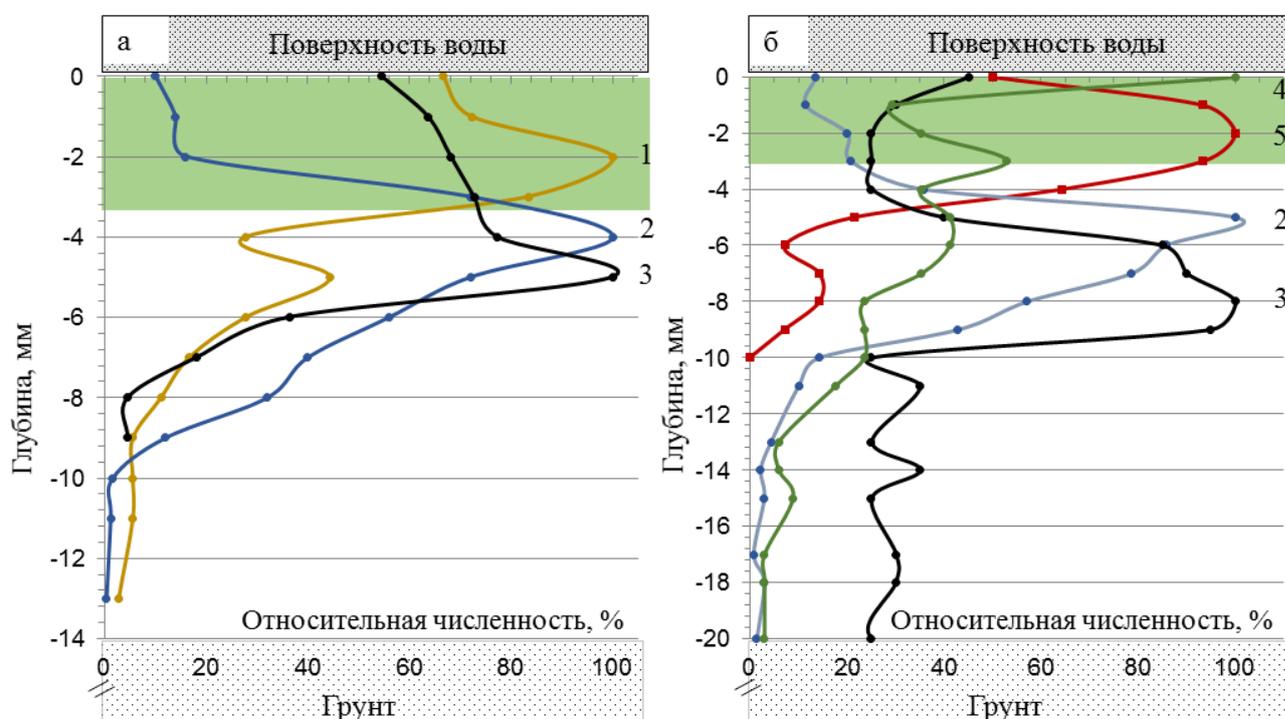


Рисунок 8. Распределение бактерий по вертикали в природных образцах 2 (а) и 3 (б). Номера линий соответствуют бактериям: 1 – *Ectothiorhodospira* sp., 2 – зеленая нитчатая бактерия (АНФБ); 3 – *Ectothiorhodospira magna* или *Thiorhodospira sibirica*; 4 – мелкие нефототрофные формы бактерий; 5 – *Geitlerinema* sp. Зеленым цветом отмечена цианобактерия *Arthrospira platensis*. Для каждого препарата максимальная численность той или иной бактерии, наблюдаемой в вертикальном профиле, была принята за 100%. Изменение численности в соответствии с глубиной определяли относительно соответствующего максимального значения.

В обоих образцах присутствовала зеленая нитчатая бактерия с бактериохлорофиллом *s.* Этот микроорганизм достигал максимума численности на глубине 4-5 мм. В исследованных микробных матах в образцах 2 и 3 обнаружена пурпурная бактерия, близкая по морфологии с

Ectothiorhodospira magna и *Thiorhodospira sibirica* (рис. 8). Максимум ее численности был на глубине 5 мм в образце 2 и 8 мм в образце 3. Цианобактерия *Arthrospira platensis* находилась в верхней части микробного мата, занимая узкую микрозону. Ее численность не была подсчитана из-за высокой плотности клеток этого микроорганизма, присутствовавших на стекле (рис. 8).

Во всех образцах в большом количестве наблюдали присутствие цианобактерии *Arthrospira platensis* (рис. 9а), клетки которой оседали из водной толщи после массового цветения воды. Остальные цианобактерии входили в состав исследованных цианобактериальных матов: *Halomicronema metazoicum* (рис. 9а) и *Leptolyngbya fragilis* (рис. 9б) присутствовали в образце 1, *Geitlerinema sp.* (рис. 9в) – во всех трех образцах, *Spirulina major* (рис. 9г) – в образцах 1 и 2, *Phormidium etoshii* (рис. 9д) – в образце 3.

В микропрепаратах всех исследованных природных образцов присутствовали пурпурные серные бактерии семейств *Ectothiorhodospiraceae* и *Chromatiaceae*. В образце 1 наблюдали большое количество мелких спирилл с внутриклеточной серой, морфологически сходных с *Thiorhodovibrio winogradskyi* (рис. 9е). В образце 3 присутствовал морфотип *Chromatium sp.* (рис. 9ж). В образцах 2 и 3 в значительном количестве присутствовали крупная пурпурная серобактерия, предположительно *Ectothiorhodospira magna* или *Thiorhodospira sibirica*, и мелкие клетки *Ectothiorhodospira sp.* (рис. 9ж).

В образце 2 и 3 в значительном количестве обнаружена нитчатая зеленая бактерия (рис. 9з), морфология которой была характерна для АНФБ филума *Chloroflexi*.

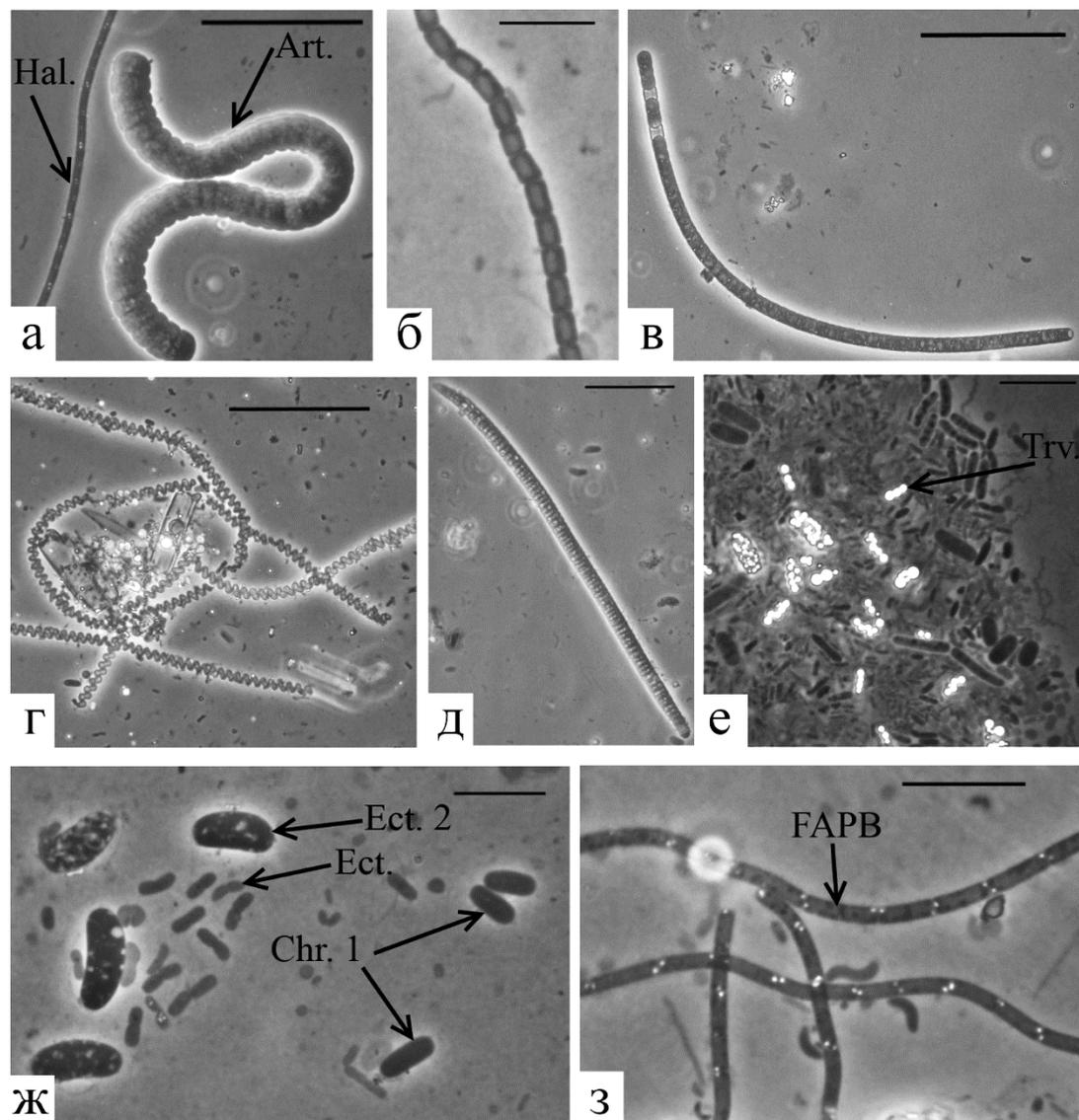


Рисунок 9. Морфотипы фототрофных бактерий в природных образцах: а – *Halomicronema metazoicum* Caroppo, Pagliara & Albertano (Hal.) и *Arthrospira platensis* Gomont 1892 (Art.); б – *Leptolyngbya fragilis* (Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988; в – *Geitlerinema* sp.; г – *Spirulina major* Kutzing et. Gomont 1892; д – *Phormidium etoshii* Dadheech, Casamatta, Casper & Krienitz 2013; е – *Thiorhodovibrio winogradskyi* (Trv.); ж – *Chromatium* sp. 1 (Chr. 1), *Ectothiorhodospira* sp. (Ect.), *Ectothiorhodospira magna* или *Thiorhodospira sibirica* (Ect. 2); з – зеленая нитчатая бактерия (АНФБ); Масштаб: а-д – 50 мкм; е-з – 10 мкм.

10.4 Состав микробных сообществ матов Кирана по данным высокопроизводительного секвенирования

В исследованных бактериальных сообществах обнаружено большое число флотипов, выраженных в OTU (операционных таксономических единицах). Показатели разнообразия были подсчитаны для каждого образца (таблица 5). Средняя длина полученных последовательностей составила 440 нуклеотидов.

Таблица 5. Распределение бактериальных OTU в филогенетических группах (в %) в исследованных образцах микробных матов.

Филогенетическая группа	Образец		
	1	2	3
Bacteroidetes	43.53	27.58	35.21
Proteobacteria	28.68	31.27	22.05
Суанобактерия	9.07	18.35	28.64
Verrucomicrobia	7.75	4.20	4.14
Firmicutes	1.81	8.67	5.24
Spirochaetes	3.37	4.37	1.45
Parcubacteria	1.53	0.41	0.22
Candidatus Saccharibacteria	1.29	0.16	0.49
Слоацимонетес	0.01	1.57	0.29
Fusobacteria	0.19	0.80	0.42
Chloroflexi	0.12	0.79	0.41
Deinococcus-Thermus	0.59	0.42	0.29
Tenericutes	0.21	0.26	0.47
Остальные филы	1.85	1.15	0.69
Всего парных чтений	161692	100568	96194
Количество OTU	1012	1074	935
Chao1	1101.2	1131.1	989.3
Все фототрофные бактерии (%)	14.76	25.55	42.87

В сообществе мата из оз. Киран (таблица 5) присутствовали представители филума Bacteroidetes, который являлся доминирующим в образцах 1 и 3 (43.53 и 35.21% от выявленных OTU, соответственно). Значительную часть OTU в образцах 1, 2 и 3 составляли представители филумов Proteobacteria (28.68; 31.27; 22.05%) и Суанобактерия (9.07; 18.35; 28.64%). Среди Proteobacteria преобладали члены класса *γ-proteobacteria* (13.39; 15.84; 15.38%). Также в сообществах присутствовали микроорганизмы, принадлежащие филумам Firmicutes, Spirochaetes и Verrucomicrobia (1.45-8.67%). Оставшиеся 3.05-5.15% от общего числа OTU сообществ были представлены другими малочисленными филумами.

Оксигенные прокариотные фототрофы микробного сообщества экосистемы озера, цианобактерии, были представлены 12 OTU (рис. 10а, таблица 6), из которых наиболее преобладающими были 3 филотипа – это OTU1, имеющая 99% сходства последовательностей

гена 16S рРНК с *Arthrospira platensis*, OTU3 со сходством 99% с *Geitlerinema* sp. и OTU15 со сходством 98% с *Spirulina major* (рис. 10а). Важно отметить, что *Arthrospira platensis* являлась основной планктонной цианобактерией, вызывающей обильное осеннее цветение озера Киран, что объясняет ее преобладание в обнаруженных флотипах. Остальные 9 OTU были малочисленны. Наибольшее видовое разнообразие цианобактерий установлено в образце 1. В образцах 2 и 3 преобладали только два флотипа: *Arthrospira platensis* планктонного происхождения и *Geitlerinema* sp. – основная матообразующая цианобактерия.

Таблица 6. Распределение бактериальных OTU, принадлежащим фототрофным бактериям, в филогенетических группах (в %).

Фототрофы	Образцы		
	1	2	3
АНФБ	0.01	2.24	0.37
Зеленые серобактерии	0.00	0.00	0.00
Аэробные АФБ	61.37	71.73	66.80
Несерные пурпурные бактерии	34.30	5.58	3.55
Пурпурные серные бактерии	0.67	20.13	28.93
Цианобактерии	61.37	71.73	66.80

Примечание: за 100% принимали общее количество всех фототрофных бактерий в соответствующем образце.

Несерные пурпурные бактерии были представлены тремя флотипами OTU7, OTU150, OTU289 (рис. 10б, таблица 6), близкими к алкалофильным видам *Rhodobaca bogoriensis*, *Rhodobaculum claviforme* и *Rubribacterium polymorphum* соответственно. НПБ составляли 34.30% от общего числа фототрофных бактерий в образце 1, и всего 5.58% в образце 2 и 3.55% в образце 3.

Пурпурные серные бактерии были представлены 10 OTU (рис. 10б, таблица 6) и составляли 28.93% от общего числа фототрофных бактерий в сообществе в образце 3 и 20.16% в образце 2, в то время как в образце 1 их менее 1%. Большую часть последовательностей составляла OTU2, имеющая сходство 94% с *Thiorhodovibrio winogradskyi*. Фототрофные представители семейства *Ectothiorhodospiraceae* развивались в основном в образце 2 – это OTU120 и OTU270, близкие к *Ectothiorhodospira variabilis*, OTU136, близкая к *Ectothiorhodospira magna*, и OTU88, близкая к *Halorhodospira abdelmalekii*, которая в отличие от большинства других видов семейства *Ectothiorhodospiraceae* содержит бактериохлорофилл *b*.

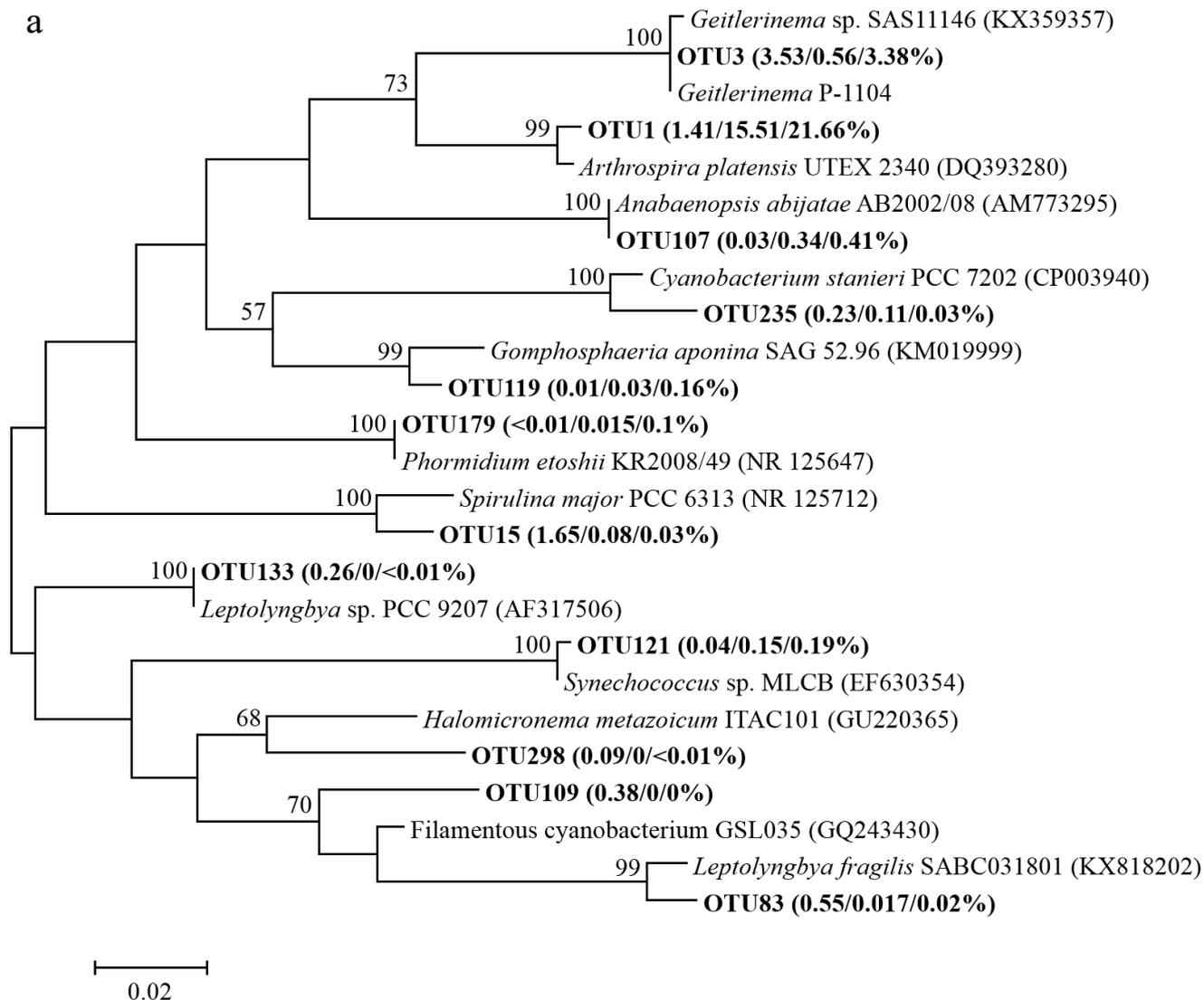


Рисунок 10. Филогенетическое дерево, показывающее филогенетическое разнообразие OTU, относящихся к цианобактериям (а), фототрофным Proteobacteria (б) и фототрофным Chloroflexi (в) в природных образцах. Дендрограмма построена на основании анализа последовательностей гена 16S рРНК с использованием алгоритма максимального подобия (Maximum Likelihood). Достоверность ветвления рассчитана по результатам анализа 500 альтернативных дендрограмм. Длина сравниваемых последовательностей составляла 440 пар нуклеотидов. На дендрограмме после номера OTU следуют цифры, отражающие процентное содержание OTU от общего числа всех бактерий в 1, 2 и 3 образцах соответственно (образец 1/образец 2/образец 3).

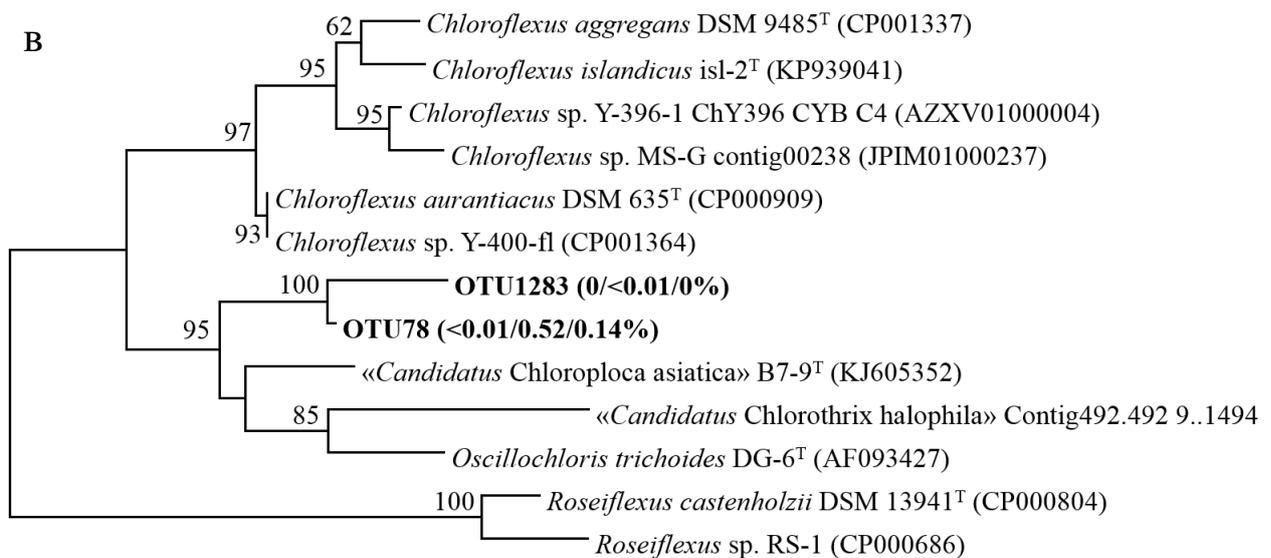
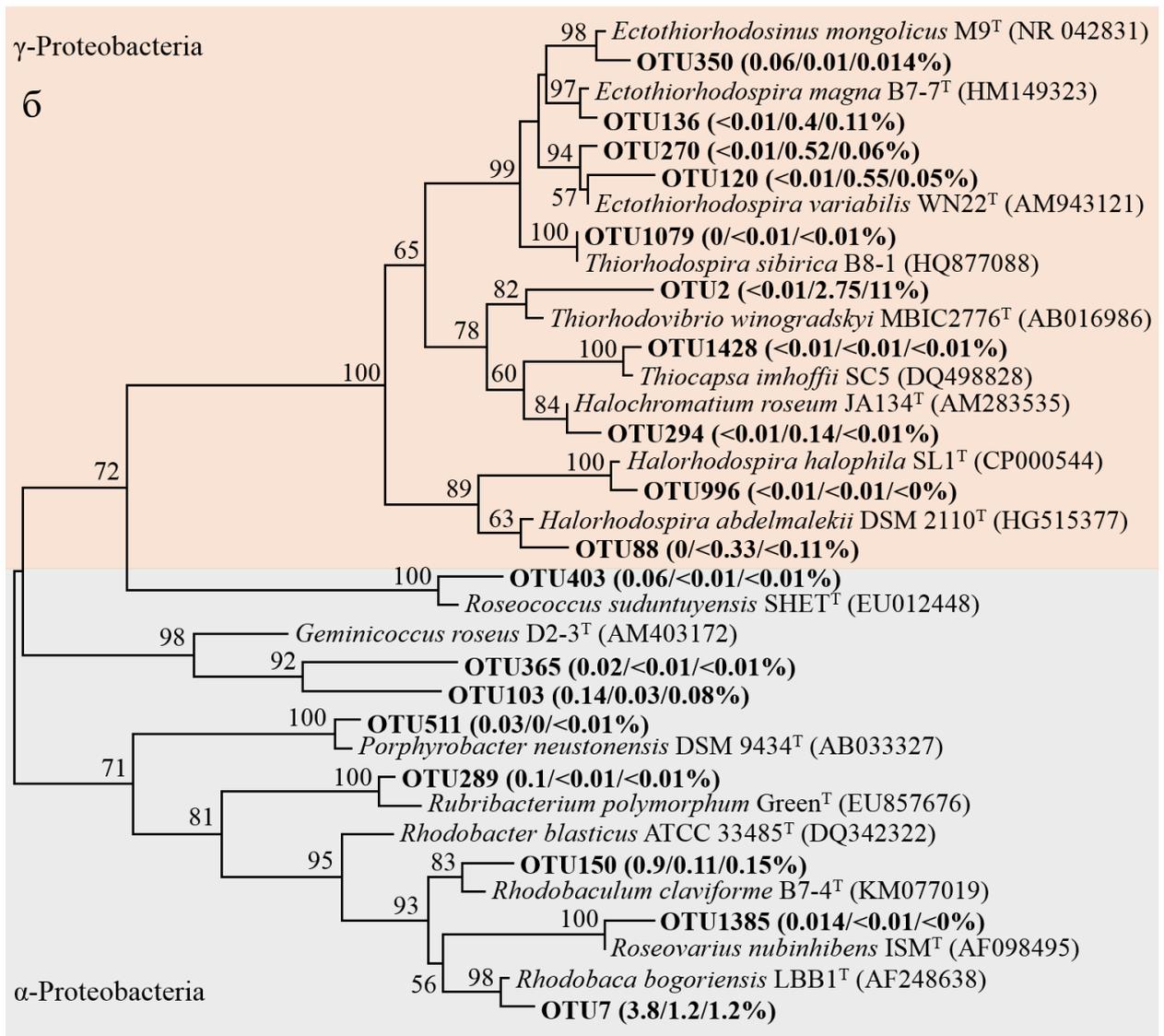


Рис. 10. (Продолжение)

Аэробные аноксигенные фототрофные бактерии в основном присутствовали в образце 1 и составляли 3.64% от общего числа фототрофных бактерий в сообществе (рис. 10б, таблица 6). Больше всего в сообществе OTU103 и OTU365, близких к *Geminicoccus roseus*. Всего аэробные АФБ представлены 5 OTU.

Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии были представлены двумя фило типами: OTU78 и малочисленной OTU1283 (рис. 10в, таблица 6). Больше всего фило типа OTU78 в образце 2 – 0.52% от общего числа фототрофных бактерий, тогда как в образце 1 данный фило тип присутствовал в следовых количествах (<0.01%). Наиболее близкой бактерией к фило типу OTU78 являлась бактерия '*Candidatus Chloroploca asiatica*', уровень сходства с которой по последовательности гена 16S рРНК составлял 94%.

Среди хемоавтотрофных бактерий в сообществе присутствовали микроорганизмы, участвующие в серном цикле: сульфатредукторы и сероредукторы и бактерии, обеспечивающие субстратами сульфидогенов. Сульфатредуцирующие бактерии относились к порядкам *Desulfabacterales* и *Desulfovibrionales*, а сероредуцирующие бактерии относились к порядку *Desulfuromonadales*.

10.5 Характеристика и таксономическое положение выделенных культур АФБ

Из природного мата (образец 2) были изолированы пять культур АФБ. В чистой культуре получены бактерии штаммов Kir-2, Kir-3 и Kir-4. Бактерии изолятов Kir-1 и Kir15-3F представляли собой так называемые монокультуры, в которых помимо одного вида АФБ присутствовали нефототрофные бактерии.

Штамм Kir-1. Клетки бактерии штамма Kir-1 имели округлую или слегка овальную форму, размер 1.35 × 2.15 мкм, чаще располагались парами, содержали внутриклеточные включения элементной серы (рис. 11), которые исчезали в процессе роста. Подвижность не наблюдали.

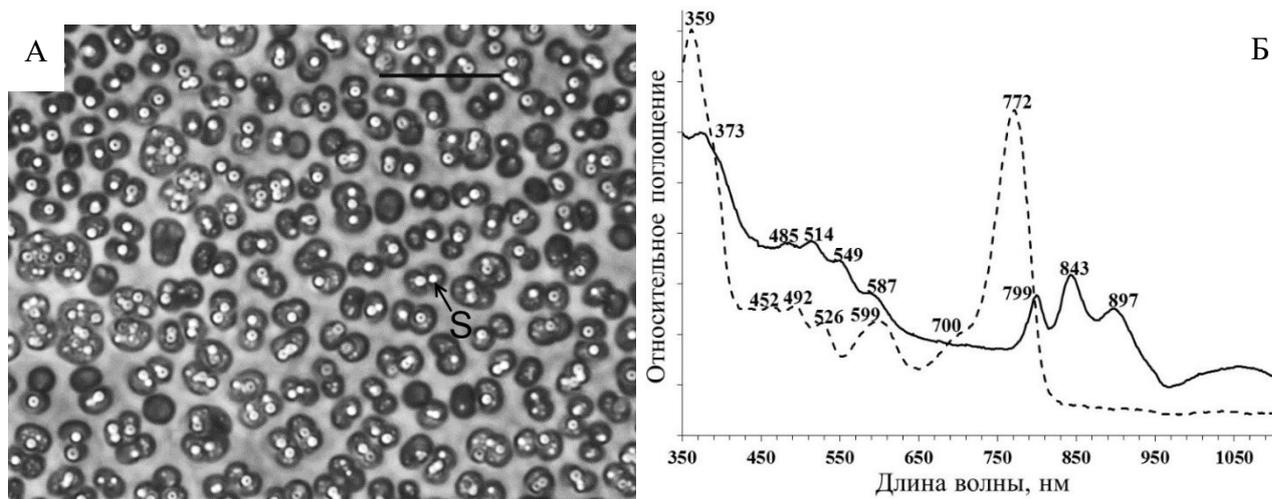


Рисунок 11. Особенности (характеристики) штамма Kir-1. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) клеток пурпурной серной бактерии штамма Kir-1. Масштаб 10 мкм. Условные обозначения: S – включение элементной серы.

Фототрофный рост бактерии штамма Kir-1 происходил в строго анаэробных условиях с сульфидом или тиосульфатом в присутствии карбоната. Клеточная суспензия клеток, содержащих гранулы элементной серы, имела темно-розовый цвет, после потребления серы суспензия приобретала пурпурный цвет. Пигментами фотосинтеза бактерии Kir-1 были бактериохлорофилл *a* и каротиноиды нормальной спириллоксантиновой серии. В спектре поглощения *in vivo* обнаружены максимумы бхл *a* при 373, (587), 799, 843, 897 нм и каротиноидов при 485, 514, 549 нм. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии имел максимумы поглощения при 359, 452, 492, 526, 599, (700), 772 нм.

По результатам анализа последовательности гена 16S рРНК штамма Kir-1 наибольшее сходство (99%) выявлено с бактерией *Thiocapsa rosea* DSM 235^T. Филогенетическое положение выделенного штамма показано на рис. 12.

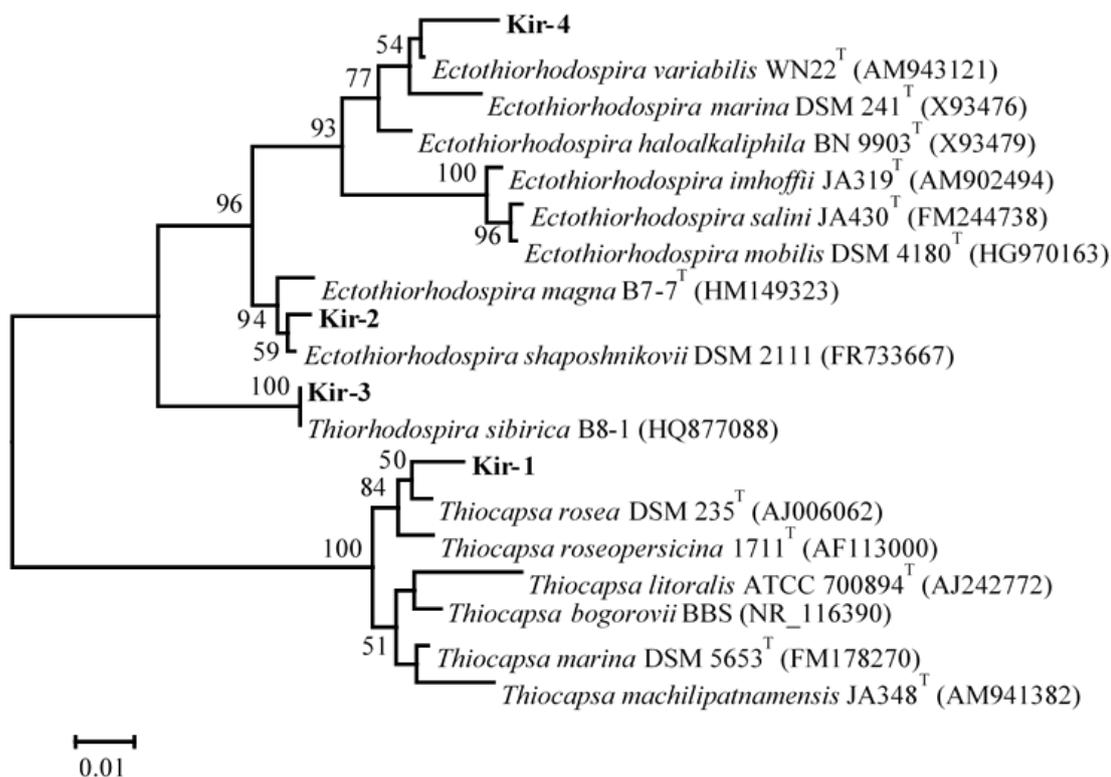


Рисунок 12. Филогенетическое положение выделенных монокультур пурпурных и зеленой несерной бактерий. Дендрограмма построена на основании анализа последовательностей гена 16S рНК с использованием алгоритма максимального подобия (Maximum Likelihood). Достоверность ветвления рассчитана по результатам анализа 500 альтернативных дендрограмм. Длина сравниваемых последовательностей составляла 1294 пары нуклеотидов.

Штамм Kir-2. Клетки штамма Kir-2 – изогнутые палочки размером 0.7-0.8 мкм в ширину и 2.2-2.7 мкм в длину (рис. 13а). Подвижны с помощью жгутиков. В процессе роста на сульфиде образовывали гранулы элементной серы, которые откладывались вне клеток и с течением времени исчезали (наблюдали при микроскопировании препаратов живых клеток).

Молодая клеточная суспензия бактерии с гранулами серы имела мутно-розовый цвет. В отсутствии гранул серы цвет клеточной суспензии был красный, в стационарной фазе роста приобретал кирпичный оттенок.

Спектр поглощения живых клеток (*in vivo*) штамма Kir-2 свидетельствовал о присутствии пигментов фотосинтеза бхл *a* с максимумами при 377, 593, 797, 862, (892) нм и каротиноидов – 460, 490, 522, (553) нм (рис. 13б). Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток показывал максимумы поглощения при 361, 443, 474, 502, 596, (700), 771 нм.

Наиболее близким к штамму Kir-2 филоотипом является бактерия *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* DSM2111 (рис.12). Уровень сходства последовательностей гена 16S рНК

составил 99%.

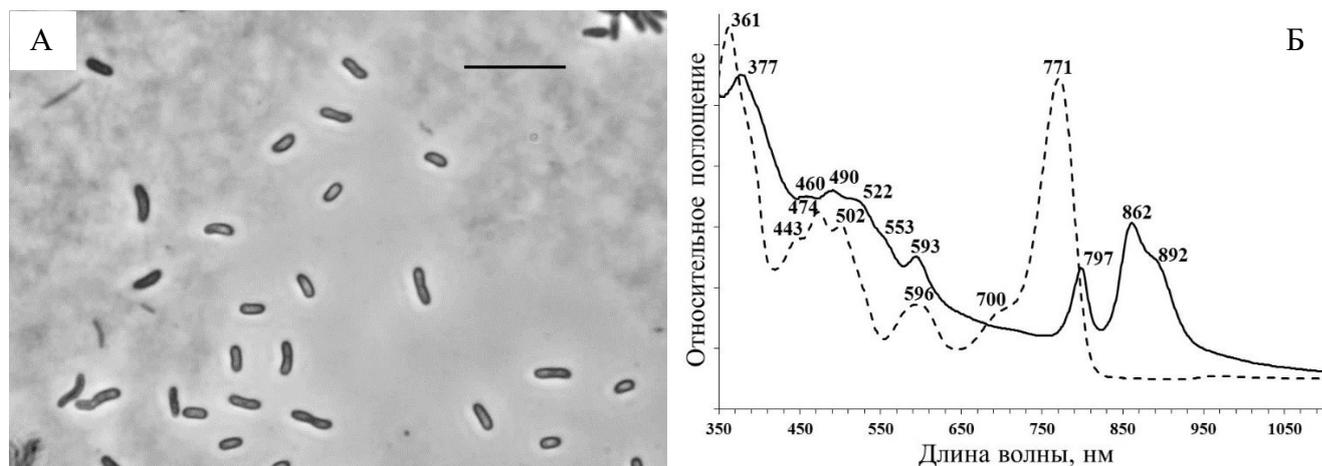


Рисунок 13. Особенности штамма Kir-2. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) клеток пурпурной серной бактерии штамма Kir-2. Масштаб 10 мкм.

Штамм Kir-3. Клетки бактерии штамма Kir-3 были спиралловидной формы размером 2.5-3.5 мкм в ширину и 9.0-15.0 мкм в длину (рис. 14а). Подвижные при помощи пучка жгутиков, который при закручивании жгутиков между собой становился видимым в световой микроскоп.

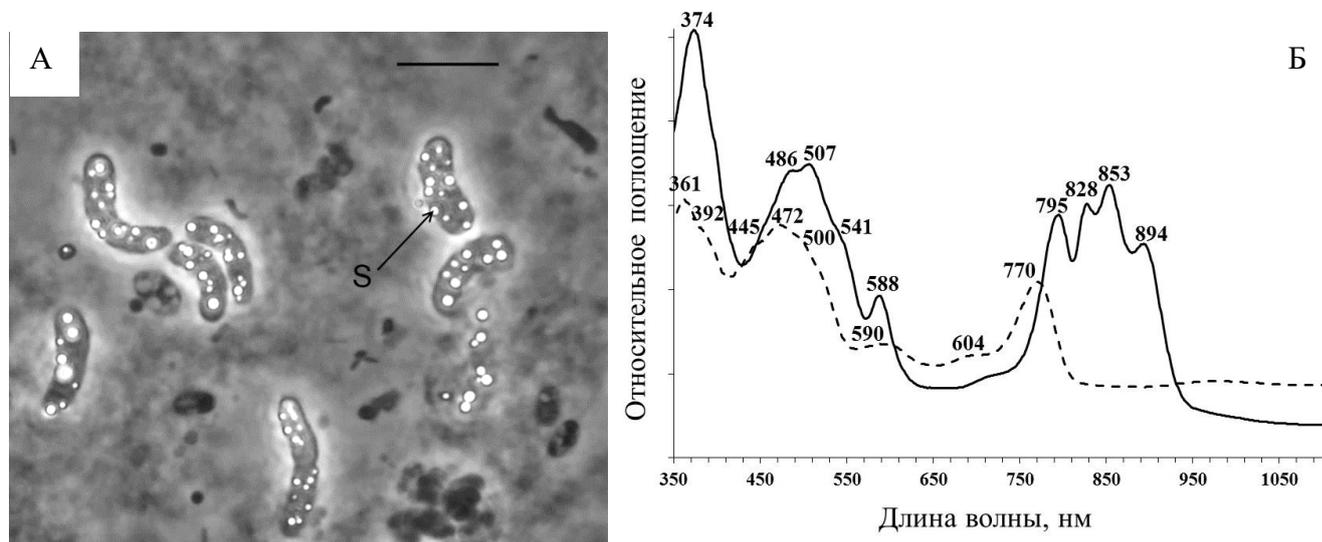


Рисунок 14. Особенности штамма Kir-3. А- Морфология и Б- спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) клеток пурпурной серной бактерии штамма Kir-3. Масштаб 10 мкм. Условные обозначения: S – включение элементной серы.

Клеточная суспензия бактерии имела коричнево-красный или красный цвет. Пигментами фотосинтеза бактерии являлись бактериохлорофилл *a* и каротиноиды спириллоксантиновой

серии. Спектр поглощения *in vivo* показывал максимумы бхл *a* при 374, 588, 795, 828, 853, 894 нм и каротиноидов при 486, 507, (541) нм (рис. 14 б). Наличие в ближней инфракрасной области четырех максимумов бактериохлорофилла *a* (795, 828, 853, 894 нм) уникально и характерно только для единственного известного вида *Thiorhodospira sibirica*. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии показывал максимумы при 361, 445, 472, (500), 590, (604), 770 нм (рис. 14 б).

Наиболее близким к штамму Kir-3 филотипом является *Thiorhodospira sibirica* B8-1 (рис. 12). Уровень сходства последовательностей гена 16S рРНК составляет 99%.

Штамм Kir-4. Клетки штамма Kir-4 имели форму овала или палочки (рис. 15а), размером 1.35-1.60 мкм в ширине и 2.4-2.7 мкм в длине. Клетки образовывали газовые везикулы и были подвижны при помощи жгутиков.

Цвет клеточной суспензии, содержащей газовые вакуоли, пурпурно-красный, а в их отсутствии – темно-красный. В спектре поглощения *in vivo* обнаружены максимумы бхл *a* при 376, 593, 796, 855, (892) нм и каротиноидов 460, 487, 519, (550) нм (рис. 15б). Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии имел максимумы поглощения при 361, 442, 471, 500, 593, 695, 770 нм (рис. 15б).

Наиболее близким к штамму Kir-4 филотипом является *Ectothiorhodospira variabilis* WN22^T (рис. 12). Уровень сходства последовательностей гена 16S рРНК составляет 99%.

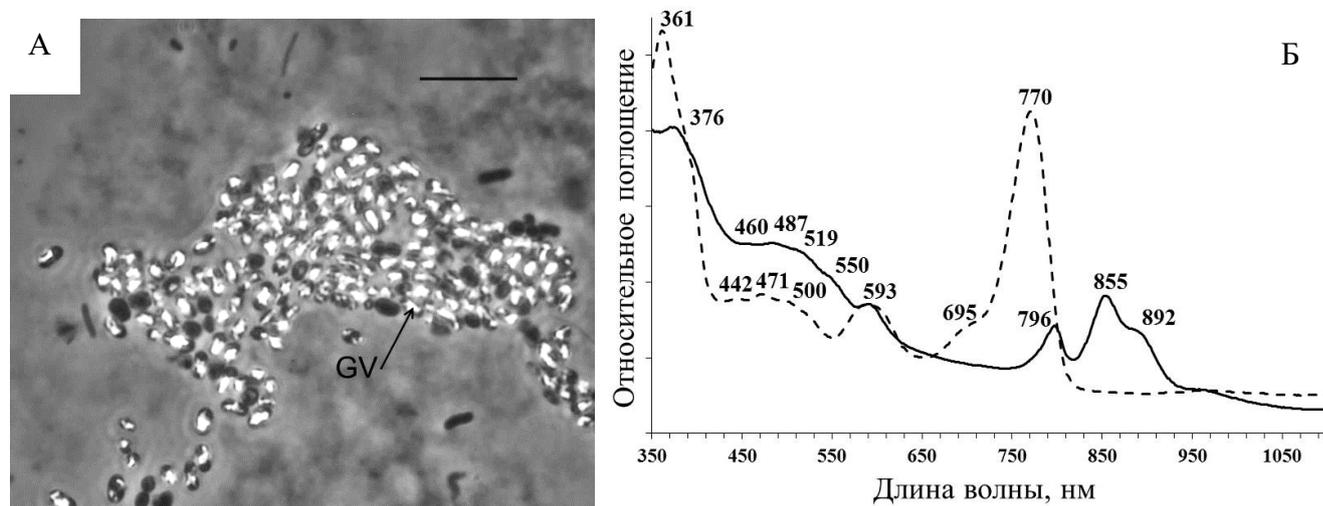


Рисунок 15. Особенности штамма Kir-4. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) клеток пурпурной серной бактерии штамма Kir-4. Масштаб 10 мкм. Условные обозначения: GV – газовые вакуоли.

10.6 ‘*Candidatus Viridilinea mediisalina*’ Kir15-3F – новая аноксигенная нитчатая фототрофная бактерия из озера Киран

Из проб прибрежного мата озера Киран (образец 2) методом последовательных разведений на агаризованной среде (см. пункт 8.1 в разделе Методы) была выделена монокультура АНФБ - штамм Kir15-3F. Основные характеристики этой бактерии приводятся ниже.

10.6.1 Морфологическая характеристика

Клетки штамма Kir15-3F образовали многоклеточные филаменты различной длины. Клетки содержали газовые вакуоли, яркие внутриклеточные включения вблизи межклеточных перегородок (Рис. 16в). Эти включения расположены независимо от местоположения клетки внутри филамента. Значительный объем клетки мог быть заполнен соединениями низкой плотности, возможно, полигидроксиалканоатами (вставка на рис. 16в). Методом ПЭМ показано присутствие хлоросом и газовых вакуолей, локализованных на одном или обоих полюсах клеток (рис. 16г, д). Кроме того, на фотографиях ПЭМ видны ребристые внешние слои оболочки клетки (рис. 16г). Многоклеточные филаменты штамма Kir15-3F были подвижными. Представленные фенотипические признаки характерны для других мезофильных АНФБ, таких как *Oscillochloris trichoides* и ‘*Ca. Chloroploca asiatica*’ (Gorlenko et al, 2014; Keppen et al, 1994). Следовательно, можно сделать вывод, что эти бактерии обладают одинаковым фенотипом.

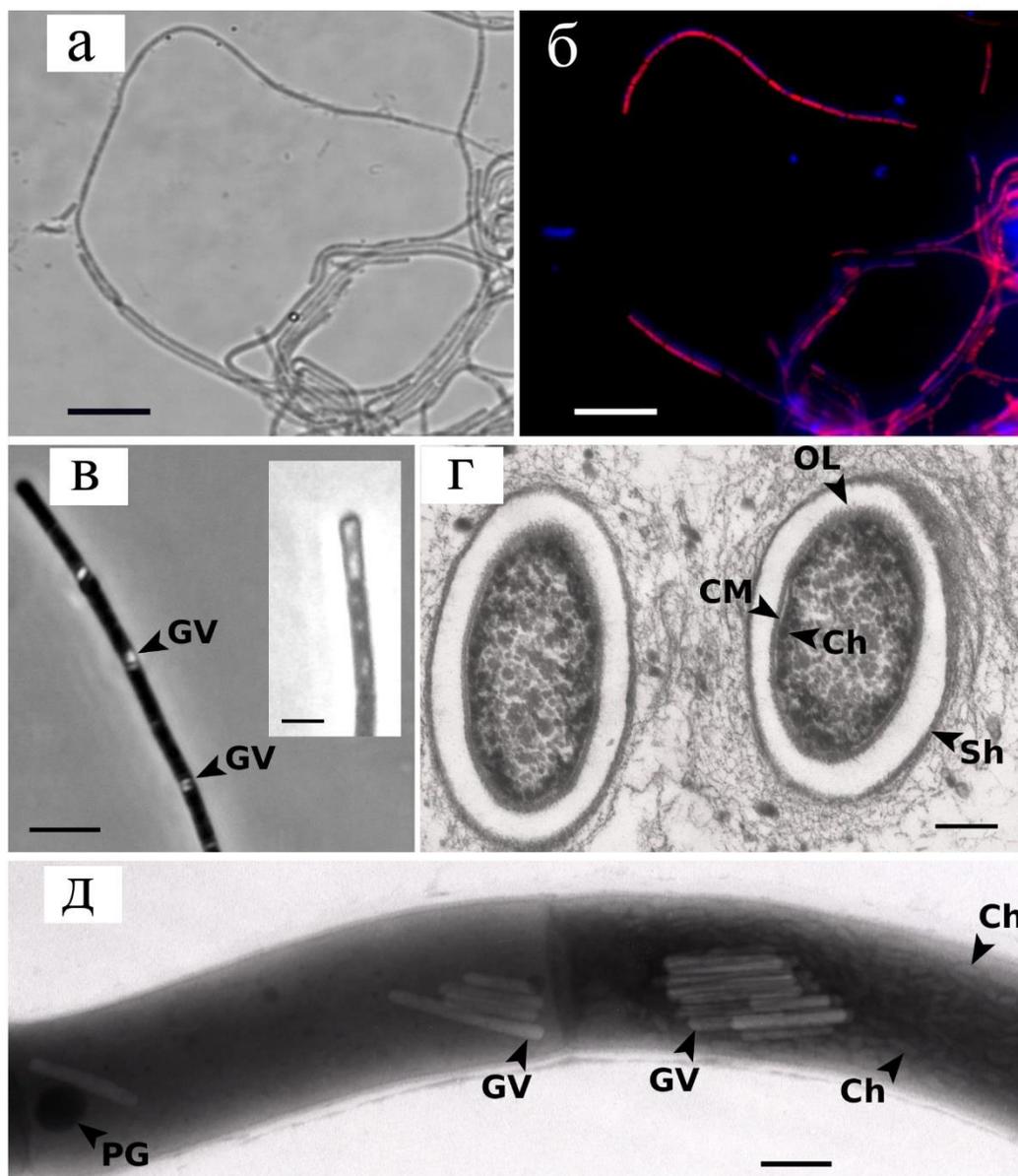


Рисунок 16. Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), морфология и ультраструктура Kir15-3F. Фазово-контрастное изображение (а) и наложение изображений пробы FISH (красный) и DAPI (синий) (б). Газовые вакуоли в клетках в фазово-контрастном изображении (в). Просвечивающие электронные микрофотографии клеток в ультратонком сечении (г) и в многоклеточном филаменте (д). Масштаб: 20 мкм (а и б), 10 мкм (в), 190 нм (г), 250 нм (д). Условные обозначения: Ch – хлоросома, CM – цитоплазматическая мембрана, GV – газовая вакуоль; OL – внешний слой клеточной стенки, PG – полифосфатоподобная гранула.

10.6.2 Пигменты клеток

Как и в микрокосме, так и в жидкой среде, штамм Kir15-3F формировал зеленую биопленку. На твердой среде бактерия образовывала сферические зеленые колонии. Спектральный анализ мембранной фракции, ресуспендированной в трис-HCl-буфере, позволил получить спектр поглощения с пиками при 450 и 745 нм, с небольшими пиками при 615 и 860 нм, а также с плечами при 515, 674 и 805 нм (рис. 17а). В смеси ацетон-метанол (7: 2, об. / об.)

спектр поглощения имел пики при 430, 615, 656 и 775 нм и плечи при 463 и 485 нм (рис. 17а). Спектр поглощения пигментного экстракта в петролейном эфире показывал пики при 429, 459, 612, 653 и 772 нм и плечо при 485 нм (рис. 17а).

Мы обнаружили три формы бактериохлорофилла *d* и две формы бактериохлорофилла *c*, а также небольшие количества бактериохлорофилла *a*, ликопина, γ -каротина и β -каротина (соотношение для последних трех 4.1:49.1:46.8%) (рис. 17б). На бактериохлорофиллы *d*, *c* и *a* приходится соответственно 51.8, 47.6 и 0.6% от общего клеточного бактериохлорофилла. Ранее значительное количество бактериохлорофилла *d* было обнаружено только у планктонных видов рода *Chloronema* из пресноводных озер (Дубинина, Горленко, 1975).

10.6.3 Физиологические свойства

Бактерия Kir15-3F не росла в темноте ни в анаэробных, ни в аэробных условиях. Рост в аэробных условиях не наблюдался. На любой стадии культивирования образование серных глобул не происходило. Рост не наблюдался с бикарбонатом натрия в качестве единственного источника углерода. Наилучший рост Kir15-3F в монокультуре был при 20–25 г/л NaCl, pH 8.0–9.0 и температуре 31–42°C. Однако из-за отсутствия чистой культуры, мы не могли более точно проанализировать физиологию бактерии. В настоящее время можно только заключить, что Kir15-3F является алкалофильной, солеустойчивой, строго мезофильной, анаэробной, фототрофной бактерией. Эти физиологические особенности объединяют Kir15-3F и ‘*Ca. Chloroploca asiatica*’ в группу солеустойчивых, мезофильных, фототрофных Chloroflexi, которые отличаются от пресноводной бактерии *Oscillochloris trichoides*.

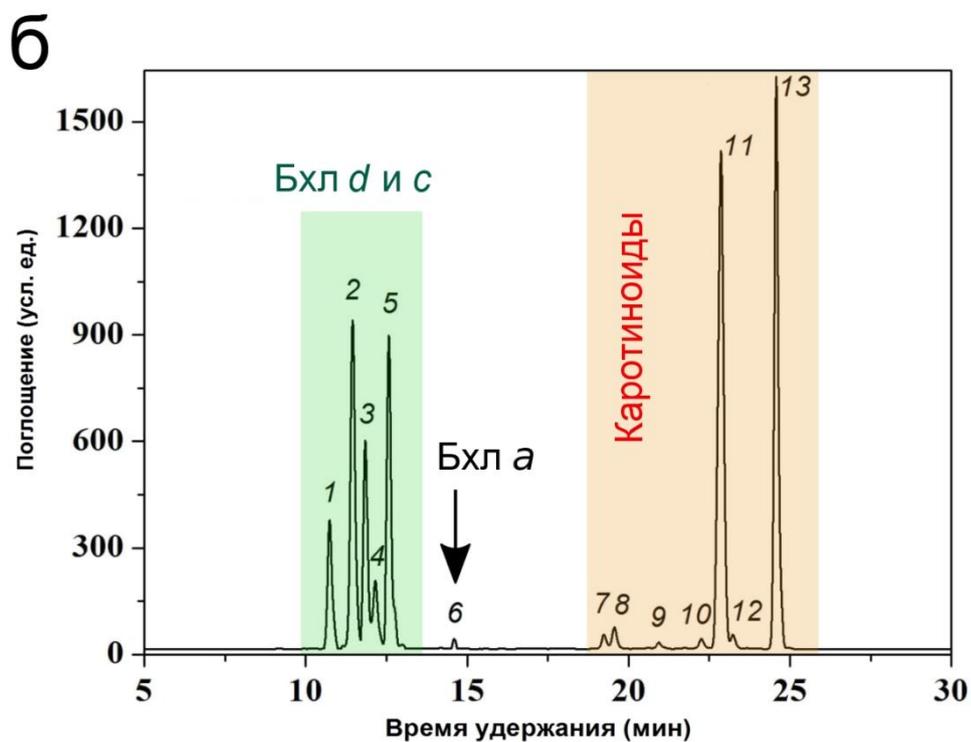
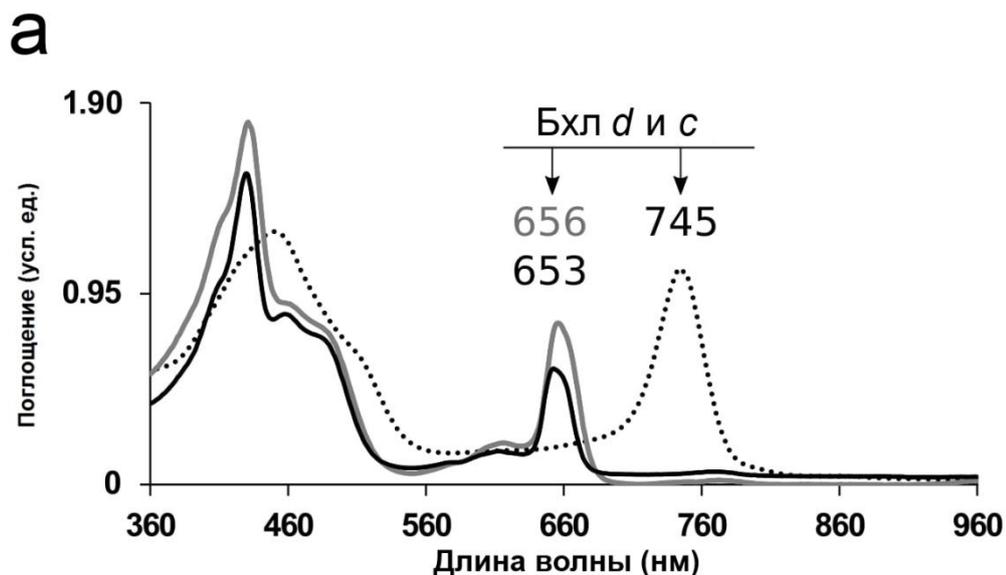


Рисунок 17. Пигментный состав клеток штамма Kir15-3F. Спектр поглощения разрушенных клеток в Tris-HCl буфере (пунктирная линия), ацетон-метаноле (серая линия) и петролейном эфире (черная сплошная линия) (а). ВЭЖХ хроматограмма пигментов, экстрагированных в ацетон-метаноле (7:2, об./об.), детектированная при 360–800 нм. (б). Идентификация пиков: 1, 2, 4 – бактериохлорофилл *d*; 3, 5 – бактериохлорофилл *c*; 6 – бактериохлорофилл *a*; 7-9 – производное ликопина; 10 – ликопин; 11 – γ -каротин; 12 – производное γ -каротина; 13 – β -каротин. Условные обозначения: бхл – бактериохлорофилл.

10.6.4 Генетические свойства

Была получена последовательность гена 16S рРНК штамма Kir15-3F длиной 1447 нуклеотидов. Филогенетический анализ на основании гена 16S рРНК показал, что Kir15-3F образует отдельную ветвь на дендрограмме с ближайшей к нему бактерией ‘*Candidatus Chloroploca asiatica* B7-9’ (рис. 18). Парное сравнение последовательностей гена 16S рРНК показало, что разница в составе последовательностей штаммов Kir15-3F и ‘*Candidatus Chloroploca asiatica* B7-9’ составляет 7.1%. Последнее позволяет говорить о принадлежности выделенного штамма к новому кандидатному роду в порядке *Chloroflexales*.

Филогенетическое положение бактерий Kir15-3F и Chok-6 представлено на рис. 18.

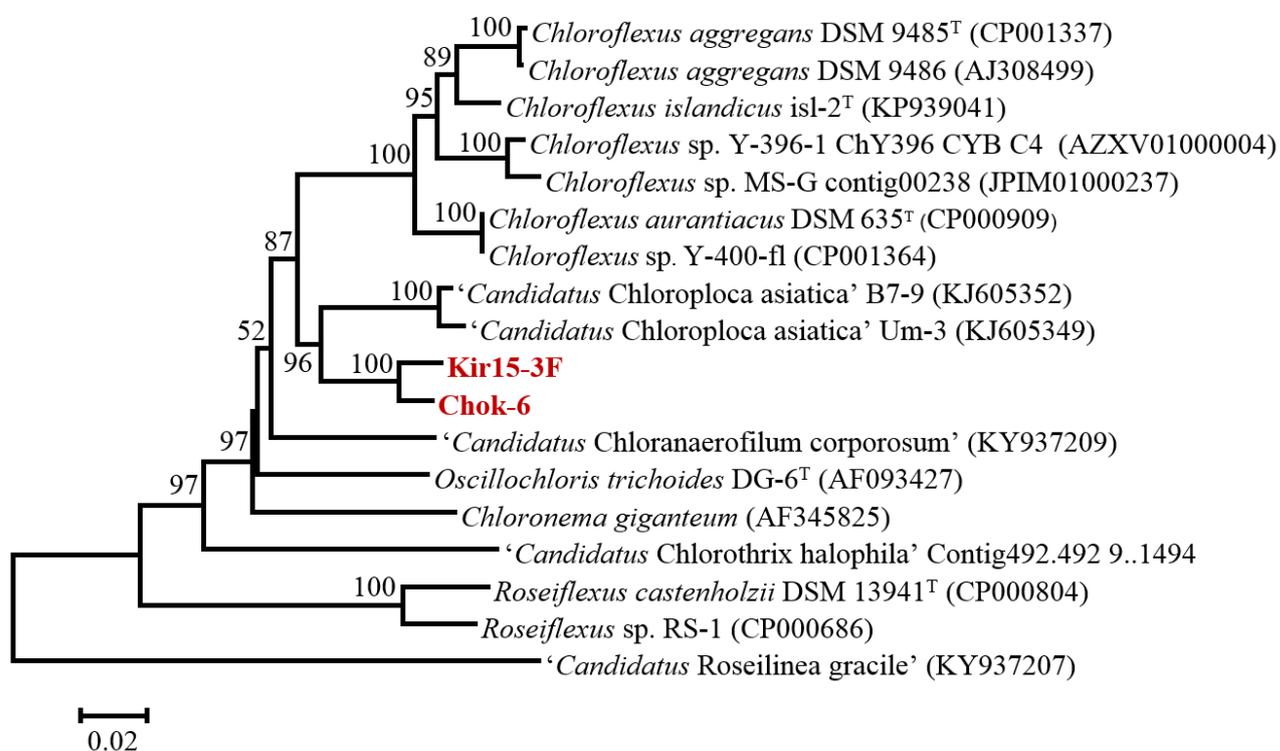


Рисунок 18. Филогенетическое положение штаммов Chok-6 и Kir15-3F. Дендрограмма построена на основании анализа 1231 позиции в нуклеотидных последовательностях гена 16S рРНК. Статистическая достоверность ветвления установлена на основании построения 500 альтернативных дендрограмм с помощью метода Maximum Likelihood.

На основе культуральных, физиологических и филогенетических свойств предложено описать штамм Kir15-3F как новый род и вид в порядке *Chloroflexales*. Он был описан нами как ‘*Candidatus Viridilinea mediisalina*’.

10.6.5 Таксономическое описание ‘*Candidatus Viridilinea mediisalina*’

‘*Candidatus Viridilinea mediisalina*’ (*Viridilinea* [vi.ri.di.li.ne'a. L. adj. *viridis*, зеленый; L. fem. n. *linea*, нить; N.L. fem. n. *Viridilinea*, зеленая, в форме нити] *mediisalina* [me.di.i.sa.li'na. L. adj. *medius*, умеренный; L. fem. adj. *salina*, соленый; N.L. fem. adj. *mediisalina*, умеренно соленая]).

Клетки ‘*Ca. Viridilinea mediisalina*’ имеют диаметр около 1.5 мкм и длину 4.0–6.0 мкм. Они образуют неразветвленные многоклеточные нити различной длины. Нити подвижны. Газовые вакуоли цилиндрической формы располагаются вблизи межклеточных перегородок. Полигидроксиалканоподобные и полифосфатоподобные гранулы присутствуют. Хлоросомы присутствуют. Клетки образуют зеленые колонии в агаризованной среде и зеленые биопленки в жидкой среде. Спектр поглощения суспензии клеточных мембран имеет максимумы при 450, 745, 615 и 860 нм, с плечами при 515, 674 и 805 нм. Фотосинтетическими пигментами являются бактериохлорофиллы *c*, *d* и *a*, а также ликопин и β - и γ -каротины. В монокультуре лучший рост наблюдается при 20–25 г/л NaCl, pH 8.0–9.0 и температуре 31–42°C. Рост происходит в анаэробных условиях на свету в присутствии Na-сульфида, Na-бикарбоната и Na-ацетата. Рост отсутствовал в темноте как в аэробных, так и в анаэробных условиях. В геноме отсутствуют гены сульфид:хинон редуктазы и рибулозо-1,5-бифосфат карбоксилазы/оксигеназы. Содержание Г+Ц в ДНК составляет 58.01%. Последовательность генома доступна в Генбанке под номером NQWI00000000.

10.7 Особенности состава исследованных алкалофильных микробных матов и присутствие новых АНФБ

Озеро Киран характеризуется нестабильной минерализацией, которая значительно изменилась за последние годы: в 2004-ом году она составляла 5.6 г/л (Цыренова и др., 2011), в 2010-ом – 9.27 г/л, в 2011-ом – 10.2 г/л (Егорова и др., 2011), в 2015-ом достигла 35.0 г/л (настоящее исследование). Резко возросшая минерализация рапы озера, очевидно, связана с длительным отсутствием дождей, например, в 2015 году.

Если в 2011-ом году озеро Киран представляло собой истинно соленое (хлоридно-натриевое) озеро, то в момент настоящего исследования (2015 г) состав рапы поменялся на карбонатно-натриевый, что очевидно, повлияло на смену состава сообщества. Так, в 2004-ом году цианобактерии в сообществе микробного мата были представлены восьмью родами (Цыренова и др., 2011), в 2011-ом – шестью (Егорова и др., 2011), в 2015-ом – десятью. Сообщество 2004-ого года состояло из представителей таких родов, как *Anabaena* spp., *Arthrospira* sp., *Leptolyngbya* sp.; *Microcoleus* sp; *Oscillatoria* sp.; *Phormidium* spp.; *Pseudanabaena*

sp., *Spirulina* sp.; а сообщество 2011-ого года – *Spirulina* sp., *Oscillatoria* sp., *Gloeocapsa* spp., *Phormidium* sp., *Aphanothece* sp., *Nodularia* sp. Единственными представителями цианобактерий, которые стабильно присутствовали в сообществах 2004, 2011 и 2015-ого гг. являлись бактерии *Phormidium* sp. и *Spirulina major*. Сохранение *Spirulina major* в сообществе связано с широким диапазоном значений солености, при котором она способна расти. По литературным данным эта цианобактерия обитает при солености от 0-10 г/л у острова Хиддензе (Германия) в Балтийском море (Rethmeier, 1995) до 276 г/л в Бабьем озере (Забайкальский край, Россия) (Цыренова и др., 2011) и, таким образом, способна адаптироваться к изменяющимся условиям.

В сообществе 2015-ого года доминировали алкало-галофильные или галотолерантные микроорганизмы. Очевидно, в связи со сменой минерального состава с хлоридно-натриевого на карбонатно-натриевый в планктоне озера стала преобладать *Arthrospira platensis*, которая получила преимущество в виду своей толерантности к высоким концентрациям гидрокарбоната и карбоната, а также щелочным условиям среды (до pH 11.0) (Vonshak, 2002). Это типично планктонная цианобактерия, и ее значительное количество, обнаруженное нами в цианобактериальных матах, вторично, что можно объяснить оседанием цианобактерий из водной толщи.

Особенностью цианобактериальных матов в прибрежной зоне озера Киран является их формирование за счет органического вещества отмирающего фототрофного планктона. Тонкий всплывающий мат (толщиной 3 мм) (образец 1) был образован в результате оседания *Arthrospira platensis*, затем происходило его уплотнение, вследствие чего создавались условия для развития как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов. В образце 1 было обнаружено значительное количество несерных пурпурных бактерий и аэробных бактериохлорофилл *a* содержащих бактерий, тогда как пурпурных серных бактерий было мало (0.67% от общего числа фототрофных бактерий в сообществе). АНФБ отсутствовали в неприкрепленном мате, поскольку сульфид, необходимый для их развития (данные не приводятся), не поступал непосредственно из донных осадков. АНФБ являются типично бентосными фототрофами, появляющимися в зрелых цианобактериальных матах, что подтверждается нашими наблюдениями.

Фрагменты тонкого мата в светлое время суток всплывали в результате образования пузырьков воздуха при фотосинтезе. Ветровым нагоном они были сконцентрированы, как и отмершие цианобактерии, находившиеся в рапе, к одному берегу и скапливались в массе в местах отбора проб в точках 2 и 3. В осадочных нагонных массах продолжалась деструкция умерших цианобактерий. В этих прибрежных участках были сформированы маты с преобладанием в них бактерий, участвующих в круговороте серы – пурпурных серобактерий, АНФБ, сульфатредукторов. Следует отметить появление в них бентосных нитчатых

цианобактерий (OTU3 – *Geitlerinema* sp., OTU15 – *Spirulina major*, OTU83, OTU133 – *Leptolyngbya* spp., OTU179 – *Phormidium etoshii*), которых считают основными матобразующими организмами.

Бентосное сообщество в точках 2 и 3, сформированное в озере Киран, находящееся под воздействием сульфида, называется «сульфурета» (Baas-Becking, 1925). В сульфурету входят также сульфидогены (сульфатредуцирующие и сероредуцирующие бактерии). Главной матобразующей цианобактерией в озере является *Geitlerinema* sp. – флотип, который ранее был обнаружен в содовом озере Петуховское Кулундинской степи (Россия) (Samylina et al, 2014).

Большое количество пурпурных бактерий в пробах тесно связано с последствием цветения воды. Было отмечено, что это явление возникает, когда система перегружена органическим материалом, особенно в присутствии большого количества сульфата, что приводит к его восстановлению. Возрастание концентрации сульфида стимулирует рост пурпурных серных бактерий, которые получают преимущество в восстановленных условиях (Belila et al, 2013).

Среди пурпурных серных бактерий наибольшее развитие получил OTU2, флотип, близкий к морскому алкалотолерантному виду *Thiorhodovibrio winogradskyi*. Бактерия *Thiorhodovibrio winogradskyi*, обнаруженная как в микробных матах, так и хемоклине меромиктического озера, способна к микроаэробной хемолитотрофии (Overmann et al, 1992) и поэтому получила преимущество благодаря способности подстраиваться под изменяющиеся условия в пурпурном слое, находившимся в контакте с верхним цианобактериальным слоем.

Обнаруженные в микробном мате (точки 2 и 3) представители семейства *Ectothiorhodospiraceae* (*Ectothiorhodospira variabilis*, *Ectothiorhodospira magna*, *Ectothiorhodospira mongolicus*, *Thiorhodospira sibirica*) являются типичными обитателями бентосных сообществ содовых озер Юго-Восточной Сибири и Монголии (Gorlenko et al, 2009; Bryantseva et al, 2010; Sorokin et al, 2004; Zavarzin et al, 1999).

В сообществе обнаружено большое количество бактерии (OTU88), имеющей сходство по последовательности гена 16S рРНК на 97% с пурпурной бактерией *Halorhodospira abdelmalekii*, содержащей бактериохлорофилл *b*, которая ранее не встречалась в данном регионе. *Halorhodospira abdelmalekii* – алкалофильная пурпурная серобактерия с оптимумом роста при солености 14-16% и температуре 30-40°C. Бактерия не росла при значениях рН ниже 8.5 и солености менее 5% хлорида натрия (Imhoff, Trüper, 1981). Факт обнаружения ее в озере Киран интересен тем, что пурпурная серобактерия *Halorhodospira abdelmalekii* до настоящего времени была обнаружена только в содовых озерах системы Вади-Натрун (Египет) – Мулук и Габара (Imhoff, Trüper, 1981), соленость которых составляла 15.9 и 9.2% соответственно. Следует

отметить, что в озерах Египта преобладал хлорид, тогда как карбонаты составляли только половину от суммы анионов. В озере Киран в 2015 году карбонаты являлись основным анионом.

Наблюдения АНФБ в минерализованных озерах немногочисленны (Klappenbach, Pierson, 2004; Asao et al, 2011; Jonkers et al, 2003; Pierson et al, 1994). Недавно обнаружена хлоросомсодержащая Chloroflexi '*Candidatus Chloroploca asiatica*', несколько штаммов которой выделено из содовых озер Восточной Сибири (Gorlenko et al, 2014). Анализ аминокислотных последовательностей *pufL* показал, что выделенная нами бактерия, Kir15-3F, является наиболее близкой к '*Candidatus Chloroploca asiatica*', но не идентична этому таксону. На основании результатов пигментного анализа образца 2 видно, что развитие АНФБ в мате этого типа достигало относительно высокого уровня, что было подтверждено при микроскопировании стекол обрастания (рис. 8).

Так как по результатам NGS не были обнаружены зеленые серобактерии, наши данные подтвердили ранее опубликованный факт (Sorokin et al, 2004; Компанцева и др., 2007), что эти бактерии не развиваются в содовых озерах, так как предпочитают нейтральный и слабокислый pH среды.

Процесс сукцессии микробного сообщества, образованного в результате цианобактериального цветения, также отражен в составе хемоорганотрофных бактерий. Во всех образцах присутствовало значительное количество аэробных бактерий-гидролитиков филума Bacteroidetes, ответственных за разложение биополимеров (целлюлоза и ее производные, пептиды). Однако в точках 2 и 3, представляющих собой более позднюю и богатую сульфидом стадию разложения биомассы, доминировала одна OTU, относящаяся к филуму Bacteroidetes класс Cytophagia. Наибольшее разнообразие бактерий филума Bacteroides отмечено в точке 1, характеризующейся аэробными условиями. Так, примерно в равной степени присутствовали 5 OTU классов Cytophagia, Sphingobacteriia, Flavobacteriia. Возможно, это связано с более благоприятными условиями для аэробов-гидролитиков в точке 1. С другой стороны, анаэробная стадия разложения биополимеров, следующая за стадией аэробных гидролитиков, более представлена в точке 2 и 3, в которых доля Firmicutes значительно больше чем в точке 1. Последние производят водород и органические кислоты, необходимые для роста анаэробных сульфидогенов, среди которых обнаружен флотип, близкий к галоалкалофильному сульфатредуктору *Desulfonatronovibrio magnus*, и самый многочисленный в точке 2. Следует отметить также присутствие аэробных бактерий рода *Saccharospirillum*, представители которых используют полимер целлюлозу, сахара, и карбоновые кислоты.

Итак, микробный мат в содовом озере Киран формировался на органической основе разлагающейся биомассы планктонной цианобактерии рода *Arthrospira*. Можно предположить,

что в образовании сапропеля озера Киран участвовали не только планктонные цианобактерии, но и фототрофные микроорганизмы, входящие в состав цианобактериального мата. Ранее была установлена роль бентосных фототрофных микроорганизмов в формировании лечебных грязей в соленых водоемах Крыма (Пельш, 1937).

11 Микробные маты солевых маршей и литорали озер, имевших связь с Кандалакшским заливом Белого моря.

11.1 Характеристика местообитания

Изученные местообитания бентосных фототрофных бактерий разделили на три типа. К первому типу отнесли солевые марши (супралитораль), в углублениях дна которых стабильно сохранялись небольшие лужи с гниющими водорослями, по поверхности которых были сформированы многослойные микробные маты. Распреснение отдельных участков маршей (точка Ег5) происходило под воздействием береговых стоков. К этому типу принадлежали мелководные участки Ермолинской губы (точки Ег 1, 2, 5) и Нильма-губы (точки Nil 2, 3, 4) Кандалакшского залива. Температура в них колебалась от 9 до 15°C, соленость 15-28 г/л, рН 6.7-7.2 (таблица 7).

К второму типу отнесли прибрежные участки стратифицированных озер, полностью или частично отделенных от Кандалакшского залива. В этот тип вошли литораль Кисло-Сладкого озера (точки KS 4, 5) и прибрежные участки озера Зеленый мыс (точки ZM 2, 3, 4) (таблица 7). В литоральной зоне озер наблюдали развитие окрашенных в пурпурный или зеленый цвет биопленок, реже – микробного мата. Эти водоемы в разной степени находились под воздействием морских приливов и пресных береговых стоков. Температура в них колебалась от 9 до 12 °С, соленость изменялась в пределах 11-28 г/л, рН от 6.8 до 8.0.

К третьему типу отнесли Вонючую губку (ВГ), являющуюся небольшим водоемом (30x40 м), соединенным через узкую протоку с безымянной лагуной Кандалакшского залива. Глубина ВГ не превышала 20 см. Обрывки морских водорослей заносило приливными волнами в ВГ, где они концентрировались, что приводило к обогащению ВГ органическим веществом. Анаэробная деструкция вызывала интенсивное образование сероводорода и развитие фототрофных и бесцветных серобактерий в ВГ. При отливах поверхность микробных обрастаний обнажалась. Распреснение вод в ВГ происходило за счет обильного поступления прибрежных болотистых вод. Температура колебалась от 9 до 15°C, соленость 15-26 г/л, рН 6.9-7.1.

Все перечисленные фототрофные сообщества относятся к категории «сульфурета», в которых доминируют микробные процессы круговорота серы.

В исследованных водоемах было выделено две разновидности бентосных сообществ: первая – однолетние биопленки, окрашенные в зеленый или пурпурный цвет. Вторая – многолетние маты толщиной около 1 см с четкими слоями зеленого (кислородные фототрофы), пурпурного (пурпурные серные бактерии) и черного цвета (сульфидогены). В многолетних матах можно проследить погребенные окрашенные слои фототрофов, где особенно заметны чередующиеся пурпурные микрозоны.

Таблица 7. Характеристика мест отбора образцов микробных матов солевых маршей и литорали озер Кандалакшского залива Белого моря и их описание.

Образец	Координаты отбора	Соленость, г/л	pH	T, °C	Описание образца
Er1	66.55404 с.ш. 33.04268 в.д.	24	7.9	-	По поверхности гниющих растений пурпурные бактерии развиваются в виде красно-бурых пятен и зеленые пятна водорослей с признаками развития бесцветных серобактерий.
Er2	66.55215 с.ш. 33.04892 в.д.	27	7.91	-	Многолетний мат. Верхняя часть – цианобактерии, затем – темно-зеленая зона деструкции, далее слой пурпурных бактерий, ниже – гомогенная черная масса гниющих органических остатков.
Er5	66.55276 с.ш. 33.04924 в.д.	4	6.6	-	На глубине находилась тонкая пленка, в которой просматриваются пурпурные вкрапления.
Gub1	66.54655 с.ш. 33.14352 в.д.	15	7.1	-	Достаточно обширные обрастания пурпурного цвета с зелеными пятнами. Интенсивное развитие АФБ (в основном пурпурных) происходило в результате интенсивного поступления сульфида из нижних слоев осадков.
Gub3	66.54655 с.ш. 33.14352 в.д.	26	6.97	-	Поверхность бактериальных обрастаний в основном зеленого цвета с признаками выпадения элементной серы. По краям микробных обрастаний прослеживали присутствие пурпурных бактерий.
KS4	66.54922 с.ш. 33.13393 в.д.	11	6.8	9	Образец представлял собой пурпурные пятна на поверхности гниющих водорослей (до дна 5 см), имел рыхлую структуру с отдельными хлопьями пурпурных бактерий.
KS5	66.54922 с.ш. 33.13393 в.д.	15	7.1	9	Образец был отобран на расстоянии 20 см от дна. АФБ развивались по рыхлому слою разлагающихся водорослей, имели бурозеленый цвет с пурпурными пятнами.
Nil2	66.50345 с.ш. 33.12741 в.д.	26	7.9	15	АФБ, преимущественно ПСБ, развивались на сульфидсодержащем грунте, образованном в результате гниения водорослей.

Таблица 7. Продолжение

Образец	Координаты отбора	Соленость, г/л	pH	T, °C	Описание образца
Nil3	66.50404 с.ш. 33.11926 в.д.	28	6.76	14	Отобран из небольших углублений, в которых обнаружен многослойный цианобактериальный мат, толщиной около 1 см. Верхние слои состояли из нескольких слоев цианобактерий. На глубине 0.3-0.5 см прослеживался слой пурпурных бактерий, ниже мат имел темный цвет.
Nil4	66.50477 с.ш. 33.11857 в.д.	20	6.77	14	Мат отрывался от дна и всплывал в виде кожистых пленок розового цвета толщиной 2-3 мм.
ZM2	66.53042 с.ш. 33.09309 в.д.	25	7.2	13	Возвышающийся, увлажненный во время прилива тонкий мат оливкового цвета, имеющий слоистость с розовыми прослойками, сформированными ПСБ.
ZM3	66.5295 с.ш., 33.094 в.д.	15	6.6	12	Мат серо-зеленого цвета, обнажающийся во время отлива.
ZM4	66.52955 с.ш. 33.09567 в.д.	15	6.86	-	Многослойный мат, имеющий определенные морфологические особенности. Пурпурные бактерии располагались под слоем нитчатых цианобактерий.

11.2 Тотальный пигментный состав матов

Анализ тотальных препаратов пигментов из природных образцов (рис. 19) выявил, что доминирующим пигментом во всех исследованных микробных сообществах являлся хлорофилл *a*, характерный для цианобактерий (максимумы поглощения *in vivo* составил 675-681 нм). Во всех образцах, кроме Gub3 и KS5 были заметны пики поглощения бактериохлорофилла *a* с максимумами *in vivo* при 800-806 и 846-856 нм. Присутствие бактериохлорофилла *a* указывало на наличие в микробных сообществах пурпурных бактерий. В образцах Nil3, Nil4, Er1, Er5, ZM2 и ZM3 обнаружен заметный пик бактериохлорофилла *c* с максимумом 755-758 нм, что указывало на присутствие хлоросом-содержащих зеленых серобактерий или аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий.

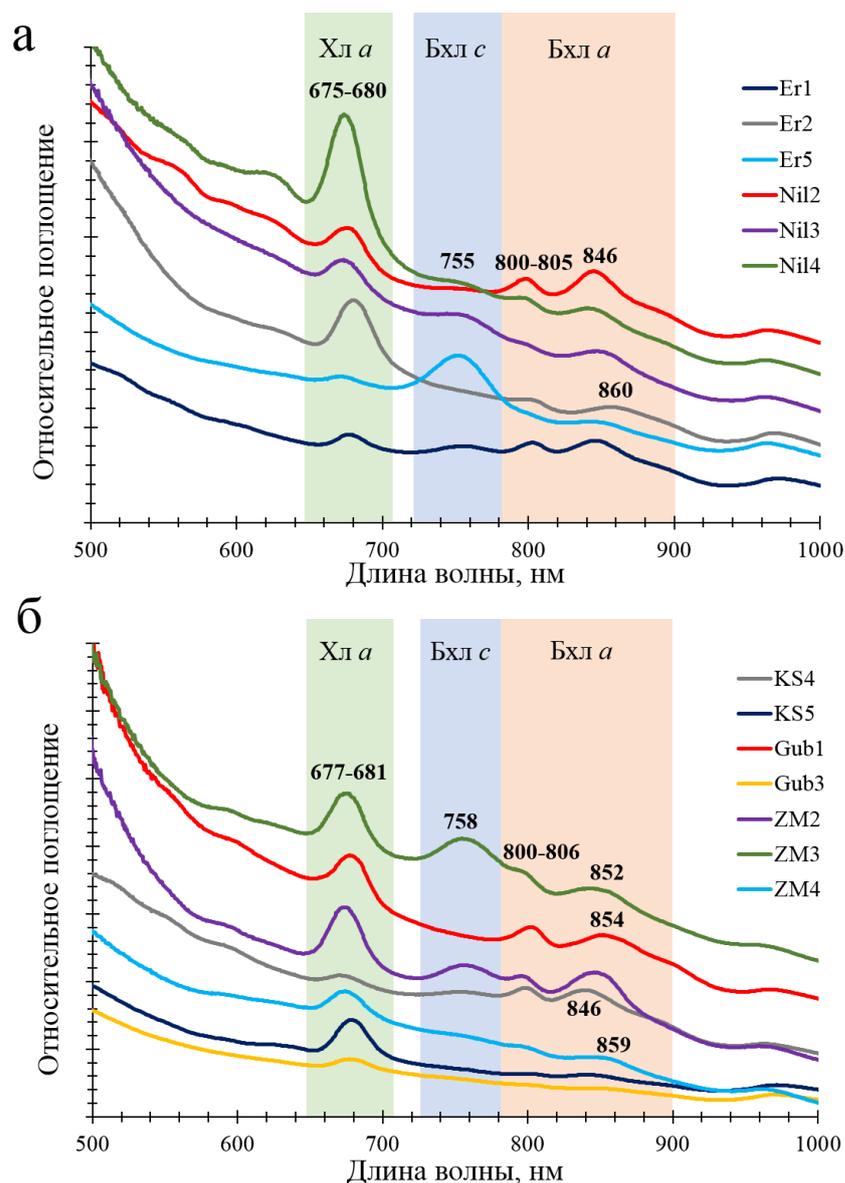


Рисунок 19. Спектры поглощения пигментов целых клеток природных образцов. А – образцы из Ермолинской (Er) и Нильмы-губы (Nil). Б – образцы из литорали Кисло-Сладкого озера (KS), Зеленого мыса (ZM) и Вонючей губки (Gub).

11.3 Основные группы фототрофных бактерий, выявленные с помощью микроскопии

На рисунках 20 и 21 представлены микрофотографии фототрофных микроорганизмов литорали приполярных районов Кандалакшского залива, солевых маршей и озер лагунного типа.

Основу матов и биопленок составляли нитчатые цианобактерии морфотипов *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Lyngbya*, *Spirulina*, одноклеточные цианобактерии морфологически сходные с видами *Synechococcus* и *Synechocystis* (рис. 20). Среди АФБ преобладали пурпурные бактерии: рода *Thiocapsa*, и *Thiorhodococcus* spp., мелкие формы *Chromatium* – подобных бактерии и

Thiorhodovibrio sp. Во всех матах и биопленках были обнаружены АНФБ.

На рисунке 21 представлены основные морфотипы фототрофных бактерий, выросшие при посеве природных образцов на селективные среды.

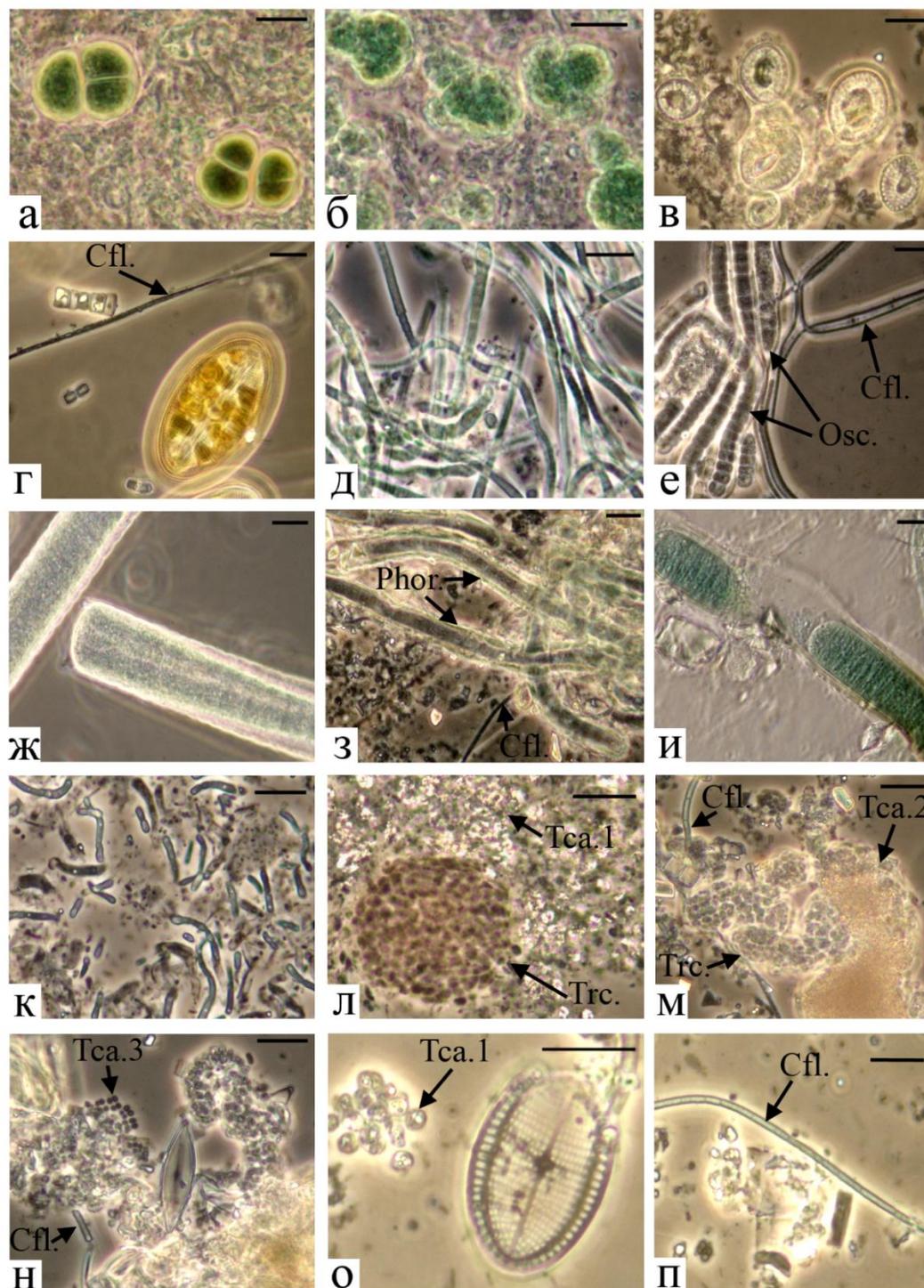


Рисунок 20. Морфотипы фототрофных микроорганизмов природных образцов: а – *Gloeocapsa* sp.; б – *Sinechocystis* sp.; в – диатомовые водоросли; г – диатомовая водоросль и АНФБ (Cfl.); д – *Phormidium* sp.; е – *Oscillatoria* sp. (Osc.) и АНФБ (Cfl.); ж – *Oscillatoria* sp.; з – *Phormidium* sp. и АНФБ (Cfl.); и – *Lyngbya* sp.; к – *Sinechococcus* sp.; л – *Thiocapsa rosea* (Tca.1) и *Thiiorhodococcus* sp. (Trc.); м – АНФБ (Cfl.), *Thiocapsa* sp. (Tca.2) и *Thiiorhodococcus* sp. (Trc.); н – АНФБ (Cfl.) и *Thiocapsa litoralis* (Tca.3); о – *Thiocapsa rosea* (Tca.1); п – АНФБ (Cfl.). Масштаб: а-п – 10 мкм.

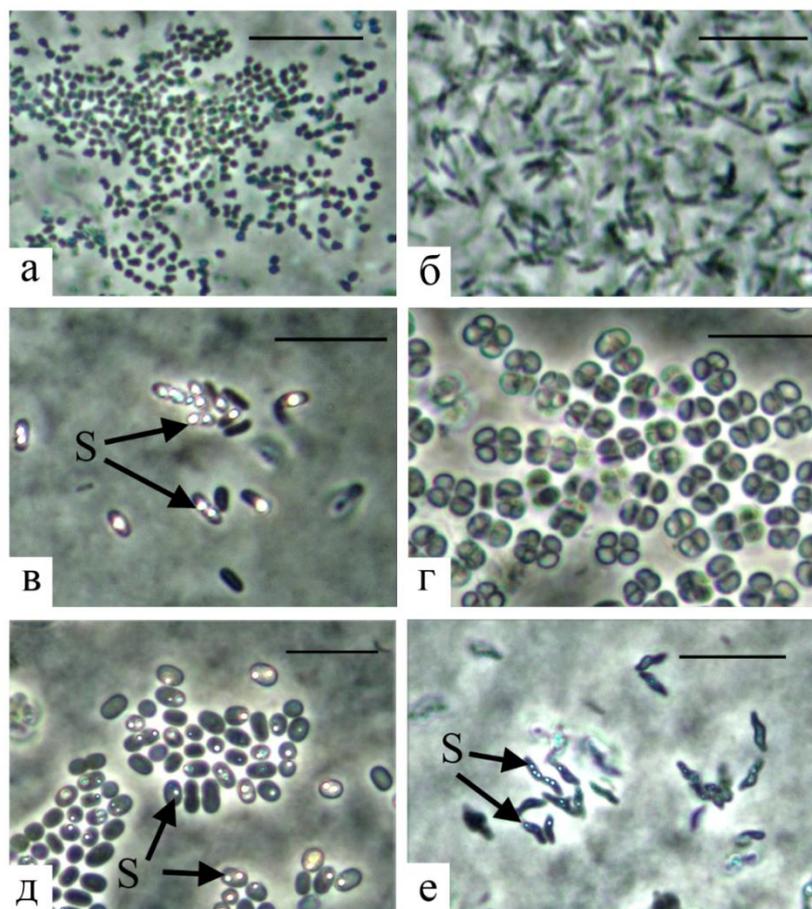


Рисунок 21. Морфотипы фототрофных бактерий, выросших на селективных средах: а – *Prosthecochloris* sp.; б – *Rhodovulum* sp.; в – мелкие формы *Chromatium*-подобных бактерий; г – *Thiocapsa litoralis*; д – *Thiorhodococcus* sp.; е – *Thiorhodovibrio* sp. Масштаб: а-е – 10 мкм.

Присутствие АНФБ также подтверждается при микроскопировании стекол обрастания в отраженном свете (приложение Б). Голубое свечение наблюдается только у хлоросом-содержащих бактерий.

11.4 Состав микробных сообществ литорали приполярных районов Кандалакшского залива, солевых маршей и озер лагунного типа по данным высокопроизводительного секвенирования

Состав микроорганизмов в биофлекках и многолетних матах существенно не отличался. Было обнаружено большое филогенетическое разнообразие в исследованных образцах. Больше всего OTU присутствовало в образце Nil3 (соленость 14 г/л, 6313 OTU), а менее разнообразным оказался образец Er5 (1846 OTU) отобранный в распресненной части Ермолинской губы (таблица 8).

Одним из наиболее представленных во всех образцах филумов является филум *Proteobacteria*, который составляет от 24.21 до 59.45% от общего числа бактерий (таблица 8).

Бактерии второго по представленности филума *Bacteroidetes* присутствовали в количестве от 15.92% до 39.61%.

Члены филума *Chlorobi* в значительном количестве обнаружены в двух образцах – Er1 и Gub3 (4.45 и 17.30%), тогда как практически отсутствовали в других образцах (таблица 8). В небольшом количестве присутствовали представители филумов *Fusobacteria* – от 0.01 до 0.39%, *Parcubacteria* – от 0.09 до 1.56%, SR1 – от 0.1 до 1.89%, *Chloroflexi* – от 0.32 до 1.93%. *Spirochaetes* – от 0.82 до 3.88%. *Verrucomicrobia* – от 0.81 до 9.1%. *Firmicutes* – от 1.2 до 9.67%. Количество *Cyanobacteria* варьировало в образцах от 0.98 до 12.47%, а *Tenericutes* – от 0.06 до 6.45%. К неклассифицируемым бактериям отнесли от 2.63 до 11.03% от общего числа бактерий. *Archaea* составляли от 0.7 до 3.63%. Оставшиеся OTU были представлены другими малочисленными филумами (от 1.86 до 12.28%).

Цианобактерии представлены в сообществе 38 филотипами (рис. 22а). В трех образцах они составляли небольшую часть фототрофного сообщества – это Er1 (3.93%), Er5 (6.49%) и Gub3 (1.00%) (таблица 9). В трех образцах цианобактерии были доминирующими фототрофами – это KS5 (93.62%), Nil4 (98.56%) и Zm4 (97.53%). В остальных образцах цианобактерии занимали 71.94-88.56% от общего количества фототрофных бактерий (ОКФ). Самым представленным филотипом являлся OTU9, близкий к *Planktothricoides raciborskii*. Также в большом количестве присутствовали два филотипа OTU47 и OTU50, относящиеся к роду *Phormidium* и OTU9, близкий к *Coleofasciculus chthonoplastes* (ранее *Microcolius chthonoplastes*)

Среди зеленых серобактерий обнаружено два филотипа – OTU4, OTU6633 (рис. 22б). Наибольшее количество ЗСБ, в частности OTU4, присутствовали в образцах Er1 и Gub3 (17.3 и 4.45%) (таблица 9). OTU4 близка к *Prosthecochloris phaeoasteroidea* ZM и *Prosthecochloris aestuaria*. Она составляла 95.2% от общего количества фототрофных бактерий (ОКФ) в образце Er1 и 89.56% - в образце Gub3. OTU6633, близкая к *Chlorobium phaeovibrioides* DSM 265, обнаружена только в сообществе KS5 в количестве менее, чем 0.01%. В образцах Nil2, Nil4, Zm2 и Zm3 ЗСБ не выявлены.

Пурпурные серобактерии представлены 7 филотипами (рис. 22в). Наибольшее содержание ПСБ отмечено в образцах Er5 и Er2 – 22.76 и 15.48% от ОКФ соответственно (таблица 9). Наиболее представленным филотипом являлся OTU666, близкая к бактерии *Chromatium okenii*. В минорных количествах также из семейства *Chromatiaceae* в сообществах присутствовали филотип OTU9535, близкая к *Thiocystis gelatinosa*, OTU2028, близкий к бактерии *Lamprobacter modestohalophilus*, OTU2169, близкая к *Thiocapsa marina*, OTU4275, близкая к *Thiohalocapsa halophila*, OTU4836, близкая к *Thiorhodococcus mannitoliphagus*, и OTU368, близкая к *Thiorhodococcus kakinadensis*. В образцах KS5, Nil2-4, Zm2-4 и Er1 содержание ПСБ от ОКФ было менее 1%. Представители семейства *Ectothiorhodospiraceae* не

были обнаружены ни в одном из образцов.

Несерные пурпурные бактерии были представлены 5 филотипами и больше всего их обнаружено в образце Er5 (67.59%), тогда как в остальных образцах их было не более 2% (рис. 22г). Наиболее представленным филотипом являлась OTU190, близкая к *Rhodofera antarcticus*. Также в сообществе присутствовали минорные филотипы: OTU5604, близкая к *Rhodofera ferrireducens*, OTU2630, относящаяся к роду *Roseospira*, OTU15736, относящаяся к роду *Rhodobacter*, и OTU12442, близкая к бактерии *Rhodovulum bhavnagarensis*.

Аэробные аноксигенные фототрофные бактерии были представлены 16 филотипами (рис. 22г). Больше всего аэробных АФБ было в образце Nil2 – 11.6% от ОКФ (таблица 9). Наиболее представленным филотипом была OTU718, близкая к *Roseicyclus mahoneyensis*. В минорных количествах в сообществах присутствовало 5 филотипов, относящихся к роду *Erythrobacter*, а также филотипы, относящиеся к родам *Roseomonas* (OTU3797), *Roseobacter* (OTU4253), *Porphyrobacter* (OTU4267 и OTU13478), *Blastomonas* (OTU5699), *Sandaracinobacter* (OTU13553), *Roseovarius* (OTU7630).

Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии были представлены четырьмя филотипами: OTU79, OTU1395, OTU5457, OTU8094 (рис. 22д). Все четыре АНФБ присутствовали в KS4 и составляли 3.24% от ОКФ в образце (таблица 9). Наиболее близким организмом к филотипам OTU79 и OTU8094 была бактерия ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’. OTU1395 образовывала одну кладу с бактерией *Oscillochloris trichoides* DG-6 с уровнем сходства 93%, в то время как OTU5457 формировала отдельную кладу среди мезофильных представителей порядка *Chloroflexales*, отличаясь от ближайшего родственного организма, ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’, на 9%. Наибольшее содержание АНФБ отмечено в образцах Nil3, Zm2 и Zm3 с 13.37, 10.03 и 11.06% от ОКФ. В образцах Er2 и Gub3 АНФБ не обнаружены.

Относительное содержание филотипов фототрофных бактерий в исследованных образцах представлено в приложении А.

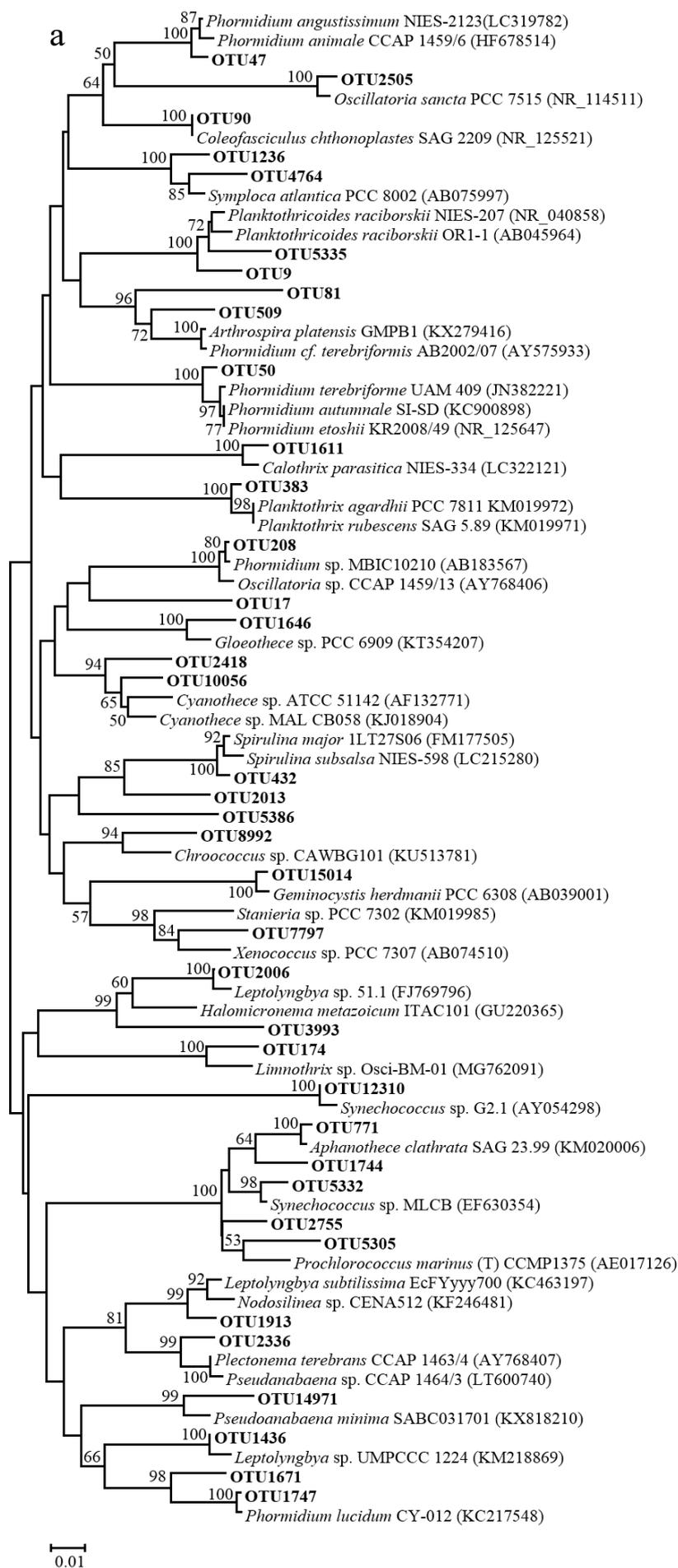


Рисунок 22. Филогенетическое дерево, показывающее разнообразие OTU, относящихся к цианобактериям (а), ЗСБ (б), пурпурным серным бактериям (в), пурпурным несерным бактериям и аэробным аноксигенным фототрофным бактериям (г) и фототрофным Chloroflexi (д) в природных образцах. Дендрограммы построены на основании анализа последовательностей гена 16S рРНК с использованием алгоритма максимального подобия (Maximum Likelihood). Достоверность ветвления рассчитана по результатам анализа 500 альтернативных дендрограмм. Длина сравниваемых последовательностей составляла 440 пар нуклеотидов.

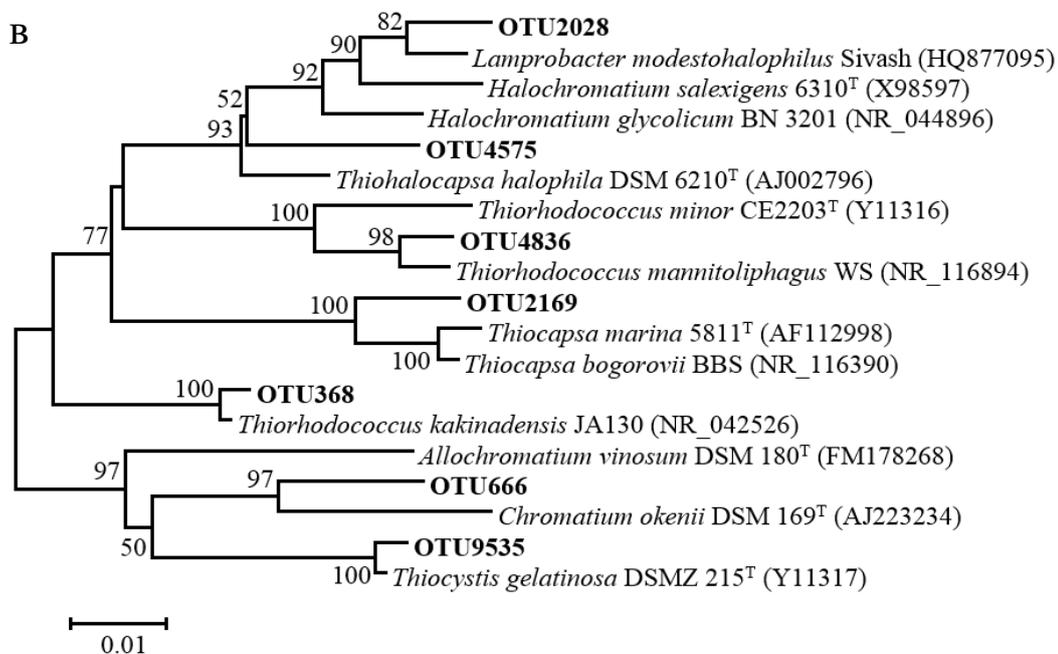
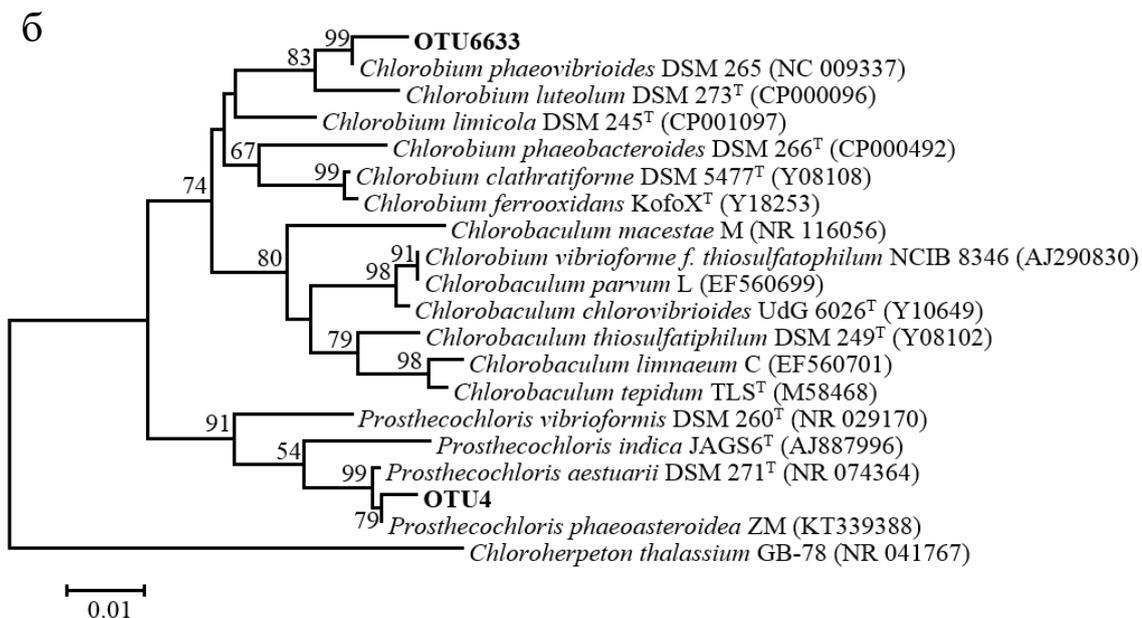


Рисунок 22. (Продолжение)

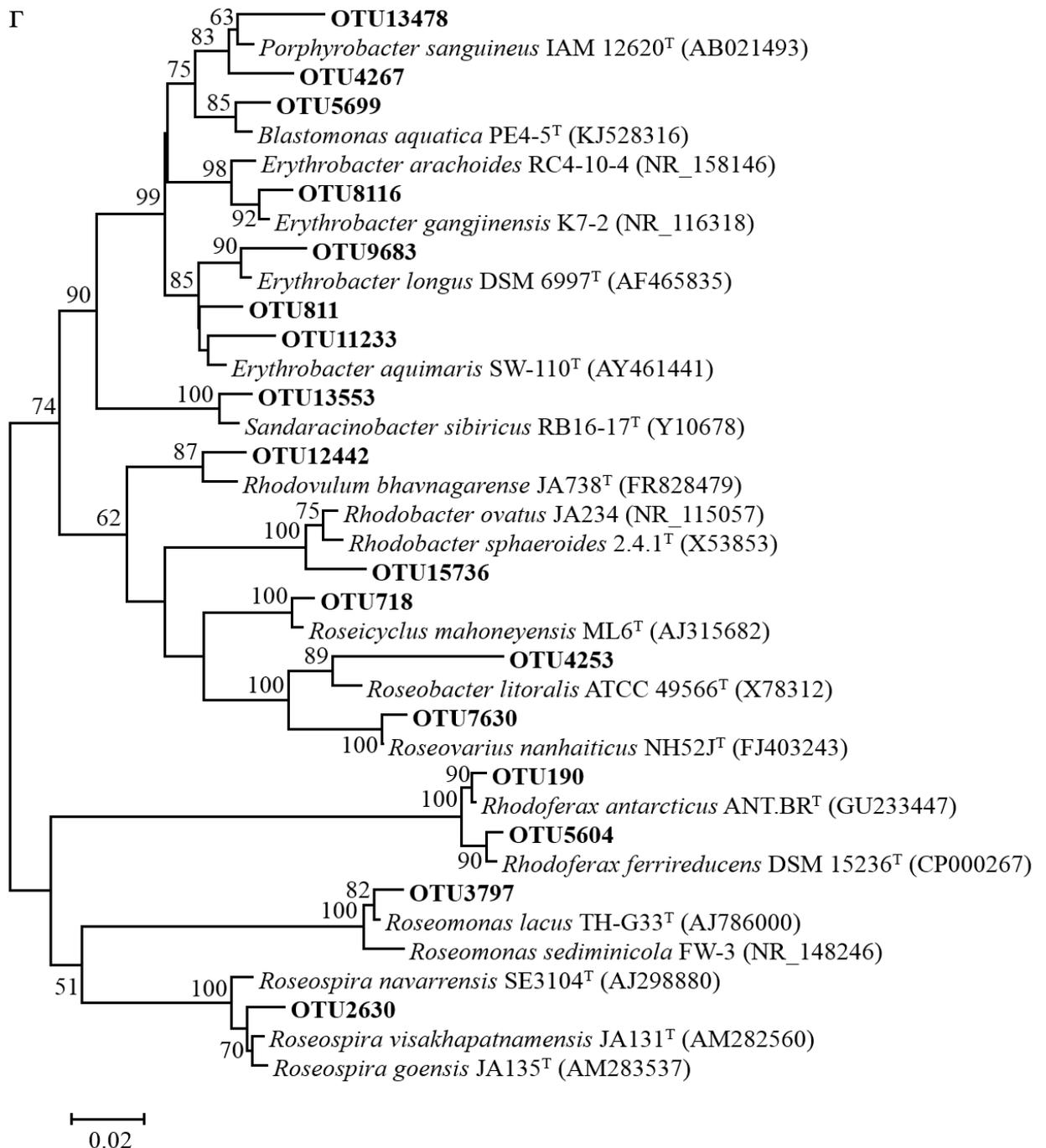


Рисунок 22. (Продолжение)

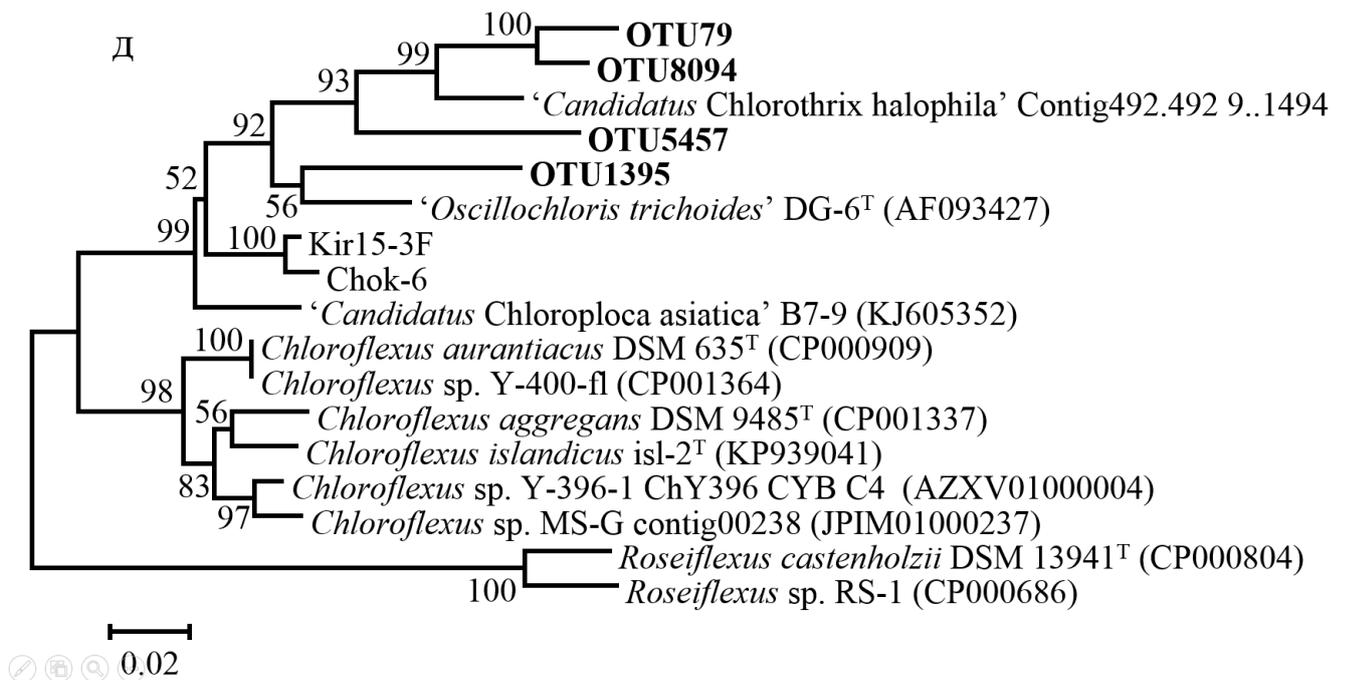


Рисунок 22. (Продолжение)

Таблица 8. Распределение бактериальных OTU в филогенетических группах (в %), количество парных чтений и количество OTU в единицах в исследованных образцах микробных матов.

Филум	Er1	Er2	Er5	Gub1	Gub3	KS4	KS5	Nil2	Nil3	Nil4	ZM2	ZM3	ZM4
<i>Bacteroidetes</i>	30.79	34.08	25.56	36.75	22.37	35.20	30.79	39.61	22.61	29.70	26.69	29.93	15.92
<i>Chlorobi</i>	17.30	0.00	0.00	0.06	4.45	0.01	0.03	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
<i>Chloroflexi</i>	1.26	1.06	1.42	0.60	1.02	0.67	0.33	0.32	1.40	0.32	0.34	1.93	0.62
<i>Fusobacteria</i>	0.02	0.01	0.06	0.28	0.15	0.14	0.14	0.14	0.10	0.39	0.01	0.10	0.35
<i>Proteobacteria</i>	29.77	42.87	46.44	35.98	47.44	29.62	30.31	31.77	48.17	38.39	59.45	24.21	67.97
<i>Spirochaetes</i>	1.29	2.11	3.20	1.72	1.88	1.83	1.41	1.33	1.19	1.21	2.08	3.88	0.82
<i>Verrucomicrobia</i>	1.64	1.33	0.94	1.41	0.87	2.54	3.45	9.10	4.70	5.39	0.81	1.68	1.25
<i>Cyanobacteria</i>	0.78	1.31	0.46	0.74	0.05	2.07	1.92	2.06	2.79	4.08	0.98	12.47	5.27
<i>Firmicutes</i>	1.42	1.96	2.45	9.67	4.15	1.71	2.40	2.01	1.98	2.49	1.85	6.24	1.20
<i>Parcubacteria</i>	0.55	0.41	0.34	0.27	0.30	1.56	1.00	0.37	0.55	0.91	0.09	0.54	0.23
<i>Tenericutes</i>	0.32	0.06	6.45	0.93	1.23	1.03	1.09	0.49	0.16	0.49	0.42	1.05	0.55
SR1	0.14	0.10	0.28	0.75	0.42	0.52	0.52	0.29	0.27	0.15	0.63	1.89	0.10
Неклассиф. бактерии	7.48	10.35	7.99	4.87	10.21	10.63	11.03	6.92	10.60	7.00	2.63	9.80	2.74
<i>Archaea</i>	1.98	0.70	2.07	1.54	1.70	3.63	3.30	1.83	2.48	3.41	1.15	3.47	1.13
Другие филумы	5.25	3.63	2.33	4.43	3.78	8.85	12.28	3.76	2.98	6.05	2.88	2.82	1.86
Всего парных чтений	144372	89156	34572	177593	133160	33752	53574	136685	217840	83751	276184	158858	156521
Количество OTU	3831	2553	1846	3196	3214	2871	3385	3825	6313	3929	2835	3893	3516
Все фототрофные бактерии (%)	18.17	1.68	7.13	1.02	4.96	2.38	2.05	2.37	3.45	4.14	1.13	14.04	5.38

Таблица 9. Распределение бактериальных OTU, принадлежащим фототрофным бактериям, в филогенетических группах (в %).

Филум	Er1	Er2	Er5	Gub1	Gub3	KS4	KS5	Nil2	Nil3	Nil4	ZM2	ZM3	ZM4
АНФБ	0.51	0.00	3.08	0.28	0.00	3.24	1.64	3.56	13.37	0.20	10.03	11.06	1.09
Зеленые серобактерии	95.20	0.27	0.04	5.46	89.56	0.50	1.55	0.00	0.29	0.00	0.00	0.00	0.11
Аэробные АФБ	0.07	6.34	0.04	0.77	0.11	2.62	2.10	11.60	3.63	0.87	1.95	0.30	0.09
Несерные пурпурные бактерии	0.02	0.27	67.59	16.04	1.88	2.99	0.46	0.65	2.01	0.09	1.82	0.04	1.13
Пурпурные серные бактерии	0.27	15.48	22.76	5.51	7.46	4.24	0.64	0.62	0.19	0.29	0.22	0.04	0.05
Цианобактерии	3.93	77.65	6.49	71.94	1.00	86.41	93.62	83.58	80.52	98.56	85.97	88.56	97.53

Примечание: за 100% принимали общее количество всех фототрофных бактерий в соответствующем образце.

11.5 Особенности состава исследованных микробных матов и присутствие новых АНФБ

Белое море относится к типу приполярных внутренних морей с низкой среднегодовой температурой, низкой соленостью (23-26 г/л в поверхностных водах) по сравнению с водами мирового океана (средняя соленость 35 г/л). В солевых маршах и лагунных озерах Кандалакшского залива соленость еще ниже за счет береговых стоков. Температура воды в Кандалакшском заливе колеблется от -1.5°C зимой до $8-17^{\circ}\text{C}$ летом. В донных осадках литорали присутствует сульфид.

Комплекс условий в литорали Кандалакшского залива и связанных с ним озер и солевых маршей приближается к состоянию океана среднего Протерозоя в постледниковый период 2.4 млрд назад (Habicht et al, 2002; Olson, 2006). В это время Мировой океан стал обогащаться сульфатами, в результате чего в гидросфере появился биогенный сероводород и микробные сообщества приобрели характер «сульфурета», в котором доминировал круговорот серы.

В исследованных нами приполярных фототрофных сообществах преобладали однолетние пигментированные биопленки, инициированные сульфидогенезом. В редких случаях в углублениях грунта в соленых маршах или в литорали озер обнаруживали многолетний мат толщиной около 1 см с четкими зелеными и пурпурными микрозонами, который был подвержен промерзанию в зимний период. Микроорганизмы, входящие в состав бентосных сообществ, переживали сезонный цикл замерзания-оттаивания.

Видовой состав исследованных приполярных микробных матов и биопленок соляных маршей и мелководных участков озер лагунного типа не имел заметных отличий между собой.

Большинство идентифицированных нами видов АФБ были представлены известными видами, являющимися мезофилами. Единственная обнаруженная истинно психрофильная фототрофная бактерия – *Rhodofera antarcticus*, выделенная из планктона покрытого льдом меромиктического озера в Антарктиде (Madigan et al, 2000). Следует отметить, что АФБ, ранее изолированные из донных осадков Антарктических вод, принадлежали к известным мезофильным видам пурпурных и зеленых серобактерий (Herbert, Tanner, 1977). Очевидно, способность к психрофилии развивалась постепенно в результате становления холодноводного глубоководного океана.

Климатические и гидрологические условия приполярных районов Беломорья были не благоприятны для существования экстремальных галофилов. Большинство обнаруженных нами видов является умеренными галофилами или галотолерантами.

Одним из факторов толерантности к внешним воздействиям является гликокаликс (слизистый матрикс), который скрепляет все микроорганизмы в бентосных сообществах в

единое целое и обладает криопротекторными свойствами (Саралов, 2019). Доминирующие в матах виды цианобактерий, АНФБ, пурпурных и зеленых серобактерий развиваются в природе в виде микроколоний, окруженных слизью или имеющих защитный слизистый чехол.

В исследованных нами приполярных микробных матах обитали как космополитные виды пурпурных бактерий (*Chromatium sp.*, *Thiocapsa rosea*, *Thiocapsa marina*, *Thiorhodovibrio sp.*), так и виды, обнаруженные только в приполярных районах. Среди них пурпурные серобактерии *Thiorhodococcus mannitoliphagus*, *Thiocapsa litoralis*, *Thiocapsa bogorovii* (Puchkova et al, 2000; Rabold et al, 2006; Tourgova et al, 2009) и неизвестные ранее АНФБ. Отличительной особенностью приполярных матов является отсутствие ПСБ семейства *Ectothiorhodospiraceae*, характерной для микробных матов южных морей. Космополитами являются ЗСБ родов *Prosthecochloris aestuarii* (*Prosthecochloris phaeoasteroidea*), *Prosthecochloris indica*, *Chlorobium phaeovibrioides*. Последний вид, образующий коричневые и зеленые фенотипы, доминировал в планктоне меромиктических озер приполярья (Grouzdev et al, 2018; Krasnova et al, 2018; Лунина и др., 2019). Этот же вид встречался также в средних и южных широтах (van Gemerden, Mas, 1995). Присутствие коричневых ЗСБ в бентосных сообществах отмечали и ранее, но это исключение из правила (Martínez-Alonso et al, 2005). Обычно обогащенные каротиноидами ЗСБ доминируют только в планктоне глубоководных меромиктических озер. Специфичными для исследованных сообществ являются также АНФБ, которые относятся к новым филотипам (рис. 8). Следует отметить, что применение высокопроизводительного секвенирования дало возможность расширить имеющиеся ранее представления о разнообразии как оксигенных, так и аноксигенных фототрофных бактерий литоральной зоны Кандалакшского залива Белого моря.

12 Микробные маты холодных соленых источников побережья озера Чокрак (Крымский полуостров)

12.1 Характеристика местообитания

Чокракские источники выклиниваются на северо-восточном побережье гиперсоленого озера Чокрак. Это озеро находится на Керченском полуострове, в 18 км от Керчи. Оно отделено от Азовского моря песчаной пересыпью. Существует мнение, что Чокракские источники представляют заключительную стадию поствулканической активности (Альбов, 1973). Озеро находится на стыке двух крупных антиклинальных складок – Караларской на западе и Чокракской на востоке, между которыми проходит разрывное нарушение (Клюкин, Корженевский, 2004). Чокракские сероводородные воды связаны с известняками Чокракского горизонта верхнего миоцена и образуют в них крупный артезианский бассейн (Hydrogeology of

the USSR. Volume VIII. Crimea, 1970). Эти сероводородные воды на склонах антиклиналей смешиваются с метеорными водами, поэтому некоторые из них менее минерализованы и отличаются меньшим содержанием сероводорода (Фомичев, 1948). Таким образом, изливающаяся на поверхность вода Чокракских источников имеет разную минерализацию хлоридно-натриевого типа, с содержанием солей от 7 до 100 г/л. Источники характеризуются низкой температурой (~15°C), близким к нейтральным значениям pH 6.7-8.5, высоким содержанием H₂S (60-220 мг/л) (Компанцева и др., 1989). В местах излива источников формируются микробные маты.

Образец 1 был отобран из микробного мата, сформированного на несколько сантиметров ниже поверхности воды, которая была насыщена сульфидом. Образцы 2-3 были отобраны вместе с верхним слоем ила из скоплений воды в углублении береговой линии озера и представляли пигментированные микробные обрастания. Образец 4 представлял собой микробное обрастание на поверхности черного, насыщенного сероводородом ила, где на фоне серого осадка присутствовали зеленые и пурпурные пятна. Образец 5 был отобран из небольшого углубления в сульфидсодержащем грунте, на поверхности которого формировался тонкий микробный мат. Образец 6 представлял собой мат коричнево-зеленого цвета с пятнами пурпурных бактерий на поверхности насыщенного сульфидом ила.

Значения солености и pH рапы в точках отбора образцов, а также их координаты представлены в таблице 10.

Таблица 10. Значение координат, солености и pH в природных образцах.

Основные характеристики	Образец					
	1	2	3	4	5	6
Координаты отбора проб	45.462153	45.461340	45.461340	45.459076	45.459076	45.459076
	с.ш.	с.ш.	с.ш.	с.ш.	с.ш.	с.ш.
	36.312426	36.313086	36.313086	36.314308	36.314308	36.314308
	в.д.	в.д.	в.д.	в.д.	в.д.	в.д.
Минерализация, г/л	29	100	89	54	60	22
pH	7.8	7.0	7.3	6.5	7.9	7.0

12.2 Тотальный пигментный состав матов

Анализ тотальных препаратов пигментов из природных образцов (рис. 23) выявил, что доминирующим пигментом во всех исследованных микробных сообществах является хлорофилл *a*, характерный для цианобактерий (максимумы поглощения *in vivo* для образцов составил 668-677 нм). Во всех образцах были выявлены пики поглощения бактериохлорофилла

a с максимумами *in vivo* при 800 и 856 нм. Присутствие бактериохлорофилла *a* в значительных количествах указывало на присутствие в микробном сообществе пурпурных бактерий. Только в образцах 1 и 6 был обнаружен заметный пик бактериохлорофилла *c* с максимумом 742 нм, который типичен для ЗСБ и бентосных, содержащих хлоросомы бактерий филума *Chloroflexi*.

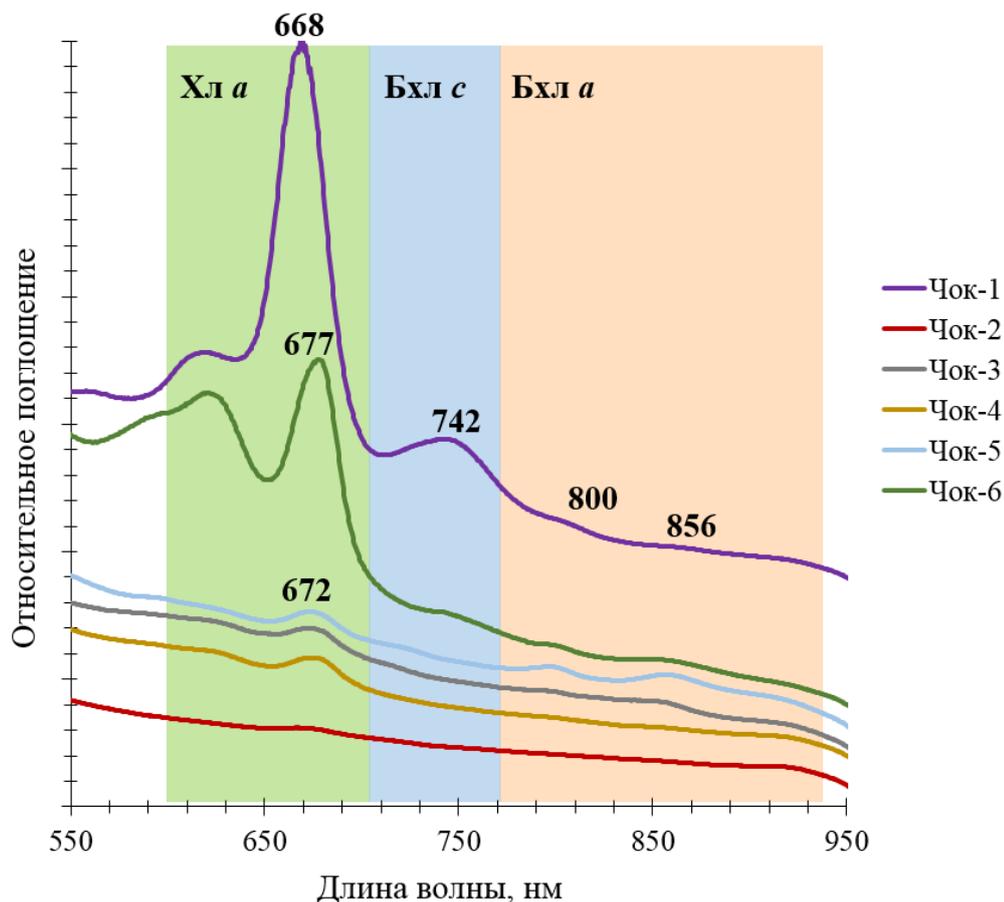


Рисунок 23. Спектры поглощения пигментов целых клеток природных образцов из Чокракских источников.

12.3 Основные группы фототрофных бактерий, выявленные с помощью микроскопии

Оксигенные фототрофы. В образцах 1-6 присутствовали 2 разных морфотипа нитчатой цианобактерии рода *Leptolyngbya* (рис. 24а, 24в), одна из которых определена как *Leptolyngbya fragilis* (Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988 (рис. 24а). Во всех образцах в значительном количестве присутствовала нитчатая цианобактерия с волнистым трихомом – *Arthrospira* sp. (рис. 24б). В образцах 4-6 также в большом количестве встречались бактерии *Planktothrichoides raciborskii* (Woloszynska) Suda & Watanabe 2002 (рис. 24г) и *Phormidium* sp. (рис. 24д). В образцах 4 и 6 доминировала тонкая нитчатая цианобактерия *Geitlerinema* sp. толщиной около 3 мкм (рис. 24е).

Аноксигенные фототрофы. Результаты микроскопирования природных образцов показали, что в образцах 1, 5 и 6 в значительном количестве встречались зеленые серобактерии *Prosthecochloris* sp. – овальные клетки с простеками (рис. 24з).

Из пурпурных бактерий встречались представители семейств *Ectothiorhodospiraceae* и *Chromatiaceae*. Мелкие клетки пурпурной серной бактерии *Ectothiorhodospira* sp. (семейство *Ectothiorhodospiraceae*) присутствовали в образце 5 (рис. 24ж). В образцах 1-3 и 5-6 присутствовали бактерии, морфологически сходные с пурпурными бактериями семейства *Chromatiaceae*. Овальные клетки *Chromatium* sp. 1 (рис. 24к) были обнаружены в образцах 1-3 и 5-6, а в образцах 5-6 присутствовал другой морфотип – *Chromatium* sp. 2, имеющий палочковидные клетки (рис. 24л). В образце 5 наблюдали большое количество мелких спирилл с внутриклеточной серой, предположительно *Thiorhodovibrio winogradskyi* (рис. 24и).

В образце 5 и 6 была обнаружена нитчатая зеленая бактерия, имеющая морфологию, характерную для АНФБ филума Chloroflexi (рис. 24м).

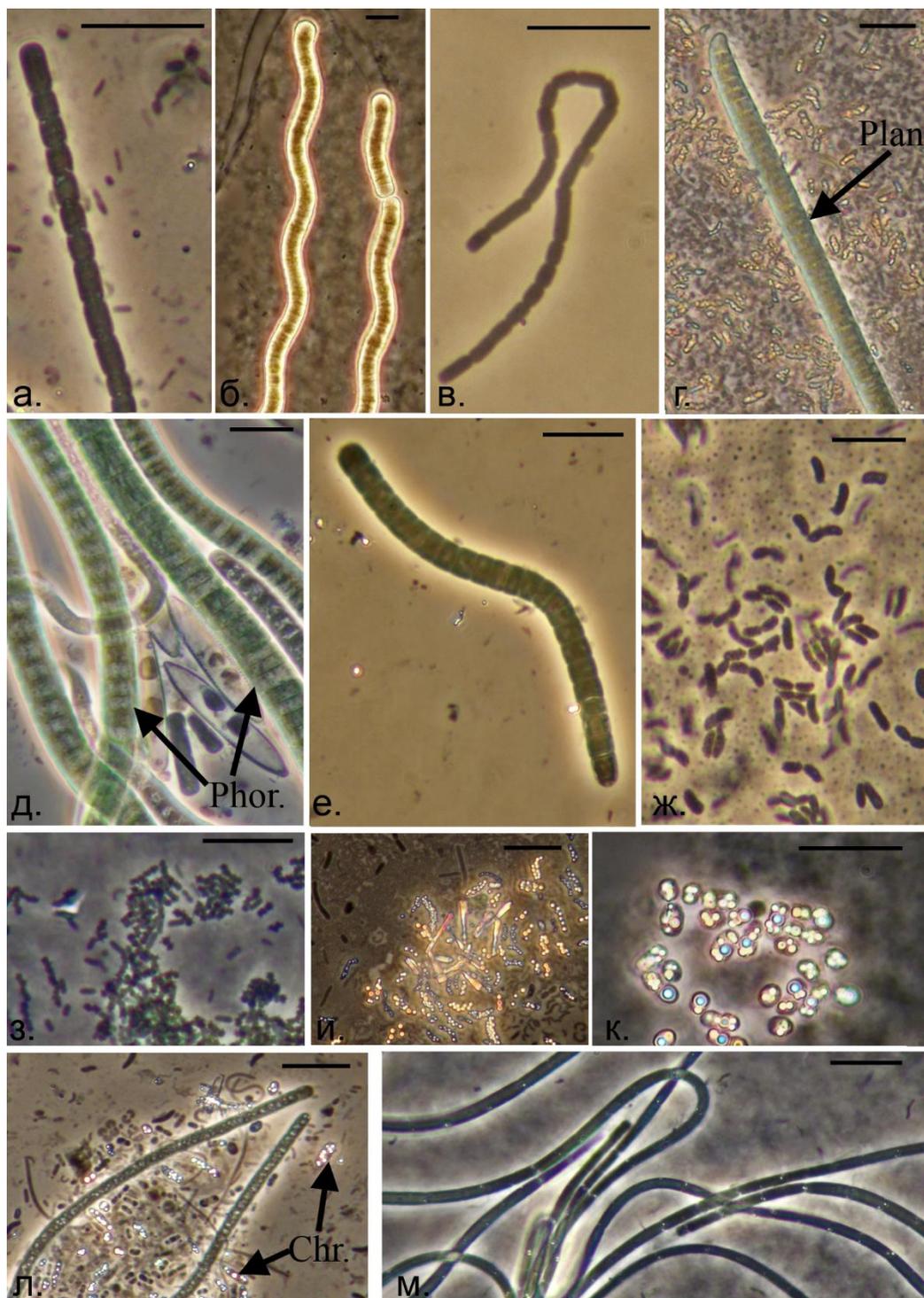


Рисунок 24. Морфотипы фототрофных бактерий в природных образцах: а – *Leptolyngbya fragilis* (Gomont) Anagnostidis & Komárek 1988; б – *Arthrospira* sp.; в – *Leptolyngbya* sp.; г – *Planktothricoides raciborskii* (Woloszynska) Suda & Watanabe 2002; д – *Phormidium* sp. (Phor.); е – *Geitlerinema* sp.; ж – *Ectothiorhodospira* sp., з – *Prosthecochloris* sp., и – *Thiorhodovibrio winogradskyi*, к – *Chromatium* sp. 1; л – *Chromatium* sp. 2 (Chr.), м – зеленая нитчатая бактерия (АНФБ); Масштаб: а-м – 10 мкм.

12.4 Состав микробных сообществ по данным высокопроизводительного секвенирования

В образце 1 доминировали представители филума Chlorobi, которые составляли 64.75% от общего числа бактерий (таблица 11, 12). В образцах 2, 3, 5 и 6 больше всего было представителей филума Proteobacteria (56.61, 38.78, 18.91, 48.50% соответственно). В образце 4 доминировали цианобактерии (62.86%), также они в большом количестве присутствовали в образцах 3 и 6 (13.85 и 10.76%), в то время как в образцах 1-2 и 5 их было менее 2%. Представителей филума Bacteroidetes было обнаружено больше всего в образце 5 (33.21%), но и в образцах 1-4 и 6 они составляли значительную часть прокариотного сообщества (7.15, 21.33, 19.29, 13.25, 18.90% соответственно). Также в исследованных пробах присутствовали микроорганизмы, принадлежащие филумам Firmicutes (2.43, 5.16, 4.80, 0.69, 5.34, 2.11% соответственно), Spirochaetes (4.98, 2.96, 3.86, 0.46, 7.11, 2.45% соответственно). Бактерии филума Verrucomicrobia были обнаружены в образцах 5 и 6 (4.86 и 2.93% соответственно), а филума Thermotogae и Fusobacteria – в образце 3 (5.02 и 6.59% соответственно). Представители филума Tenericutes присутствовали в образцах 1-3 и 5 (3.26, 3.20, 2.32 и 3.46% соответственно). Оставшиеся OTU были представлены другими малочисленными филумами (5.38, 4.44, 2.91, 0.39, 3.60, 1.89% соответственно). К неклассифицированным бактериям отнесли не более 2% от общего количества бактерий.

Цианобактерии в микробных матах экосистемы озера были представлены 12 OTU (рис. 25а), из которых наиболее преобладающими были 2 филотипа – это OTU1, близкая к *Geitlerinema* sp. и OTU4, близкая к *Arthrospira* sp. Цианобактерия *Geitlerinema* sp. являлась преобладающим фототрофным микроорганизмом в сообществах образца 4 и 6. Бактерия *Arthrospira* sp. представлена двумя OTU, причем в образцах 2-3 присутствует филотип OTU4, а в образцах 4-6 – OTU15. Также бентосное сообщество содержало два филотипа *Leptolyngbya* sp. – это OTU381 и OTU2907, которые в разной степени представлены во всех образцах. Из нитчатых цианобактерий также присутствовали *Planktothricoides* (OTU35) и *Phormidium* sp. (OTU54) (образцы 4-6). В малых количествах обнаружены одноклеточные цианобактерии *Cyanobacterium* sp. (OTU918), *Dactylococcopsis* sp. (OTU959) и *Xenococcus* sp. (OTU1116). Особо отметим, что в образце 1, в котором преобладали ЗСБ, цианобактерии присутствовали в следовых количествах.

Среди зеленых серобактерий в сообществах микробных матов было зарегистрировано три филотипа – OTU2, OTU10, OTU172, которые в основном присутствовали в образцах 1 и 6, составляя 98.83 и 12.33% соответственно (рис. 25б). OTU2, близкая к *Prosthecochloris vibrioformis*, составляла 97.62% от общего количества фототрофных бактерий (ОКФ) в

сообществе в образце 1. В образце 6 преобладающим является OTU10, близкая к *Chlorobaculum parvum*. В гораздо меньшем количестве в сообществах образцов 1 и 6 присутствовала OTU172, близкая к *Prosthecochloris aestuarii*.

Пурпурные серные бактерии были представлены немногочисленными 11 OTU (рис. 25в). Больше всего ПСБ было в образце 5 и составляло 10.20% от ОКФ, в то время как в образцах 1, 4 и 6 их было менее 1%. Большую часть последовательностей составляли OTU211, OTU290, OTU404, OTU476, имеющие сходство с *Halochromatium* sp., *Allochromatium vinosum*, *Ectothiorhodospira marina* и *Thioflavicoccus mobilis* соответственно.

Несерные пурпурные бактерии были представлены 18 филотипами (рис. 25в). В образце 1 количество НПБ было минимально (0.82% от ОКФ) и практически было представлено одной OTU214, близкой к *Rhodovulum bhavnagaranse*. В образце 2 НПБ составляли 13.48% от ОКФ с наиболее многочисленной OTU107, близкой к *Rhodovibrio* sp. В образце 3 НПБ составляли 6.64% от ОКФ с наиболее многочисленными OTU32 и OTU107. В образце 4 НПБ составляли 0.91% от ОКФ с наиболее многочисленными OTU32 и OTU122, относительно близкие к *Rhodobaca bogoriensis* и *Rhodobaculum claviforme* соответственно. В образце 5 НПБ было 34.68% от ОКФ и самыми многочисленными были OTU32, OTU93, близкие к *Rubribacterium polymorphum*, OTU122, OTU2450. Последние три вида ранее были обнаружены в содовых озерах (Boldareva et al, 2009; Bryantseva et al, 2015; Milford et al, 2000). В образце 6 НПБ составляли 22.25% от ОКФ, и были представлены многочисленными OTU – OTU9, близкой к *Roseospira navarrensis*, и OTU32, OTU93, OTU122, OTU214 и OTU2450.

Аэробные аноксигенные фототрофные бактерии практически отсутствовали в образцах 1 и 4, но в большом количестве были обнаружены в образцах 2, 3, 5, 6, где составляли 69.22, 37.90, 33.82, 22.84% от ОКФ соответственно (рис. 25г). Всего аэробные АФБ представлены 18 OTU, из которых наиболее многочисленные OTU5, близкая к *Roseovarius tolerans*, OTU33, близкая к *Roseovarius nubinhibens*, OTU36, близкая к *Erythromicrobium ramosum*, OTU118 и OTU126, близкие к *Chromatocurvus halotolerans*, и OTU140, близкая к *Roseicyclus mahoneyensis*.

Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии были представлены двумя филотипами: OTU426 и малочисленной OTU1921, присутствующими в образцах 5 и 6 (рис. 25д). Больше всего филотипа OTU426 в образце 6 – 0.39% от ОКФ. Наиболее близкой бактерией к филотипу OTU426 являлась бактерия ‘*Candidatus Chlorothrix halophila*’, уровень сходства с которой по последовательности гена 16S рРНК составлял 93%.

Среди хемоавтотрофных бактерий следует обратить внимание на микроорганизмы, участвующие в серном цикле: сульфатредукторов и сероредукторов и бактерий, обеспечивающих субстратами сульфидогенов. Сульфатредуцирующие бактерии относились к порядкам *Desulfarcales*, *Desulfabacterales* и *Desulfovibrionales*, а сероредуцирующие бактерии

относились к порядку *Desulfuromonadales*.

Таким образом, можно заключить, что в микробных матах Чокракских источников присутствовали все компоненты «сульфурета», микробного сообщества, зависимого от круговорота серы (Baas-Becking, 1925). Преобладали морские и умеренно галофильные виды.

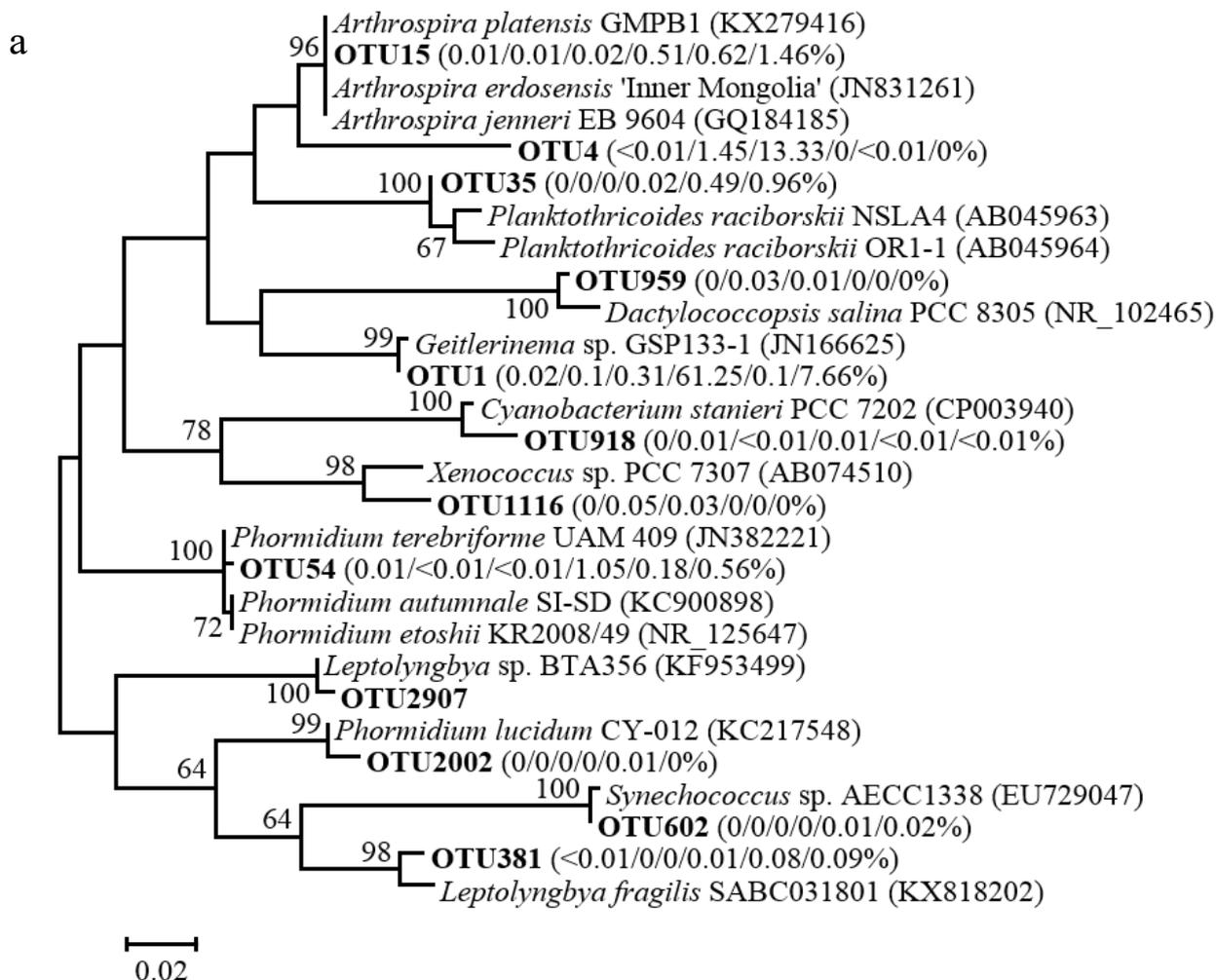


Рисунок 25. Филогенетическое дерево, показывающее разнообразие OTU, относящихся к цианобактериям (а), ЗСБ (б), пурпурным серным и несерным бактериям (в), аэробным аноксигенным фототрофным бактериям (г) и фототрофным Chloroflexi (д) в природных образцах. Дендрограмма построена на основании анализа последовательностей гена 16S рНК с использованием алгоритма максимального подобия (Maximum Likelihood). Достоверность ветвления рассчитана по результатам анализа 500 альтернативных дендрограмм. Длина сравниваемых последовательностей составляла 440 пар нуклеотидов. На дендрограмме после номера OTU следуют цифры, отражающие процентное содержание OTU от общего числа всех бактерий в 1-6 образцах соответственно (образец 1/образец 2/3/4/5/6).

6

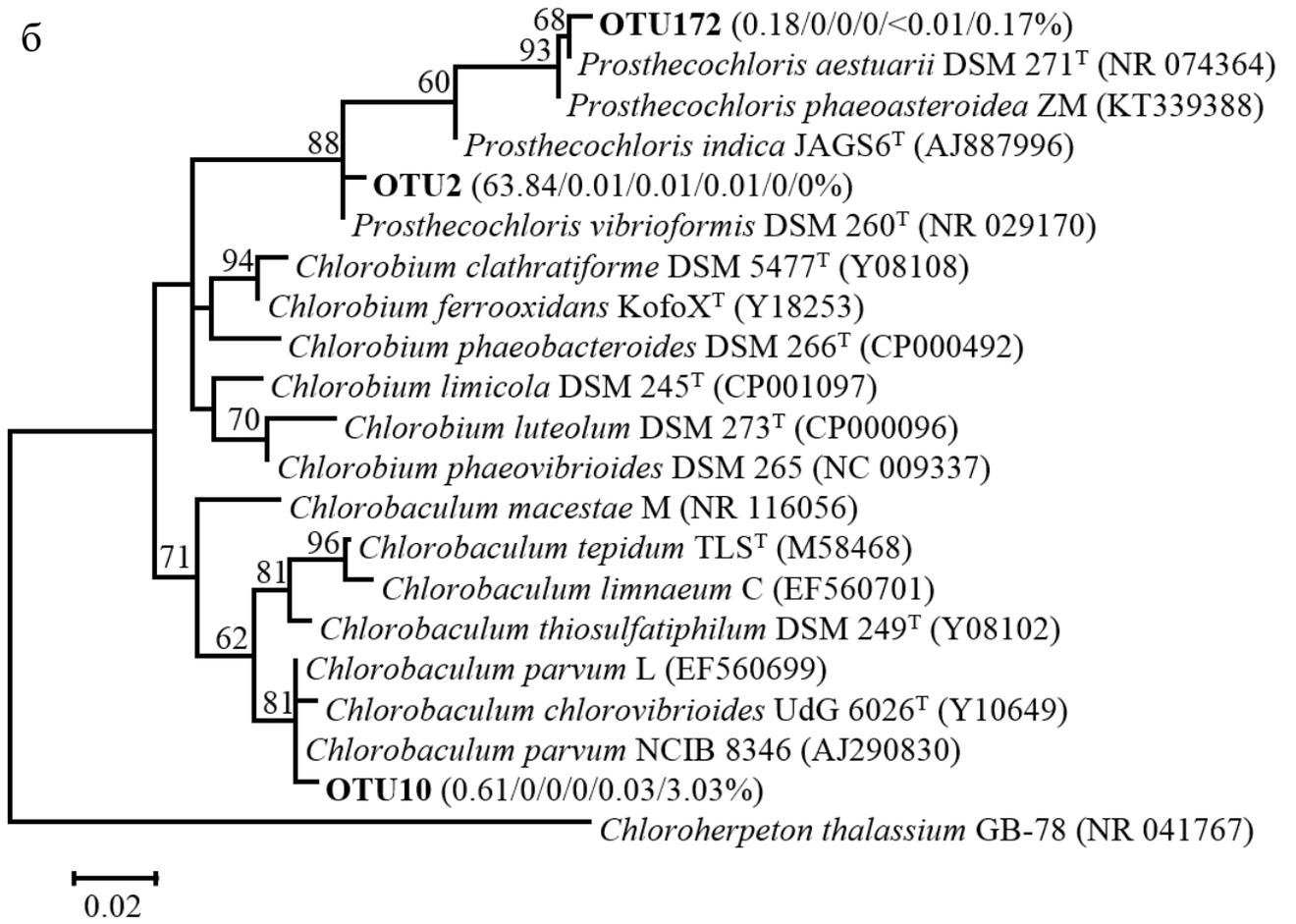


Рисунок 25. (Продолжение)

B

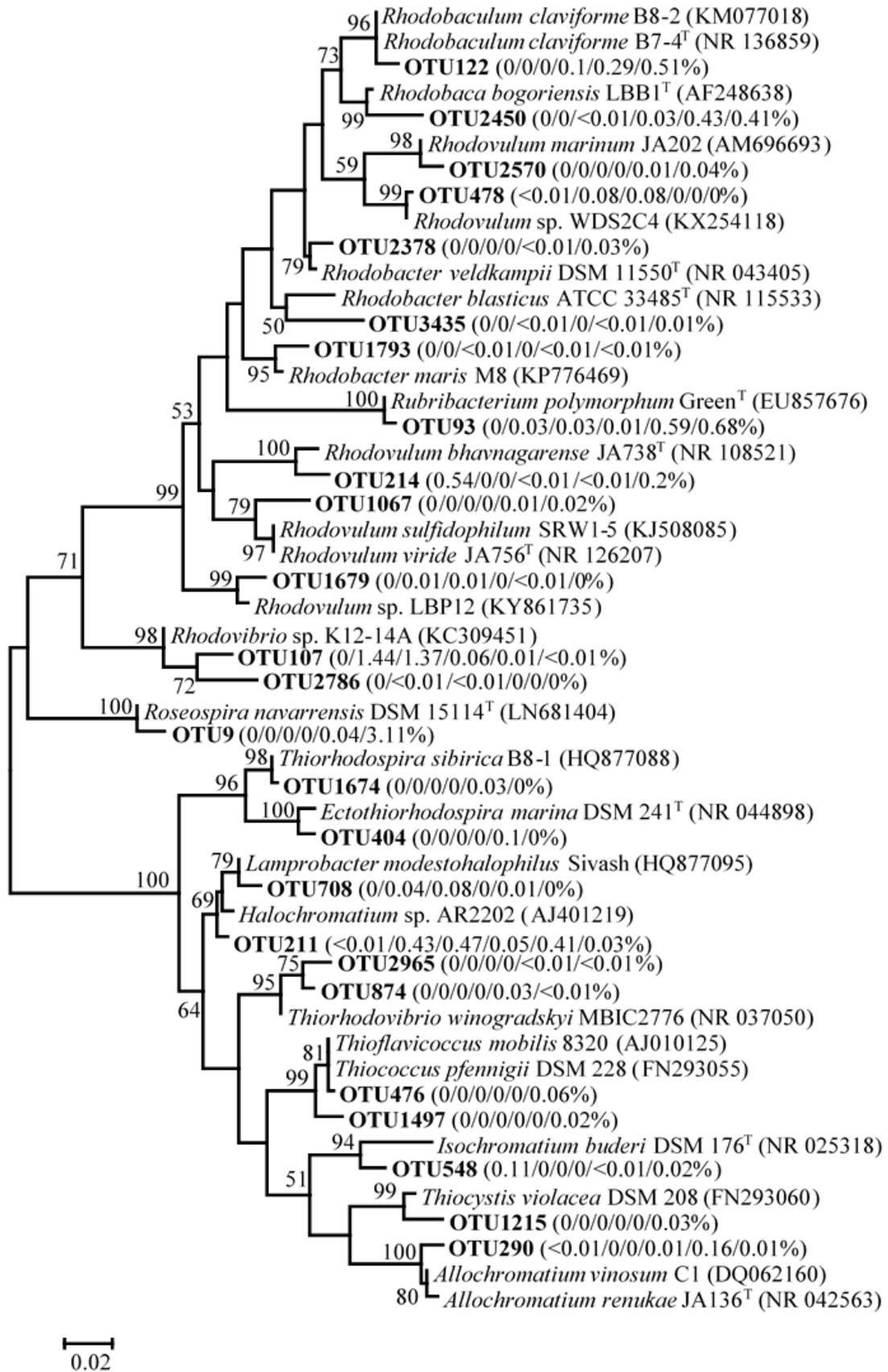


Рисунок 25. (Продолжение)

Г

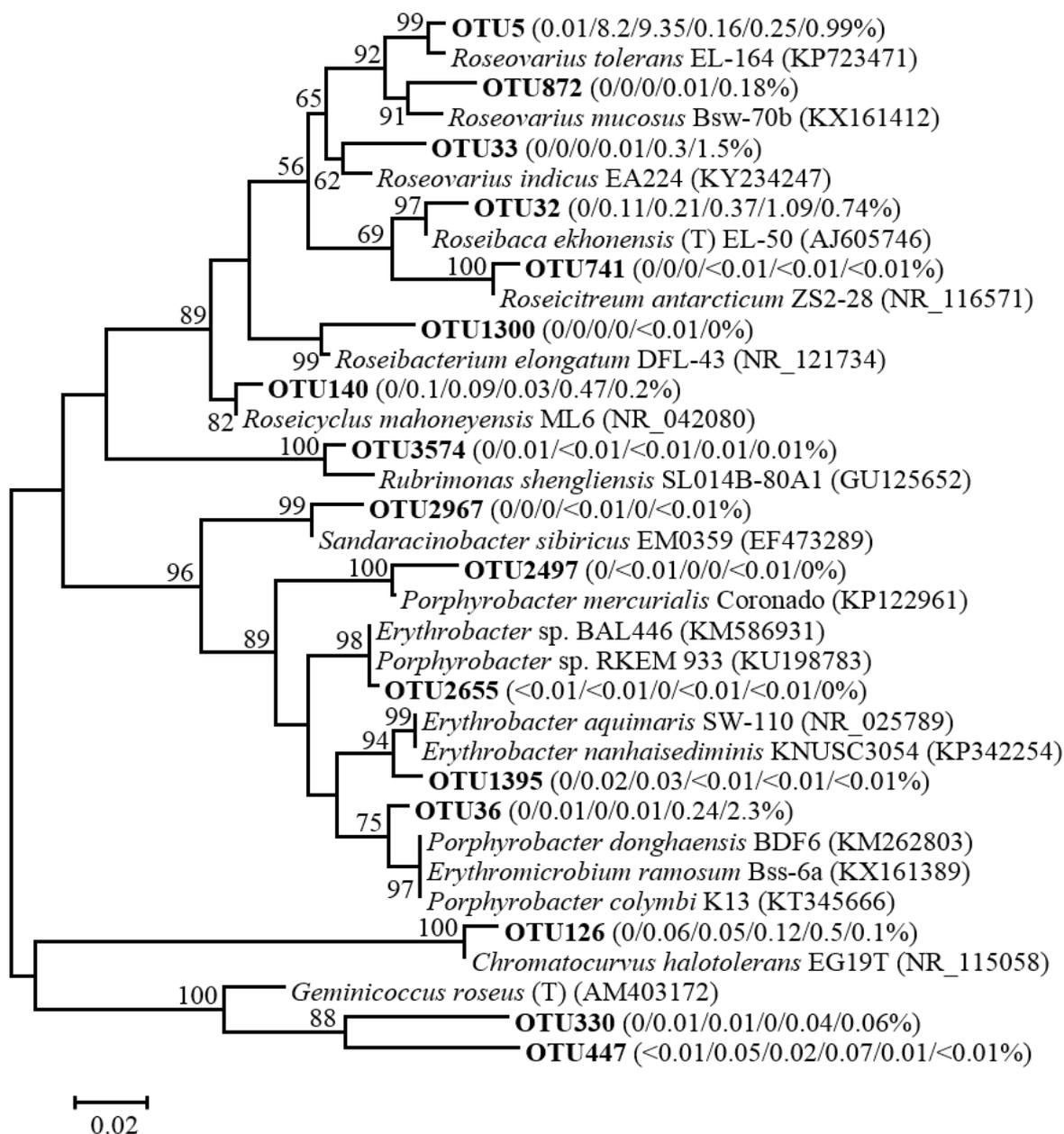


Рисунок 25. (Продолжение)

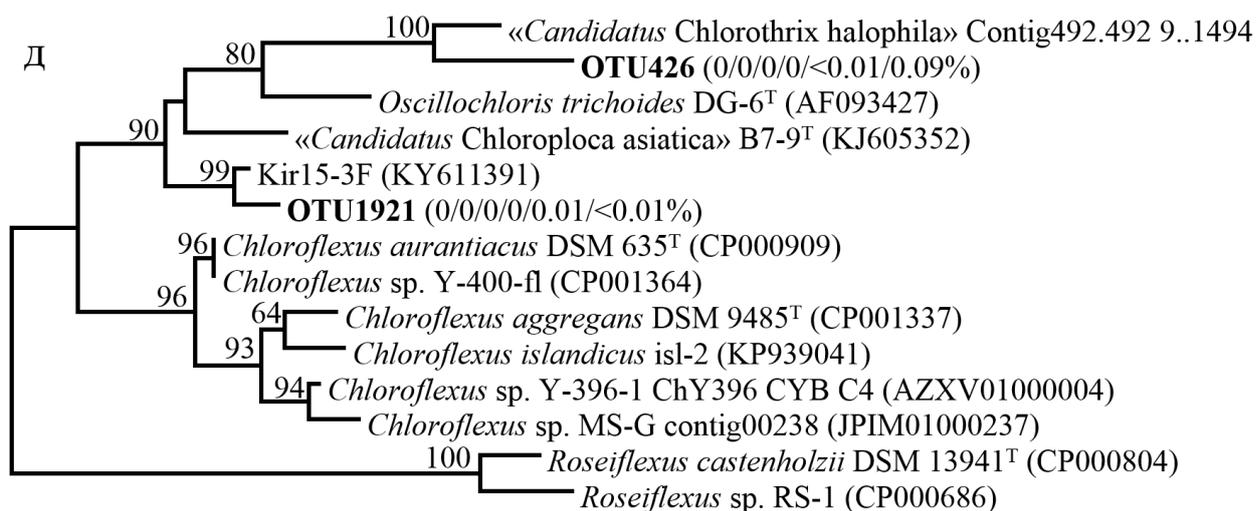


Рисунок 25. (Продолжение)

Таблица 11. Распределение бактериальных OTU в филогенетических группах (в %), количество парных чтений и количество OTU в единицах в образцах микробных матов.

Филогенетические группы	Образец					
	1	2	3	4	5	6
[Thermi]	0.00	0.11	0.09	1.34	4.53	4.98
Bacteroidetes	7.15	21.33	19.29	13.25	33.21	18.90
Chlorobi	64.75	0.15	0.22	0.02	0.51	3.39
Chloroflexi	0.16	1.24	0.14	0.15	1.37	0.60
Цyanobacteria	0.12	1.73	13.85	62.86	1.51	10.76
Firmicutes	2.43	5.16	4.80	0.69	5.34	2.11
Fusobacteria	0.01	0.20	6.59	0.01	0.15	0.43
OD1	0.04	0.15	0.09	0.08	1.24	0.82
Planctomycetes	0.32	0.33	0.22	0.33	0.99	0.83
Proteobacteria	9.00	56.61	38.78	18.91	30.89	48.50
Spirochaetes	4.98	2.96	3.86	0.46	7.11	2.45
SR1	0.27	0.03	0.19	0.01	0.59	0.30
Tenericutes	3.26	3.20	2.32	0.61	3.46	1.02
Thermotogae	0.12	0.86	5.02	0.00	0.21	0.03
Unclassified Bacteria	1.98	0.06	0.17	0.00	0.42	0.05
Verrucomicrobia	0.03	1.43	1.47	0.87	4.86	2.93
Остальные филумы	5.38	4.44	2.91	0.39	3.60	1.89
Всего парных чтений	58876	71641	121529	98532	210943	197967
Количество OTU	434	1355	1308	760	2091	1499
Chao1	499.0	1398	1366	828	2116	1547
Все фототрофные бактерии	65.40	12.52	25.73	64.13	7.23	25.89

Таблица 12. Распределение бактериальных OTU, принадлежащим фототрофным бактериям, в филогенетических группах (в %).

Филогенетическая группа	Образцы					
	1	2	3	4	5	6
АНФБ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.39
Зеленые серобактерии	98.83	0.12	0.03	0.02	0.48	12.33
Аэробные АФБ	0.04	69.22	37.90	0.98	33.82	22.84
Несерные пурпурные бактерии	0.82	13.48	6.64	0.91	34.68	22.25
Пурпурные серные бактерии	0.18	3.72	2.10	0.10	10.20	0.67
Цианобактерии	0.13	13.46	53.33	98.00	20.66	41.51

Примечание: за 100% принимали общее количество всех фототрофных бактерий в соответствующем образце.

12.5 Характеристика и таксономическое положение выделенных культур АФБ

Из природного мата (образец 6) были изолированы пять культур АФБ - Chok-1, Chok-2, Chok-3, Chok-4, Chok-6. При дальнейшем изучении выделенные штаммы оказались представителями известных видов - штамм зеленой серобактерии *Prosthecochloris indica* sp. Chok-1, штаммы пурпурных бактерий *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* sp. Chok-2, *Thioflavicoccus mobilis* sp. Chok-3, *Rhodovulum tesquicola* sp. Chok-4 и изолят АНФБ штамм Chok-6. Также из образца 1 была изолирована и определена монокультура *Prosthecochloris vibriiformis* Chok-5, имеющая по результатам анализа последовательности гена 16S рРНК наибольшее сходство (99%) с бактерией *Prosthecochloris vibriiformis* 6030. Однако более детальное исследование данного штамма не проводилось.

Штамм Chok-1. Клетки бактерии штамма Chok-1 в стационарной фазе имели округлую форму с короткими выростами, размер 0.4×0.8 мкм, при окислении сульфида элементная сера откладывалась вне клетки (рис. 26).

Фототрофный рост бактерии штамма Chok-1 происходил в строго анаэробных условиях с сульфидом в присутствии карбоната. Клеточная суспензия темно-зеленый цвет. Основным пигментом фотосинтеза являлся бактериохлорофилл *c*. Спектр поглощения *in vivo* показывал максимумы 397, 456, (562), 614, 670, 745, (809) нм. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии показывал максимумы поглощения при (386), (411), (432), (460), 492, (620), 663, 770 нм.

По результатам анализа последовательности гена 16S рРНК штамма Chok-1 наибольшее сходство (99%) выявлено с бактерией *Prosthecochloris indica* JAGS6^T. Филогенетическое положение выделенного штамма показано на рисунке 27.

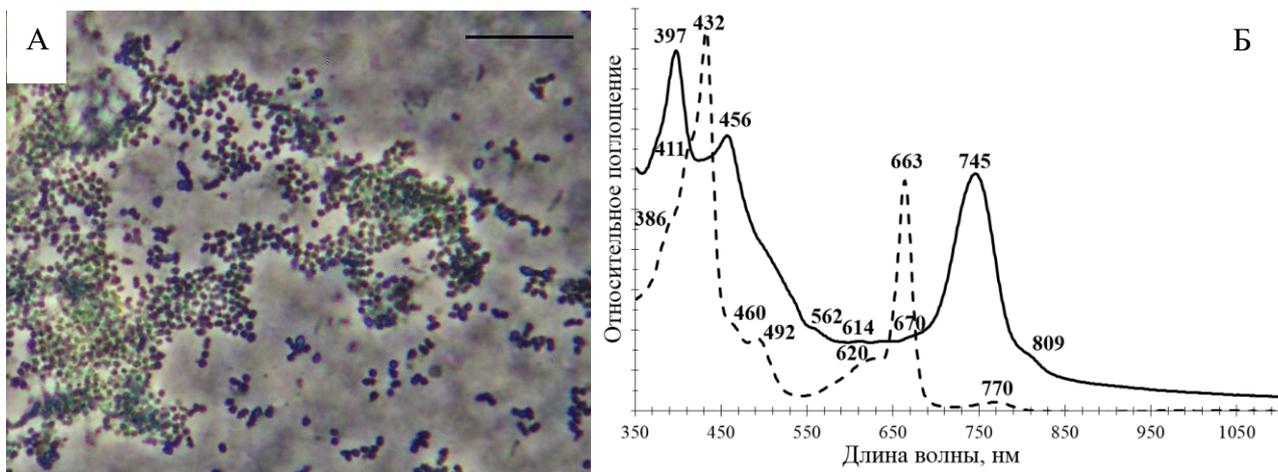


Рисунок 26. Физиологические особенности штамма Chok-1. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) клеток штамма Chok-1. Масштаб 10 мкм.

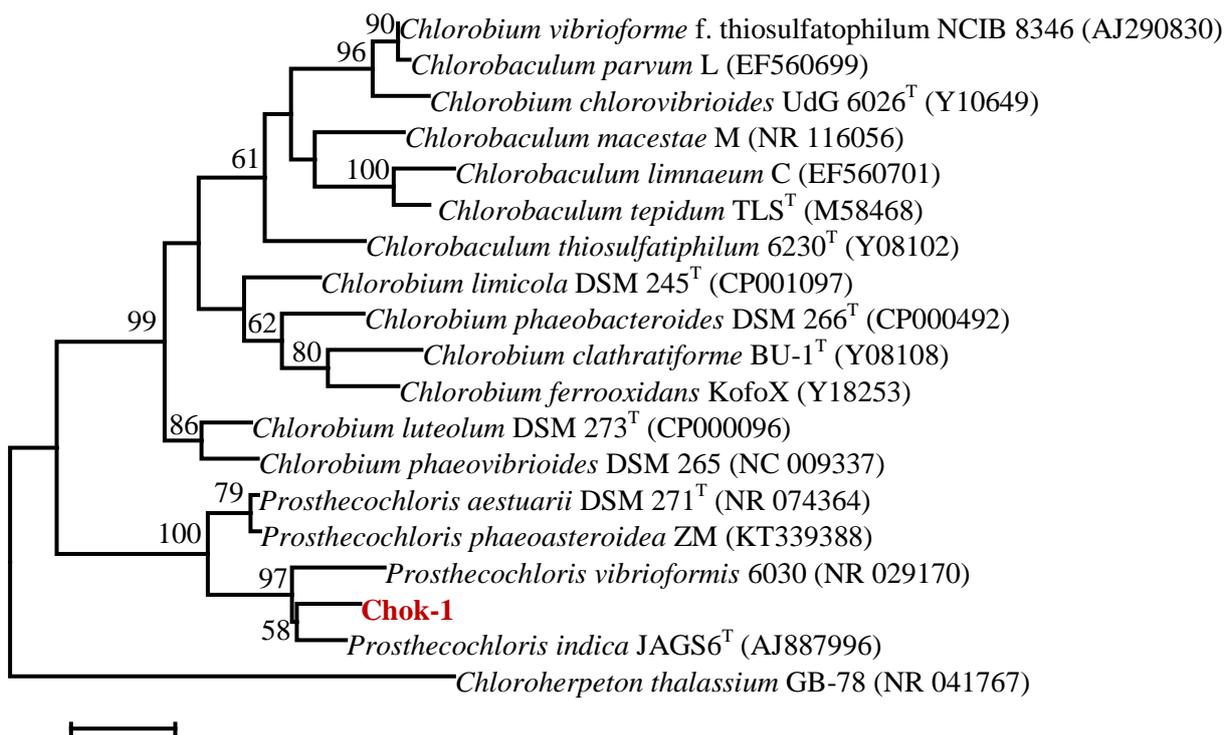


Рисунок 27. Филогенетическое положение штамма Chok-1. Дендрограмма построена на основании анализа последовательностей гена 16S рРНК с использованием алгоритма максимального подобия (Maximum Likelihood). Достоверность ветвления рассчитана по результатам анализа 500 альтернативных дендрограмм. Длина сравниваемых последовательностей составляла 1225 пары нуклеотидов.

Штамм Chok-2. Клетки штамма Chok-2 – изогнутые палочки размером 0.55-0.75 мкм в ширину и 1.85-2.5 мкм в длину (рис. 28). Подвижны с помощью жгутиков. В процессе роста на сульфиде образовывали внеклеточную серу, которая откладывалась вне клеток и с течением времени исчезала (наблюдали при микроскопировании препаратов живых клеток).

Молодая клеточная суспензия бактерии с гранулами серы имела мутно-розовый цвет. В отсутствие гранул серы цвет клеточной суспензии был красный, в стационарной фазе роста приобретал кирпичный оттенок.

Спектр поглощения живых клеток (*in vivo*) штамма Chok-2 свидетельствовал о присутствии пигментов фотосинтеза бхл *a* с максимумами при 380, (398), 595, 717, 798, 860, 891 нм и каротиноидов – 462, 490, 520, (550) нм. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии показывал максимумы поглощения при 364, (395), 418, 478, 500, 601, 690, 770 нм. Наиболее близким к штамму Chok-2 фенотипом является бактерия *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* DSM2111. Уровень сходства последовательностей гена 16S рРНК составил 99%. Филогенетическое положение выделенного штамма показано на рис. 29.

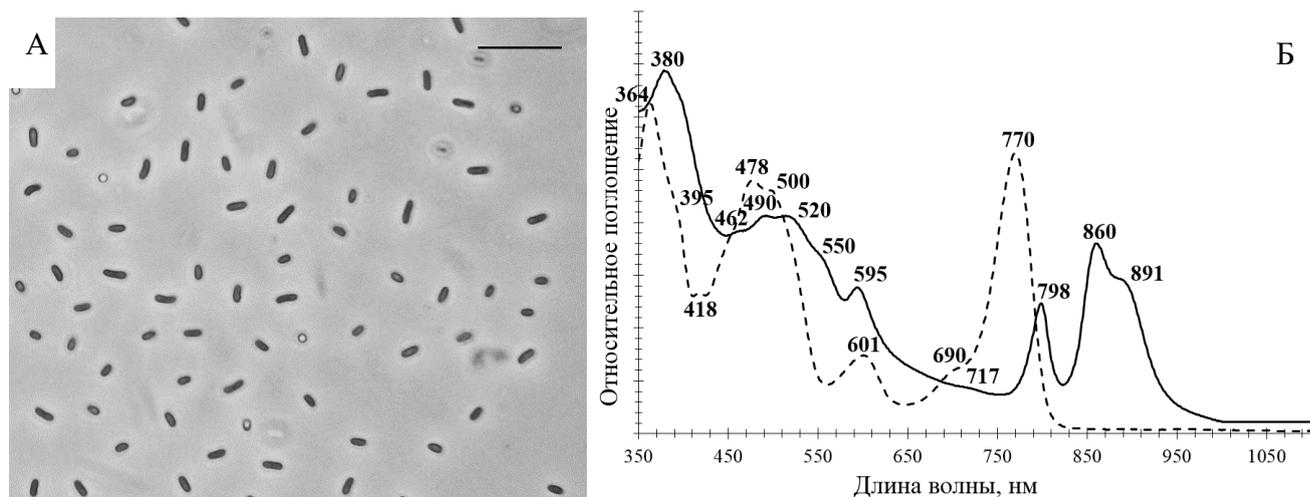


Рисунок 28. Физиологические особенности штамма Chok-2. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) клеток штамма Chok-2. Масштаб 10 мкм.

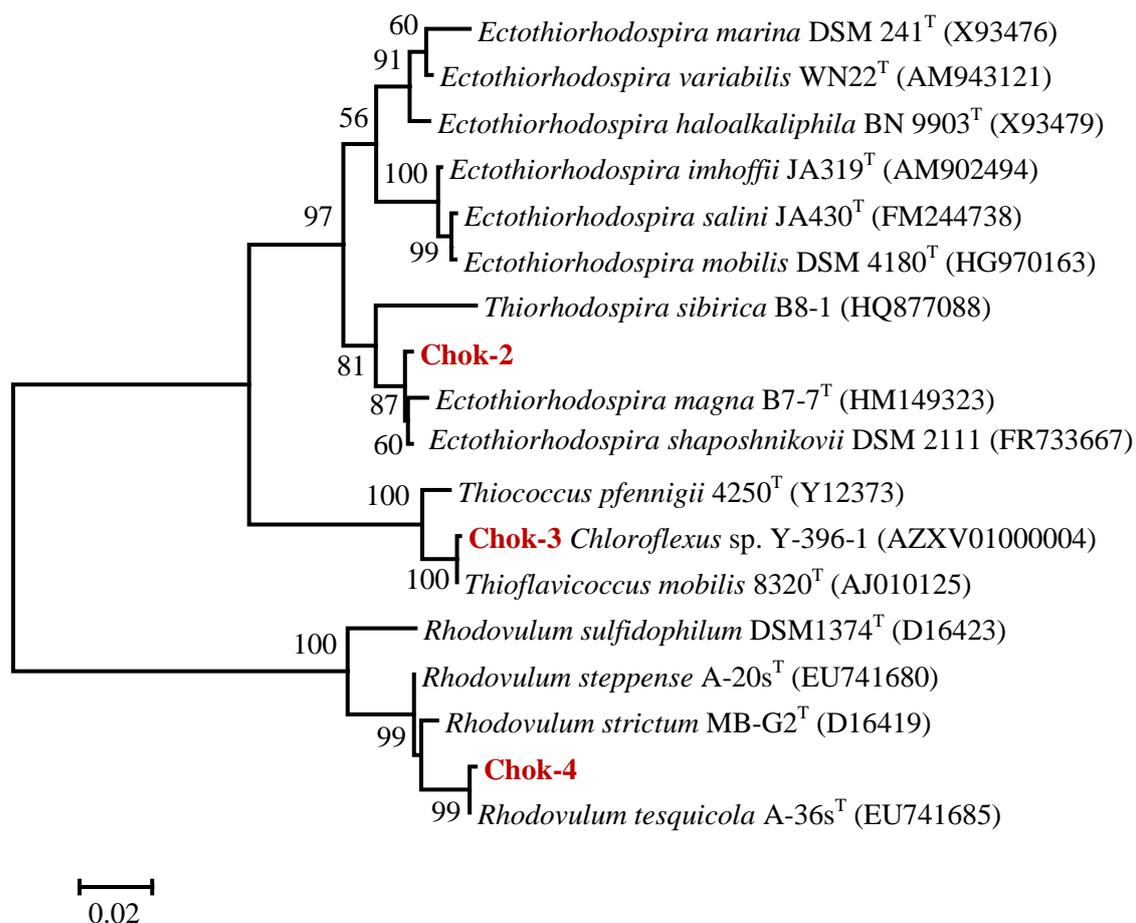


Рисунок 29. Филогенетическое положение культур Chok-2, Chok-3, Chok-4. Дендрограмма построена на основании анализа последовательностей гена 16S рРНК с использованием алгоритма максимального подобия (Maximum Likelihood). Достоверность ветвления рассчитана по результатам анализа 500 альтернативных дендрограмм. Длина сравниваемых последовательностей составляла 1223 пары нуклеотидов.

Штамм Chok-3. Клетки бактерии штамма Chok-3 были в виде кокков или коротких палочек размером 1.0-1.5 мкм в диаметре (рис. 30).

Пигментами фотосинтеза бактерии являлись бактериохлорофилл *b* и каротиноиды. Спектр поглощения *in vivo* показывал максимумы бхл *b* при 403, 606, 842, 1025 нм и каротиноидов при 460, 490, 527 нм. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии показывал максимумы при 363, (398), 445, 467, 502, 622, 677, 782 нм.

Клеточная суспензия бактерии имела оранжево-коричневый цвет.

Наиболее близким к штамму Chok-3 филоотипом является бактерия *Thioflaviccoccus mobilis* 8320^T. Уровень сходства последовательностей гена 16S рРНК составил 99%.

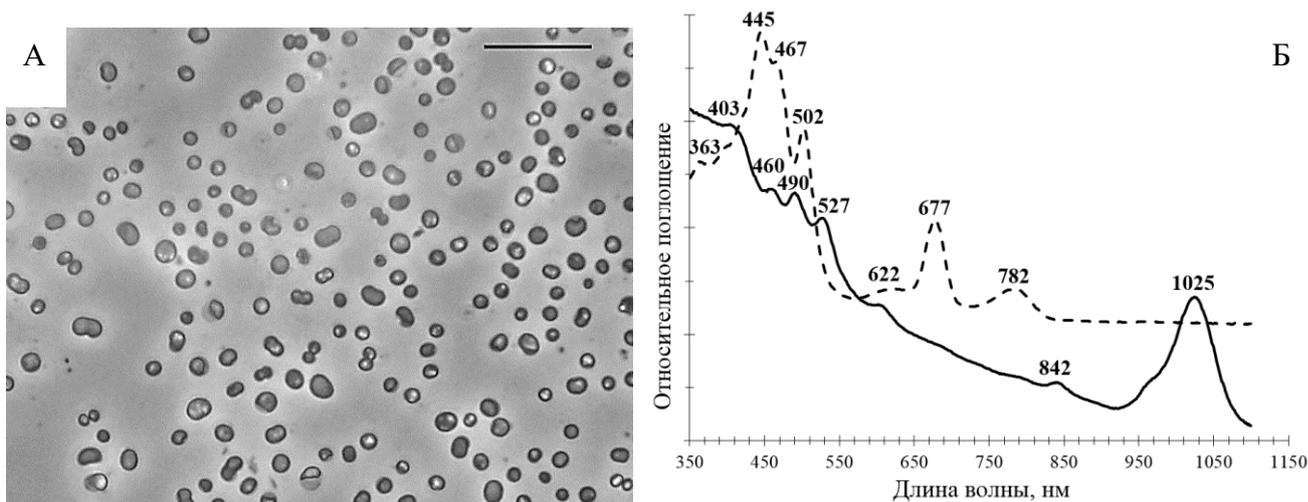


Рисунок 30. Физиологические собенности штамма Chok-3. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) клеток штамма Chok-3. Масштаб 10 мкм.

Штамм Chok-4. Клетки бактерии штамма Chok-4 были в форме тонких коротких палочек размером 0.3 мкм в ширину и 1.5-1.8 мкм в длину (рис. 31).

Пигментами фотосинтеза бактерии являлись бактериохлорофилл *a* и каротиноиды альтернативной спириллоксантиновой серии (сфероиден и сфероиденон). Спектр поглощения *in vivo* показывал максимумы бхл *a* при 375, (406), (448), 590, 804, 863, (896) нм и каротиноидов при (448), (475), (512) нм. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии показывал максимумы при 361, (430), 456, 485, (520), (595), (696), 770 нм.

Клеточная суспензия бактерии имела желто-коричневый цвет в анаэробной зоне и ярко-розовый цвет в присутствии кислорода.

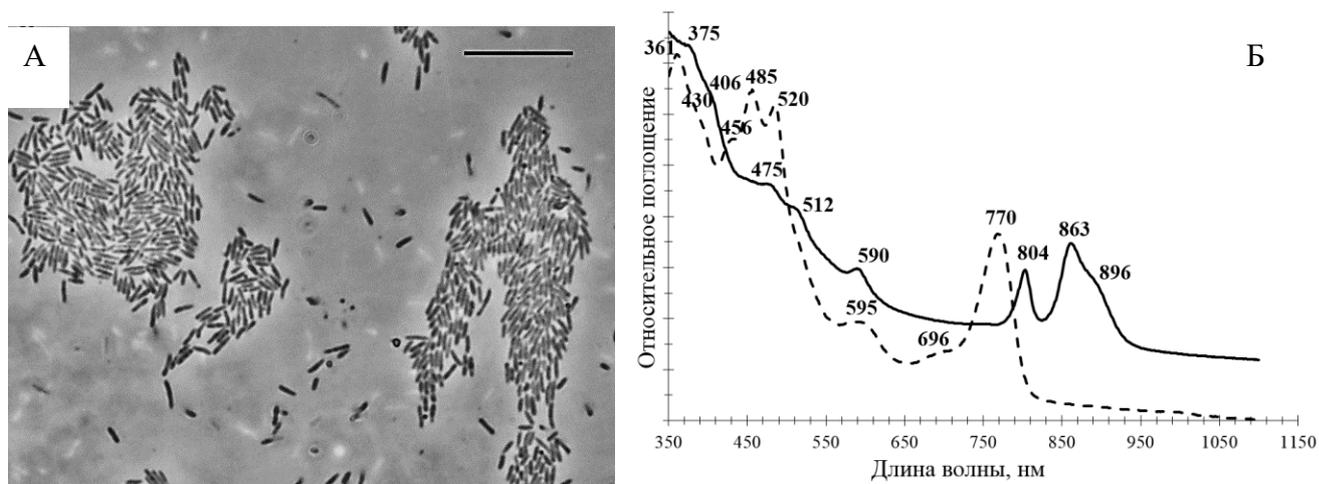


Рисунок 31. Физиологические собенности штамма Chok-4. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) клеток штамма Chok-4. Масштаб 10 мкм.

Наиболее близким к штамму Chok-4 филотипом является бактерия *Rhodovulum tesquicola* A-36s^T. Уровень сходства последовательностей гена 16S рРНК составил 99%.

Из проб мата Чокракского источника (образец б) методом последовательных разведений на агаризованной среде (см. пункт 8.1 в разделе Методы) была выделена монокультура АНФБ - штамм Chok-6. Основные характеристики этой бактерии приводятся ниже.

12.6 ‘*Candidatus Viridilinea halotolerans*’ Chok-6 – новая аноксигенная нитчатая фототрофная бактерия из Чокракского источника

12.6.1 Морфологическая характеристика

Выделенный штамм в агаризованной среде образовывал плотное желто-зеленое кольцо в верхней части пробирки. Клетки цилиндрической формы формировали гибкие, не ветвящиеся трихомы переменной длины (рис. 32).

Наблюдалась слабая подвижность трихомов. Диаметр клеток 1.2-1.8 мкм. На электронных микрофотографиях тотальных препаратов разрушенных клеток видны хлоросомы (рис. 32г). На ультратонких срезах видны поверхностные слои клеточной стенки (рис. 32г, д).

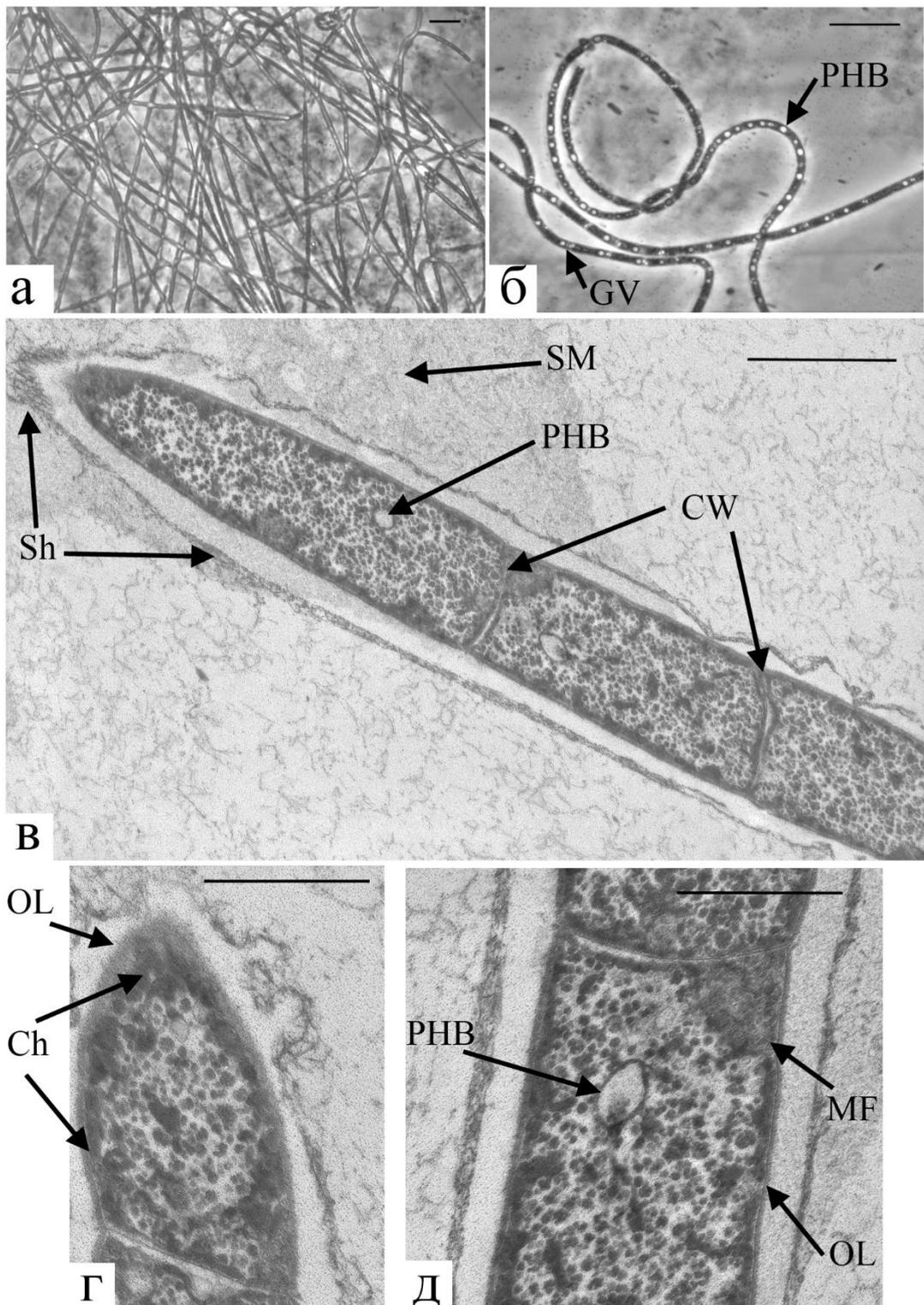


Рисунок 32. Морфология клеток штамма Chok-6. Фазово-контрастная микроскопия препаратов полужидкой культуры: бактериальные нити (а) и газовые везикулы и гранулы поли- β -гидроксибутирата в клетках (б). Трансмиссионная электронная микроскопия (в-д). Масштаб: 10 (а-б), 1 (в), 0,5 μm (г-д). Условные обозначения: GV – газовые вакуоли; PHB – поли- β -гидроксибутират; Sh – чехол; CW – клеточная перегородка; SM – слизистый материал; Ch – хлоросомы; OL – внешний слой клеточной стенки; MF – формирование мезосомы.

12.6.2 Пигменты клеток

Пигментный спектр *in vivo* аналогичен спектру штамма Kir15-3F (рис. 33). На спектре присутствовали максимумы поглощения 457, (520) и 748 нм. Из спектра поглощения клеток видно, что, как и у других хлоросом-содержащих АНФБ, клетки штамма Chok-6 содержат бактериохлорофилл *c* (748 нм), находящийся в составе хлоросом. Бактериохлорофилл *a*, входящий в состав реакционного центра, находится в следовых количествах и не виден на спектре. Максимум поглощения 457 нм также соответствует бактериохлорофиллу *c*. В ацетон-метанольном экстракте выявлены пики 436, 502, 618, 667 нм.

Профиль элюирования ВЭЖХ пигментного экстракта имел 13 сигналов бактериохлорофилла *c* (рис. 34), 3 сигнала бактериохлорофилла *d* и 1 сигнал бактериохлорофилла *a* (соотношение между которыми 95.2:4.6:0.2% от общего содержания бактериохлорофилла). Каротиноиды клетки включали γ -каротин (48.1%), производное ликопина (4.5%) и β -каротин (47.4%). Сравнение состава каротиноидов Chok-6 с другими мезофильными АНФБ представлено в таблице 13.

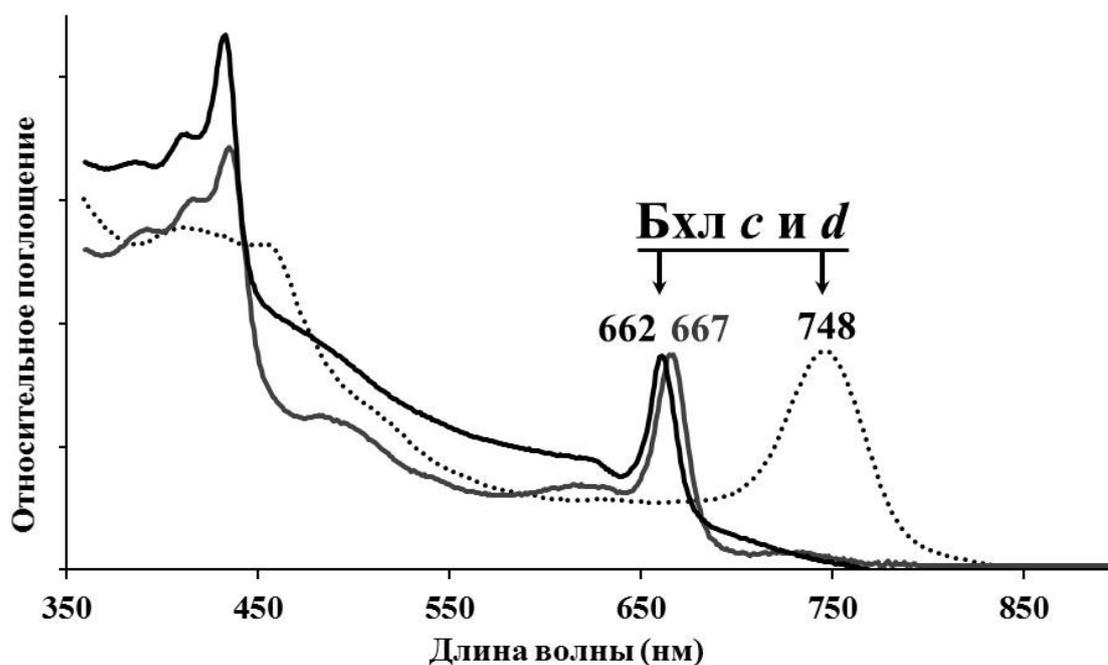


Рисунок 33. Пигментный спектр клеток штамма Chok-6. Спектр поглощения разрушенных клеток в 50% глицерине (пунктирная линия), ацетон-метаноле (серая линия) и петролейном эфире (черная сплошная линия). Условные обозначения: Бхл – бактериохлорофилл.

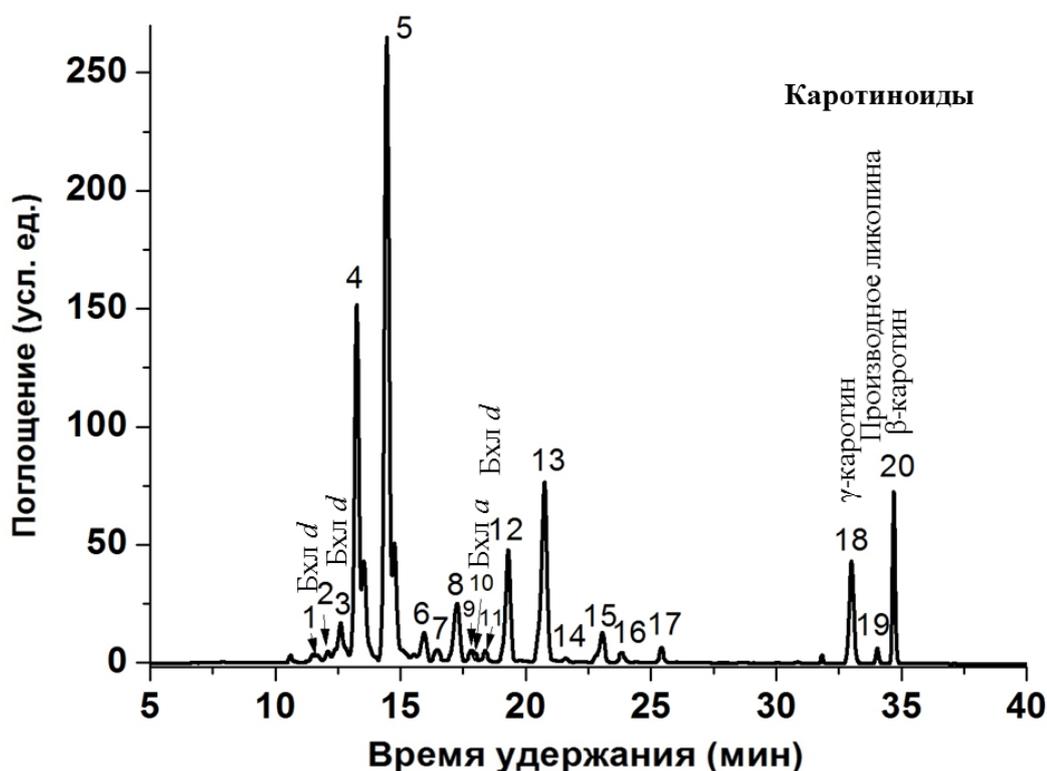


Рисунок 34. ВЭЖХ хроматограмма пигментов, экстрагированных в ацетон-метаноле (7:2, об./об.), детектированная при 360–800 нм. Идентификация пиков: 1, 3, 11 – бактериохлорофилл *d*; 2, 4-8, 12-17 – бактериохлорофилл *c*; 10 – бактериохлорофилл *a*; 18 – γ -каротин; 19 – производное ликопина; 20 – β -каротин.

Таблица 13. Сравнение состава каротиноидов у мезофильных АНФБ.

Вид/штамм бактерии	Содержание каротиноидов (%)			
	γ -каротин	β -каротин	производное ликопина	ликопин
Chok-6	48.1	47.4	4.5	0
Kir15-3F	49.1	46.8	0	4.1
<i>Candidatus Chloroploca asiatica</i> B7-9	99	-	-	-
<i>Oscillochloris trichoides</i> DG-6	+	+	-	-
<i>Ca. Chlorothrix halophila</i>	+	+	-	-

12.6.3 Физиологические свойства

Бактерия Chok-6 не росла в темноте ни в анаэробных, ни в аэробных условиях. Рост в аэробных условиях не наблюдался. Наилучший рост ‘*Ca. Viridilinea halotolerans*’ в монокультуре был при 5–10 г/л NaCl, pH 7.5–8.5 и температуре 31-42°C. Однако из-за отсутствия чистой культуры, мы не могли более точно проанализировать физиологию бактерии. В настоящее время можно только заключить, что культура Chok-6 является алкалофильной, солеустойчивой, строго мезофильной, анаэробной, фототрофной бактерией.

Сравнение характеристик штаммов Chok-6 и Kir15-3F представлено в таблице 14.

12.6.4 Генетические свойства

Была получена последовательность гена 16S рРНК штамма Chok-6 длиной 1461 нуклеотид. Филогенетический анализ на основании гена 16S рРНК показал, что Chok-6 образует отдельную кладу на дендрограмме с ближайшей к нему бактерией Kir15-3F (рис. 18). Парное сравнение последовательностей гена 16S рРНК показало, что разница в составе последовательностей штаммов Chok-6 и Kir15-3F составляет 2.3%. Средняя нуклеотидная идентичность (ANI) (Rodriguez-R, Konstantinidis, 2016) и ДНК-ДНК гибридизация *in silico* (dDDH) (Auch et al, 2010) по отношению к геному близкородственного штамма ‘*Ca. Viridilinea mediisalina*’ Kir15-3F составляют 81.3% и 27.6%, соответственно, что ниже критериев отнесения к отдельному виду (Chun et al, 2018). Это позволяет говорить о принадлежности выделенного штамма к новому кандидатному виду в роде *Viridilinea*.

Филогенетическое положение бактерии Chok-6 представлено на рис. 18 (пункт 10.6.4).

Последовательность генома Chok-6 содержит все необходимые гены для биосинтеза бактериохлорофилла *a*, *d* и *c*, в том числе отсутствующие у *Oscillochloris trichoides acsF* и отсутствующие у представителей рода *Chloroflexus bchQ* и *bchR* (Grouzdev et al, 2015). Гены фиксации азота *nifHBDK* присутствуют, но *nifEN* и *nifV* отсутствуют. Среди АНФБ, кроме представителей *Viridilinea*, подобный кластер генов присутствует у представителей родов *Roseiflexus* и *Oscillochloris*.

Таблица 14. Главные характеристики бактерий Kir15-3F и Chok-6 в сравнении с другими культивируемыми термофильными и мезофильными АНФБ.

Свойства	<i>Chloroflexus spp.</i>	<i>Oscillochloris trichoides</i>	' <i>Ca. Chlorothrix halophila</i> '	' <i>Ca. Chloroploca asiatica</i> '	Kir15-3F	Chok-6
Культура	чистая культура		монокультура			
Место обитания	Горячие источники	Сульфид.источники, мертвая вода	Гиперсолёный мат	Сульфид.источники, содовые озера	Содовые озера	Сульфидные источники
Топт., °С	55	28–30	35–38	25–32	31–42	31-42
Оптimum pH	7.5–8.5	8.0–8.5	7.5	8.0	8.0–9.0	7.5-8.5
Морфология	Длинные нити			Короткие нити	Длинные нити	
Диаметр клеток (мкм)	0.7–1.5	0.8–1.4	около 2.5	0.7–1.0	около 1.0	1.2-1.8
Подвижность	+	+	+	-	+	+
Газовые вакуоли	-	+	-	+	+	+
Чехол	+/-	+/-	+	+	+	+
Окраска по Граму	-	-	-	-	+	+
Внутренние мембраны	-	-	+	-	-	-
Пики <i>in vivo</i> (нм)	462, 740, 802, 865	436, 748, 852	461, 683, 759	462, 742, 805, 863	460, 640, 680, 754	457, 520, 748
Бактериохлорофилл	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>	<i>a, c</i>	<i>a, c, d</i>	<i>a, c, d</i>
Каротиноиды	γ-каротин, β-каротин, ОН-γ-каротин глюкозидный эфир	γ-каротин, β-каротин	γ-каротин, β-каротин	γ-каротин	γ-каротин, β-каротин, ликопин	γ-каротин, β-каротин, произв. ликопина
Оптimum солености, %	пресноводный	пресноводный	10	0.3–1.5	2.5	0.5-1
Аэробный рост	+	-	-	-	-	-
Ссылка	(Hanada et al, 1995b; Pierson, Castenholz, 1974a)	(Keppen et al, 1994)	(Klappenbach, Pierson, 2004; Olson et al, 2007)	(Gorlenko et al, 2014)		

На основе сравнения физиологических, морфологических и молекулярных данных предложено таксономическое описание новой АНФБ штамм Chok-6 - '*Candidatus Viridilinea halotolerans*'.

12.6.5 Таксономическое описание '*Candidatus Viridilinea halotolerans*'

'*Candidatus Viridilinea halotolerans*' (ha.lo.to'le.rans. Gr. n. *hals*, соль; L part. *tolerans*, толерантный; N.L. part. adj. *halotolerans*, толерантный к высоким концентрациям соли).

Клетки '*Candidatus Viridilinea halotolerans*' имеют диаметр около 1.2-1.8 мкм. Они образуют неразветвленные многоклеточные нити различной длины. Нити подвижны. Газовые вакуоли располагаются вблизи межклеточных перегородок. Гранулы поли-β-гидроксипутирата присутствуют. Хлоросомы присутствуют. Клетки образуют зеленое кольцо в пробирке в агаризованной среде и зеленые биопленки в жидкой среде. Спектр поглощения суспензии клеточных мембран имеет максимумы при 457, (520) и 748 нм. Фотосинтетическими пигментами являются бактериохлорофиллы *c*, *d* и *a*, а также β- и γ-каротины и производное ликопина. В монокультуре лучший рост наблюдался при 5–10 г/л NaCl, pH 7.5–8.5 и температуре 31–42°C. Рост происходит в анаэробных условиях на свету в присутствии Na-сульфида, Na-бикарбоната и Na-ацетата. Рост отсутствовал в темноте как в аэробных, так и в анаэробных условиях. В геноме отсутствуют гены *sox*-системы для окисления тиосульфата, но присутствует ген сульфид:хинон редуктазы для окисления сульфида и присутствуют гены 3-гидроксипропионатного цикла ассимиляции CO₂. Содержание Г+Ц в ДНК составляет 60.4%. Последовательность генома доступна в Генбанке под номером RSAS00000000.

12.7 Особенности состава исследованных галофильных микробных матов и присутствие новых АНФБ

Анализ литературы показал, что данные о фототрофных сообществах, холодных сульфидсодержащих соленых источников, ограничиваются информацией о микроорганизмах источника Зодлетон (Оклахома, США) и Чокракских источников (Elshahed et al, 2003; Компанцева и др., 1989).

Видовой состав микробного мата источника Зодлетон с низкой соленостью 12 г/л значительно отличается от видового состава Чокракских источников. В Зодлетоне присутствовали представители как пресных, так и соленоводных пурпурных серобактерий родов *Chromatium*, *Rhabdochromatium*, *Halochromatium* и *Thiocystis*, несерные пурпурные бактерии родов *Rhodobacter*, *Rhodovulum*, *Rhodobaca* и ЗСБ рода *Chlorobium* (Elshahed et al,

2003).

Сравнение данных по видовому составу микробных матов Чокракских источников, полученных в 1987 году классическими методами посева с разведениями на элективные среды, и в нашем исследовании 2016-ого года, показало, что в этих источниках стабильно присутствуют ЗСБ: по крайней мере два вида *Prosthecochloris* – *Prosthecochloris aestuarii* и *Prosthecochloris vibrioformis*, бактерии рода *Chlorobaculum* и пурпурные бактерии родов *Ectothiorhodospira* и *Allochromatium*.

Чокракские источники являются высокосульфидными и некоторые из них гиперсолеными с преобладанием в рассоле хлорида натрия (Компанцева и др., 1989). В сентябре 2016 года общая минерализация изливающихся источников варьировала от 22 до 100 г/л. Установлено, что соленость и глубина нахождения мата существенно влияли на видовой состав микробных сообществ, сформированных в местах излива Чокракских источников. Так, в образце из точки 1, где мат расположен на глубине 5 см, преобладали строго анаэробные ЗСБ. Об этом свидетельствовали спектры поглощения отобранных проб, в которых идентифицировано присутствие бактериохлорофилла *c*, характерного для ЗСБ, и данные высокопроизводительного секвенирования. В этом микробном сообществе ЗСБ составляли свыше 90% от ОКФ. Содержание цианобактерий в этой точке незначительно. Таким образом, в точке 1 сульфидзависимые ЗСБ являлись основными первичными продуцентами. В остальных исследованных матах доля цианобактерий от ОКФ составляла от 15 до 95%. Преобладали представители родов *Phormidium*, *Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Geitlerinema* и *Arthrospira*. Известно, что соленоводные цианобактерий являются обычным компонентом сообщества «сульфурета», а некоторые из них способны окислять сульфид, конкурируя с АФБ (Cohen et al, 1986; Cohen et al, 1975; Klatt et al, 2015; Miller et al, 2004; Wit de, van Gemerden, 1987).

Полученные нами данные подтвердили, что граница распространения ЗСБ по солености уже ареала распространения серных и несерных пурпурных бактерий. В Чокракских источниках ЗСБ были обнаружены в образцах с минерализацией 22-60 г/л, что подтверждает тот факт, что активное развитие зеленых серобактерий ограничивается высокой соленостью (Gorlenko, 1988). Зеленые серобактерии были представлены типично соленоводными видами рода *Prosthecochloris*: *Ptc. aestuarii* (OTU 172), *Ptc. vibrioformis* (OTU 2) и галотолерантными бактериями рода *Chlorobaculum* (OTU 10).

Общее количество серных пурпурных бактерий в исследованных микробных матах сравнительно низкое (0.18-10.20% от ОКФ). Наибольшее развитие получил филотип, относящийся к галофильному роду *Halochromatium* (OTU211). Это может объяснить тот факт, что данные бактерии были наиболее представлены в образцах 2, 3 и 5 с наибольшей минерализацией. Отметим, что оптимальная соленость для типового вида этого рода,

Halochromatium salexigens, составляла 100 г/л (Imhoff et al, 1998). В исследованных бентосных сообществах в небольшом количестве присутствовали галофильные *Lamprobacter modestohalophilus*, а также морские бактерии *Thioflaviccoccus pfennigii*, содержащие бактериохлорофилл *b*. Следует отметить также присутствие галофильных видов бактерий рода *Ectothiorhodospira*. Из несерных пурпурных бактерий в широких пределах солёности были обнаружены бактерии рода *Rhodovulum*, толерантные к сульфиду и использующие его в процессе фотосинтеза (Hiraishi, Ueda, 1994).

Из пробы мата, сформированного при солёности 22 г/л (точка б), была выделена монокультура АНФБ Chok-6, филогенетически близкая, но не идентичная бактерии Kir-15-3F, выделенной из озера Киран (республика Бурятия) (Burganskaya et al, 2018). Следует отметить, что опубликовано ограниченное количество работ, в которых приводится информация о культивируемых солёноводных *Chloroflexi* (Klappenbach, Pierson, 2004; Burganskaya et al, 2018; Pierson et al, 1994).

В состав сообщества «сульфурета» кроме бактерий, непосредственно участвующих в круговороте серы, входят микроорганизмы косвенно причастные к серному циклу. Установлено, что бактерии филума Bacteroidetes играют важную роль в деградации и круговороте соединений углерода внутри мата (Hania Ben et al, 2017). Бактерии филума Bacteroides (классов *Cytophaga*, *Bacteroidia*, *Flavobacteriia*) процветают в различных морских средах, включая прибрежные и морские воды, донные осадки. Бактерии класса *Bacteroidia*, хорошо известные своей способностью деградировать полимерные соединения (Fernández-Gómez et al, 2013), были обнаружены в большом количестве и разнообразии в различных гиперсолёных матах (Farías et al, 2014; Wong et al, 2016).

Микроорганизмы, способные к брожению (*Spirochaetes* и *Clostridia*), в процессе ферментации сахаров и сбраживания аминокислот образовывали водород и карбоновые кислоты, являющиеся субстратами для сульфидогенов. Образующий сульфатредукторами и сероредукторами сероводород использовался обнаруженными нами представителями АФБ. Таким образом элементная сера и сульфат возвращались в цикл серы микробных матов Чокракских источников

В заключение отметим, что в данной работе впервые на современном молекулярном уровне проанализирован состав микробных матов солёных высокосульфидных Чокракских источников. Полученные данные показали, что исследованные микробные сообщества по своему составу сходны с микробными матами супралиторали морей и морских лагун (Bachar et al, 2007; Dorador et al, 2013; Martínez-Alonso et al, 2005; Nübel et al, 2001; Stolz, 1990; Горленко и др., 1985; Компанцева и др., 1989).

13 Микробные маты теплых высокоминерализованных источников Дагестана

13.1 Характеристика местообитания

Берикейские термальные источники (42.3338889 с.ш. 48.0961111 в.д.), существенно отличаются по ряду физико-химических параметров от других гидротерм Дагестана, прежде всего высоким содержанием солей в изливающейся воде. Промышленные запасы термальных вод Берикейского месторождения, вскрытые скважинами на площади Каякент, составляют 15 тыс. м³/сут, или 5.5 млн м³/год. Из них 1650 м³/сут, или 0.6 млн м³/год самопроизвольно выбрасываются на поверхность. Изливающиеся рассолы принадлежат к хлоридно-натриевому типу с общей минерализацией до 97 г/л. Они также содержат значительное количество ионов кальция, сульфата, бикарбоната и биогенных элементов (бром, йод, бор). Содержание сероводорода варьирует от 30 до 80 мг/л сероводорода. Температура изливающихся рассолов доходит до 60°C, а значение рН близко к нейтральному.

Исследованные Берикейские гидротермы мы разделили на две подгруппы (таблица 15). Первая подгруппа расположена в двухстах метрах от побережья Каспийского моря (номера точек 7, 8 и 9, 11). Это экстремально соленая система с минерализацией воды до 97 г/л. Ко второй подгруппе относятся источники (номера точек 12-16 и 19), находящиеся на мысе Башлы в сбросовом канале гиперсоленого озера Аджи. Вода канала характеризуется меньшей солёностью (48-57 г/л) и более низкими температурами.

В местах отбора проб солёность колебалась от 48 до 97 г/л, содержание сульфида находилось в пределах 27-40 мг/л, температура рассола варьировала от 27 до 51°C, рН 5.75-7.62. Окислительно-восстановительный потенциал воды во всех исследованных точках – отрицательный, ввиду присутствия сероводорода (-80 - -160 мВ). Кислород присутствовал в воде только в дневное время непосредственно над поверхностью мата и, очевидно, был продуктом кислородного фотосинтеза.

В точках 7 и 9 при низком значении окислительно-восстановительного потенциала воды, равном -85 мВ, значение E_h на поверхности мата было положительным и составляло соответственно +5 и +40 мВ. Обнаруженные матобразующие цианобактерии содержали фикобилиновые пигменты и осуществляли кислородный фотосинтез в присутствии сульфида. Содержание кислорода в верхней части мата варьировало от 0.4 до 1.8 мг/л.

Для системы Берикейских источников в целом был характерен высокий уровень первичной продукции микробных матов, до 53.8 мкг С/(см² час). За сутки это составляло 4.3 г С/(м² сут). Эта величина хорошо коррелирует с цифрами, приводимыми для сходных систем цианобактериальных матов Солар Лэйк (Синай) – 1-5 г С/(м² сут) (Krumbein et al, 1977). На выходе источников концентрация сероводорода повышена, и значительная часть органического

вещества (около 20%) образуется за счёт аноксигенного фотосинтеза. Особо отметим, что в Берикейских источниках преобладают виды цианобактерий, не способные к аноксигенному фотосинтезу. Тем не менее, при микроскопировании видно, что элементная сера откладывается на поверхности трихомов цианобактерий (рис. 1а). Окисление сероводорода, видимо, происходит химическим путём за счёт кислорода, продуцированного при фотосинтезе цианобактериями (Castenholz, 1973).

13.2 Основные группы фототрофных бактерий, выявленные с помощью микроскопии

Температура источников на выходе составляла 57-60°C, однако обрастания фототрофов наблюдались только при температурах ниже 54°C. Основными матобразующими микроорганизмами были нитчатые цианобактерии. Предварительную диагностику цианобактерий проводили на основании их морфологических особенностей. Количество видов цианобактерий в микробных матах первой подгруппы гидротерм было ограничено, очевидно, из-за высокой солёности изливающегося рассола. Были обнаружены два вида *Phormidium* и один вид морфологически сходных с *Synechosystis* одноклеточных сине-зелёных водорослей (рис. 35).

Посев на селективные среды показал, что мезотермальные условия, повышенная солёность, присутствие сульфида и нейтральный pH обуславливали развитие в матах Берикейских источников морских и умеренно галофильных АФБ, участвующих в окислении сульфида: зеленых серобактерий *Prosthecochloris* sp. и пурпурных серобактерий рода *Ectothiorhodospira* sp., *Chromatium*-подобных бактерий, а также несерных пурпурных бактерий *Rhodovulum* sp. (таблица 15). Кроме того, в выросших культурах и при прямом микроскопировании природного материала обнаружены бактерии, морфологически сходные с зелёными АНФБ рода *Chloroflexus* (рис 35б). Численность пурпурных и зеленых АФБ достигала около 10^4 - 10^5 клеток на мл (таблица 15).

Таблица 15. Общая информация о сульфидных Бирекейских источниках.

Параметры	I подгруппа				II подгруппа					
	7*	8	9	11	12	13	14	15	16	19
Температура, °С	49	44.5	50	40.5	40.5	38.5	51	34	44	28
H ₂ S, мг/л	39.4	37.7	5.78	27.9	18.7	15.6	40.8	37.4	27.2	НО
Соленость, г/л	97	97	97	97	57	57	68	68	78	48
O ₂ , мг/л	1.08	1.82	1.66	0.41	0	НО	0	0.83	1.2	НО
pH	6.15	6.1	5.75	6.35	7.05	7.4	6.7	7.62	6.7	6.2
Eh воды, мВ	-85	-100	-60	-160	-80	-5	-20	+60	-60	НО
HCO ₃ ⁻ , мг/л	732	640.5	561	634	2110	1961	2066	2097	2268	НО
S/SO ₃ ²⁻ , мг/л	260	290	400	310	160	160	180	200	190	НО
Хлорофилл <i>a</i> , мкг/см ²	НО**	НО	НО	НО	275	83	89	НО	335	НО
Бактериохлорофилл <i>c</i> , мкг/см ²	НО	НО	НО	НО	88	28	17	НО	38	НО
Бактериохлорофилл <i>a</i> , мкг/см ²	НО	НО	НО	НО	94	94	94	НО	94	НО
Общая продукция фотосинтеза, мкг/см ² ·час	4.7	4.8	10.8	5.6	23	12.2	7.8	НО	53.8	НО
% бактериального фотосинтеза	61.7	100	17.6	14.3	24.3	0	17.9	НО	0	НО
*** Результаты посевов										
<i>Rhodovulum</i> sp.	-	3	+	-	5	7	-	5	6	6
<i>Ectothiorhodospira</i> sp.	4	3	3	4	5	7	5	5	5	
<i>Marichromatium</i> sp.	-	-	+	-	-	-	-			5
<i>Prosthecochloris</i> sp.	5	4	-	-	4	5	2	5	5	6
<i>Chloroflexus</i> sp.			+						+	

Примечание: * - номера образцов, ** - НО – не определяли, *** - цифрами обозначены предельные разведения, в которых обнаружен рост, «-» – отсутствие, «+» – присутствие бактерий в пробе.

Видовой состав сообщества фототрофов в источниках второй подгруппы был расширен вследствие понижения общей минерализации (таблица 15) по сравнению с источниками первой подгруппы. Разнообразие фототрофов расширялось, прежде всего, за счёт дополнительных видов цианобактерий. При микроскопировании обнаружено 3 вида нитчатых цианобактерий родов *Phormidium*, *Oscillatoria* и *Spirulina* (рис. 35б). Кроме того, в мате встречались отдельные нити бесцветных серобактерий *Beggiatoa* sp.

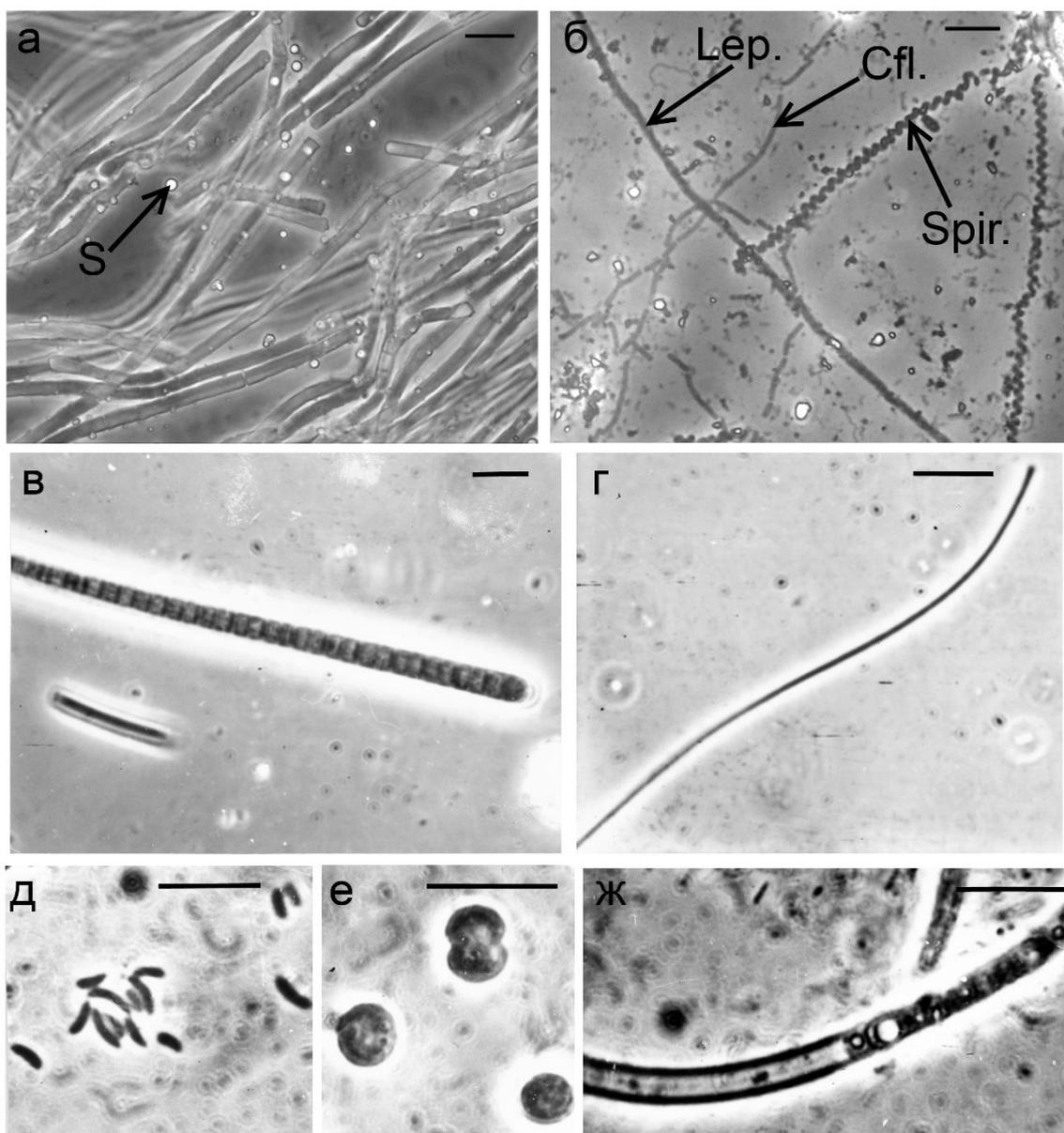


Рисунок 35. Морфотипы фототрофных бактерий в природных образцах: а – *Phormidium* sp., б – *Leptolyngbya* sp. (Lep.), *Chloroflexus*-подобные микроорганизмы (Cfl.), *Spirulina* sp. (Spir.), в – *Phormidium* sp., г – *Chloroflexus*-подобные микроорганизмы, д – *Ectothiorhodospira* sp., е – *Synechocystis* sp., ж – *Phormidium* sp. Масштаб 10 мкм.

Видовой состав АФБ в альгобактериальных матах был такой же, как и в источниках первой подгруппы. В обрастании встречались ПСБ *Ectothiorhodospira* sp., морфотип *Chromatium* sp., НПБ *Rhodovulum* sp., ЗСБ *Prosthecochloris* sp. и АНФБ *Chloroflexus* sp. (таблица 15). Численность пурпурных и зеленых АФБ в источниках второй подгруппы была выше, чем в первой подгруппе, до 10^7 клеток в 1 мл (таблица 15). Ограничение развития фототрофов высокой температурой и солёностью было обнаружено и здесь. Формирование мата наблюдали при температуре ниже 54°C .

13.3 Характеристика и таксономическое положение выделенных культур АФБ

Из типичных для Берикейских источников микробных матов были выделены: зеленая серобактерия – штамм Dg19, пурпурные серобактерии – штаммы Dg9-1 и Dg9-2, и несерная пурпурная бактерия – штамм Dg9-4.

Штамм Dg19. Морфология клеток бактерий штамма Dg19 типична для бактерий рода *Prosthecochloris* (рис. 36). Округлые клетки размером около 1 мкм имели короткие выросты – простеки, газовые вакуоли отсутствовали. Капли серы откладывались вне клеток в процессе фототрофного окисления сульфида. Суспензия клеток молодой культуры Dg19 имела ярко-зеленый цвет. Спектр поглощения *in vivo* имеет максимумы при 334, (397), 418, 516, 561, 617, 674, 755 нм. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии показывал максимумы при (397), 414, (431), 492, 549, 614, 666 нм. Преобладающим пигментом у штамма Dg19 является бактериохлорофилл *c*, имеющий на спектрах *in vivo* основной пик в длинноволновой области при 755 нм, а в ацетон-метанольном экстракте – при 666 нм (рис. 36).

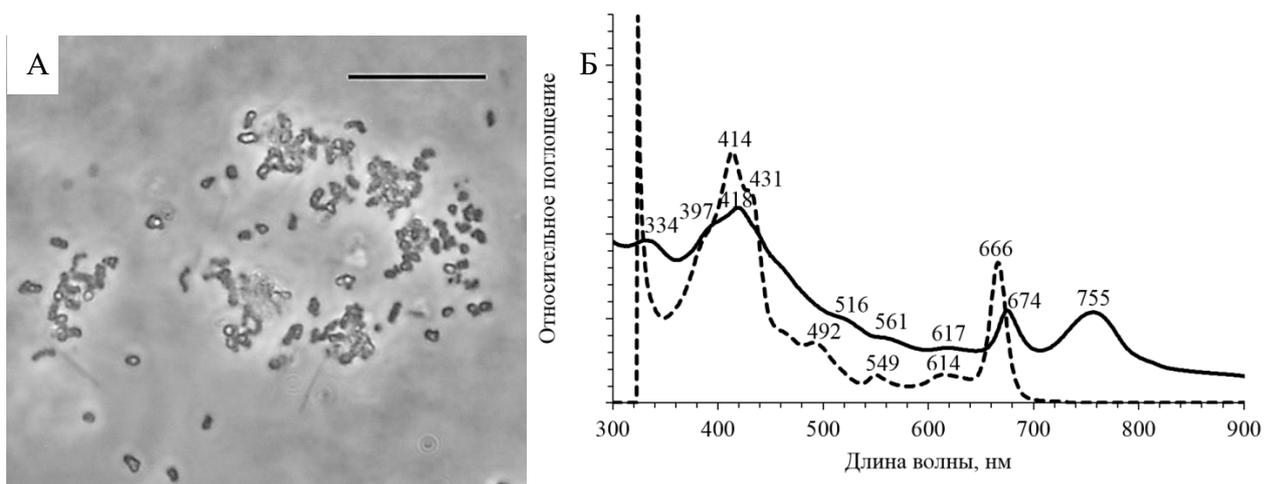


Рисунок 36. Физиологические особенности штамма Dg19. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) зеленой серной бактерии штамма *Prosthecochloris* sp. Dg19. Масштаб 10 мкм.

Таксономическая принадлежность штамма Dg19 была определена из накопительной культуры, не содержащей других АФБ. Бактерия относится к виду *Prosthecochloris indica* (этот вид не валидирован), с которым имеет 99% сходства (рис. 37).

Численность ЗСБ в Берикейских источниках возрастала при относительно низких солёностях. Все известные виды бактерий рода *Prosthecochloris* являются умеренными галофилами, обычно с пределом развития около 60 г/л (Gorlenko, 1988).

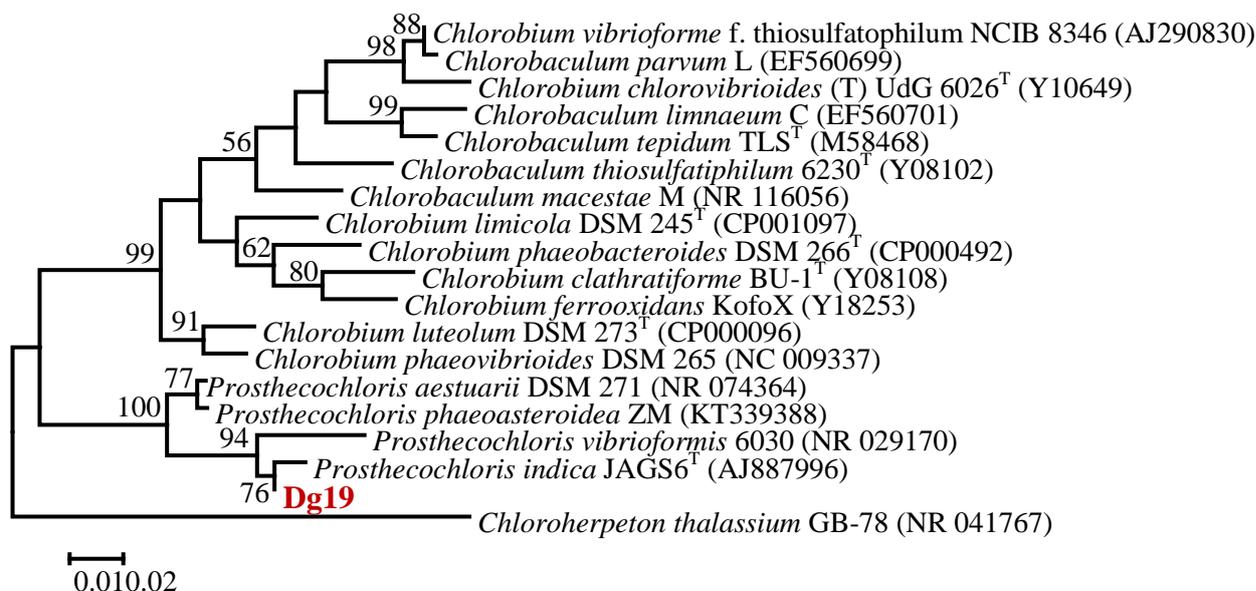


Рисунок 37. Дендрограмма филогенетического сходства последовательностей генов 16S рРНК нового штамма *Prosthecochloris* sp. Dg19 и изученных представителей ЗСБ. Дендрограмма построена с использованием алгоритма максимального подобия (Maximum Likelihood) с применением модели Тамуры-Нея. Достоверность ветвления рассчитана по результатам анализа 500 альтернативных дендрограмм. Длина сравниваемых последовательностей составляла 1192 пар нуклеотидов.

Среди АФБ, особенно во второй подгруппе источников, доминировали ПСБ рода *Ectothiorhodospira*, для которых характерно отложение серы вне клеток. Было выделено два фенотипически близких вида бактерий Dg-16 (Kuntikov, Gorlenko, 1998) и Dg9-1.

Штамм Dg9-1. Клетки штамма Dg9-1 представляли собой слабо-извитые спиралилы размером 1.2 x 3 мкм (рис. 38). Бактерии использовали на свету сульфид или тиосульфат, капли серы откладывали вне клеток. Культура штамма Dg9-1 имела красно-коричневый цвет.

Спектр поглощения живых клеток (*in vivo*) штамма Dg9-1 свидетельствовал о присутствии пигментов фотосинтеза бхл *a* с максимумами при 378, 591, 797, 860, (879) нм и каротиноидов спириллоксантиновой серии – 398, 493, 527 нм.

Штамм Dg9-1 был выделен в чистую культуру и идентифицирован нами как новый штамм вида *Ectothiorhodospira marismortui* с уровнем сходства последовательностей гена 16S рРНК 97%. Этот вид выделен из соленого серного источника на берегу озера Солар Лейк (Синайский полуостров) (Oren et al, 1989). В результате детальных молекулярно-генетических исследований *Ectothiorhodospira marismortui* был признан штаммом ранее описанного Пельшем вида *Ectothiorhodospira mobilis* (Imhoff, Süling, 1996; Пельш, 1937).

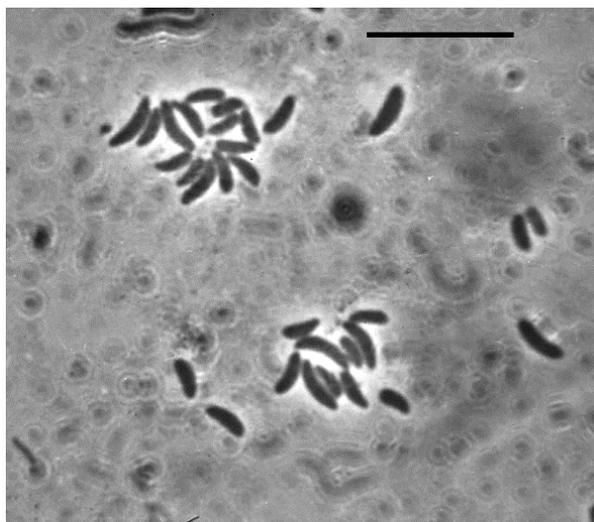


Рисунок 38. Морфология пурпурной серной бактерии штамма *Ectothiorhodospira* sp. Dg9-1. Масштаб 10 мкм.

Штамм Dg9-2. В менее соленых матах первой и второй подгрупп источников обнаружены пурпурные бактерии семейства *Chromatiaceae*. В матах источника первой подгруппы при солености 97 г/л была изолирована и идентифицирована пурпурная серобактерия *Marichromatium gracile* (рис. 39). ПСБ рода *Marichromatium* могут расти при солености до 130 г/л при температуре до 35°C (Imhoff, 2001). Бактерия *Marichromatium* Dg9-2 имела клетки размером 1.2 x 2.5 мкм, окисляла сульфид, откладывая серу внутриклеточно (рис. 40). Спектр поглощения живых клеток (*in vivo*) штамма Dg9-2 свидетельствовал о присутствии пигментов фотосинтеза бхл *a* с максимумами при 372, 591, 801, 852, (889) нм и каротиноидов серии спириллоксантина с максимумами 455, 485, 516, (555) нм. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии показывал максимумы поглощения при 361, (385), 469, 488, 526, 597, 689, 770 нм.

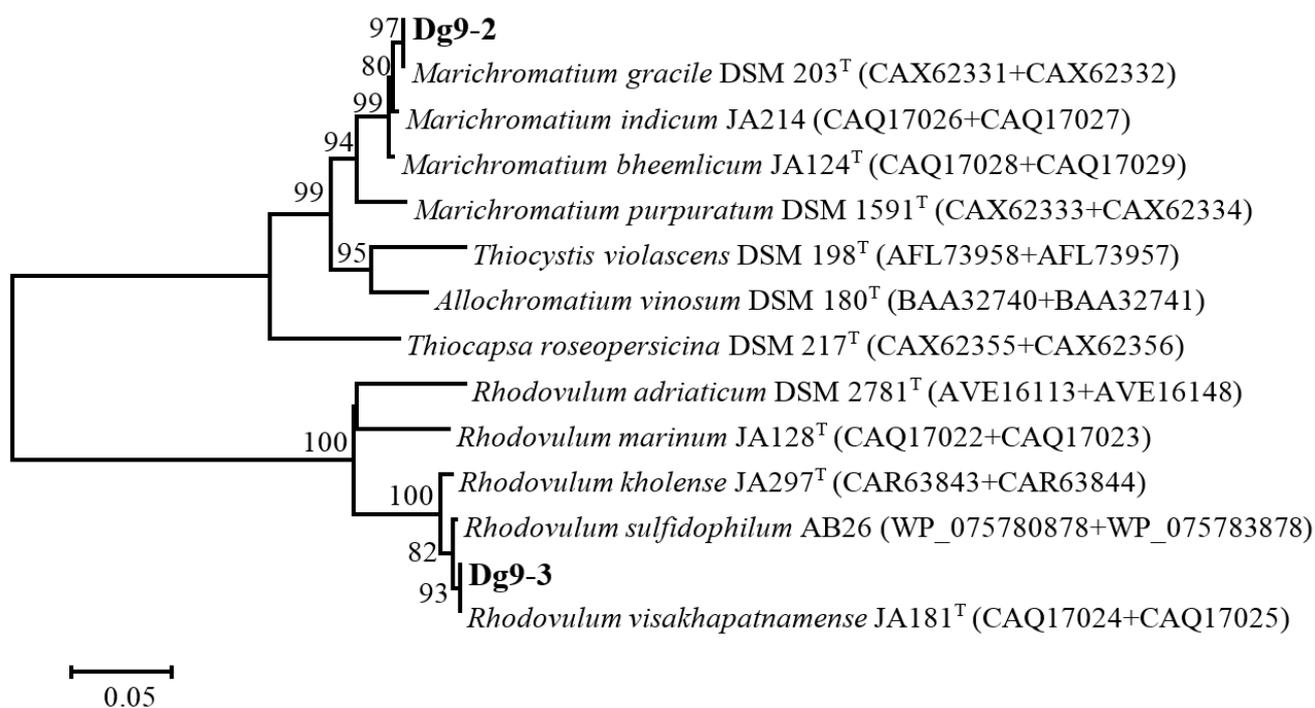


Рисунок 39. Дендрограмма филогенетического сходства последовательностей генов *pufLM* новых штаммов *Marichromatium* sp. Dg9-2 и *Rhodovulum* sp. Dg9-3 с другими представителями пурпурных бактерий. Достоверность ветвления рассчитана по результатам анализа 500 альтернативных дендрограмм. Длина сравниваемых последовательностей составляла 430 аминокислот.

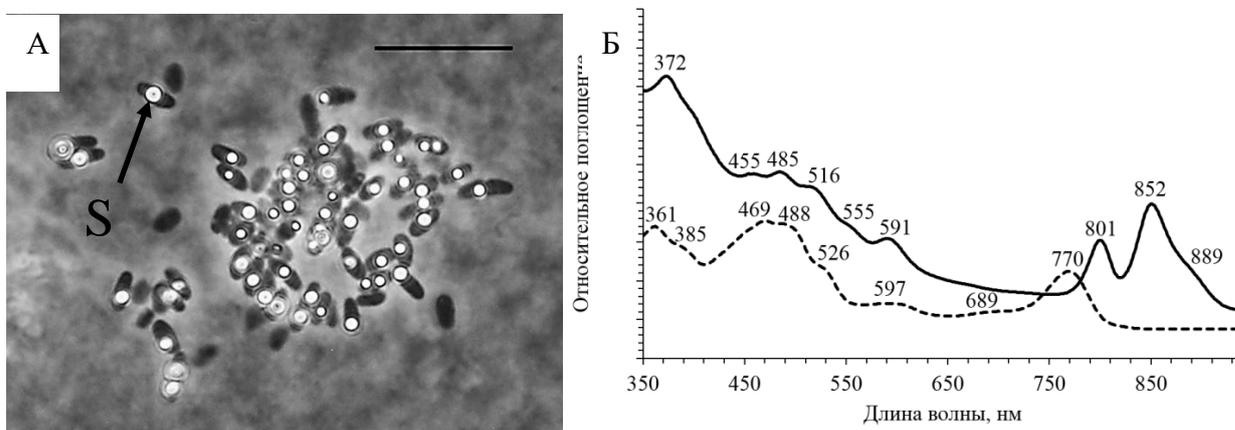


Рисунок 40. Физиологические особенности штамма Dg9-2. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанолового экстракта (пунктирная линия) пурпурной серной бактерии штамма *Marichromatium* sp. Dg9-2. Масштаб 10 мкм. Условные обозначения: S – внутриклеточные включения элементарной серы.

Штамм Dg9-3. В микробных матах мезотермальных Берикейских источников в значительном количестве присутствовали несерные пурпурные бактерии, идентифицированные как *Rhodovulum* штамм Dg9-3 (рис. 39). По данным анализа гена, кодирующего фотосинтезирующий комплекс *pufLM*, эта бактерия близка к видам *Rhodovulum*

visakhapatnamense и *Rhodovulum sulfidophilum*. *Rhodovulum* штамм Dg9-3, а по физиологии – к *Rhodovulum sulfidophilum*. Клетки бактерии – короткие палочки (1.2 x 1.8 мкм) иногда образующие характерные звездообразные микроколонии (рис. 41). Основной пигмент – бактериохлорофилл *a*, а также каротиноид сфероиден (альтернативная спириллоксантиновая серия). Спектр поглощения живых клеток (*in vivo*) штамма Dg9-3 свидетельствует о присутствии пигментов фотосинтеза бхл *a* с максимумами при (375), 418, 592, 803, 856, 888 нм и каротиноидов с максимумами (456), 487, 524 нм. Спектр поглощения ацетон-метанольного экстракта клеток бактерии имел максимумы поглощения при 358, (387), (435), 455, 485, 579, 700, 770 нм. Бактерия является умеренным галофилом, в процессе фотосинтеза окисляет сульфид, откладывая серу вне клеток. По этому свойству выделенные несерные пурпурные бактерии конкурируют с пурпурными серобактериями. В наших экспериментах они хорошо росли при концентрации сульфида 500 мг/л. В то же время бактерии рода *Rhodovulum* способны к фотогетеротрофному росту, используя широкий спектр органических соединений (Imhoff, 2001).

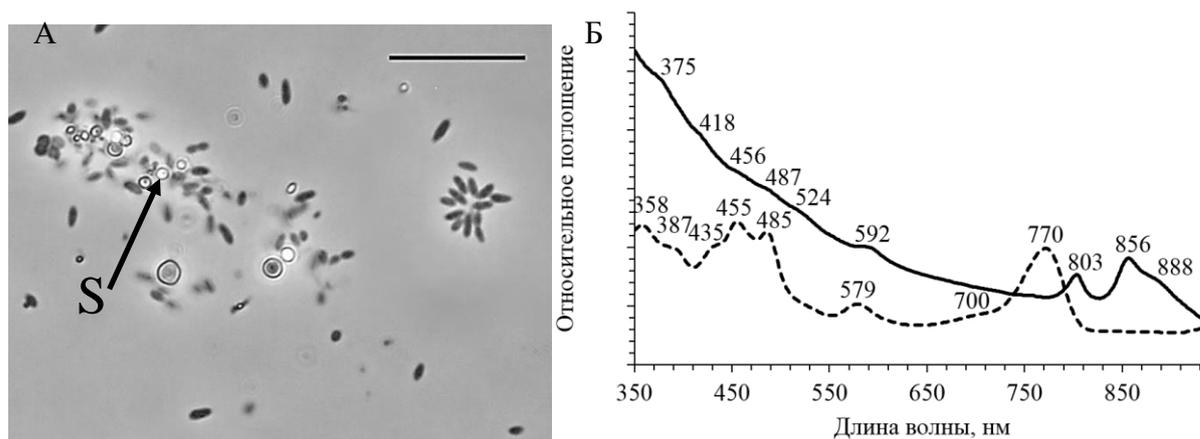


Рисунок 41. Физиологические особенности штамма Dg9-3. А - Морфология и Б - спектры поглощения целых клеток (сплошная линия) и ацетон-метанольного экстракта (пунктирная линия) пурпурной несерной бактерии штамма *Rhodovulum* sp. Dg9-3. Масштаб 10 мкм. Условные обозначения: S – внеклеточные включения элементарной серы.

Следует отметить присутствие в микробных матах АНФБ, которые не удалось идентифицировать до вида. Однако сам факт нахождения АНФБ при высоких соленостях до 95 г/л предполагает их принадлежность к известному экстремальному (в отношении солености) роду *Chlorothrix* (Klappenbach, Pierson, 2004).

13.4 Особенности состава исследованных алкалофильных микробных матов и присутствие новых АНФБ

В пресных гидротермах граница распространения цианобактериального мата находится около 70°C. Это предельная температура нахождения как оксигенных, так и аноксигенных фототрофов. В высокоминерализованных термальных источниках, как нейтральных, так и щелочных, развития истинно термофильных фототрофных бактерий не происходит, а появление фототрофного мата начинается ниже 47-54°C. Примерами служат исследованные нами нейтральные Берикейские источники (Дагестан, Северный Кавказ), гиперсоленые гидротермы побережья Мертвого моря (Израиль), теплое озеро Вашингтон (США) и щелочные соленые источники на острове Паоха в центре содового озера Моно Лейк (США) (Oren et al, 1989; Thiel et al, 2017; Горленко, 2007). В микробных матах этих соленоводных гидротерм термофильные фототрофные сообщества не были обнаружены.

Однако некоторые соленоводные АФБ проявляют толерантность к повышенным температурам. В литературе описаны случаи развития *Prosthecochloris* sp., в солёном озере Солар Лейк, вода которого прогревается до 60°C (Cohen et al, 1977). Выделенный из теплого соленого озера Вашингтон штамм *Prosthecochloris* sp. имел пределы развития до 45°C (Thiel et al, 2017). Известны умеренно термофильные формы *Halorhodospira*, обитающие в гиперсоленых и содовых водоёмах и имеющие температурный оптимум 37-42°C (Imhoff, 2001; Imhoff, Truper, 1977). Приведенные примеры не противоречат парадигме, что среди соленоводных АФБ нет истинно термофильных микроорганизмов.

В гиперсоленых Берикейских источниках были обнаружены галофильные формы АФБ: зелёные бактерии рода *Prosthecochloris*, пурпурные серобактерии *Ectothiorhodospira* sp., *Marichromatium* sp., *Rhodovulum* sp. и неизвестные мезофильные Chloroflexi. Примечательно, что эти виды находились в функционально активном состоянии в микробном мате при повышенных температурах до 54°C.

Соленость среды влияет на температурный оптимум развития АФБ (Kuntikov, Gorlenko, 1998). Ранее было установлено на примере штаммов *Prosthecochloris* sp. Dg19 и *Ectothiorhodospira* sp. Dg16, что при более высокой солености температурный оптимум АФБ смещается в более высокую область. Так, ЗСБ при солености 20 г/л лучше развивались при температуре 30°C, а при солености 80 г/л штамм Dg19 развивался слабо, оптимум развития имел при 35°C. Штамм *Ectothiorhodospira* sp. Dg16 хорошо развивался в широком интервале солености (от 20 до 120 г/л), при солености 80 г/л имел температурный оптимум 40-42°C. Нами показано, что штамм *Ectothiorhodospira* sp. Dg9-1 обладал теми же физиологическими характеристиками, что и штамм Dg16.

Таким образом, исследованные галофильные штаммы ЗСБ и преобладающие виды ПСБ являются галотолерантами и приспособлены к жизни в гиперсоленых Берикейских источниках в мезотермальных условиях с нейтральным рН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе выполнения диссертационной работы были исследованы условия формирования микробных матов и биопленок в мелководных соленоводных водоемах различного происхождения: в содовом озере Киран, приполярных озерах лагунного типа Кандалакшского залива Белого моря, в холодных и мезотермальных сульфид-содержащих источниках Крыма и Дагестана.

Установлено, что видовой состав АФБ исследованных микробных сообществ зависел от типа водоема (морские лагуны и солевые марши, холодные и теплые источники). Все типы бентосных сообществ, микробные маты и биопленки, относятся к категории «сульфурета», что подразумевает существование компонентов сообщества в сульфидсодержащих средах и участие в круговороте серы. С использованием высокопроизводительного секвенирования и других методов молекулярной идентификации был проанализирован таксономический состав микробных сообществ. Ключевыми факторами, влияющими на биоразнообразие фототрофных сообществ, являются рН среды, общая минерализация, присутствие сульфида и его концентрация.

В сапропелевом содовом озере Киран (минерализация 35 г/л, рН 9.2-9.3) ключевую экологическую роль играли карбонатный тип минерализации и стабильный щелочной рН. Сформированные на поверхности оседающего планктона микробные маты в озере Киран играли заметную роль в образовании сапропеля. Преобладающие в озере виды фототрофных бактерий встречаются только в содовых озерах. Все АФБ приспособлены к жизни в присутствии сульфида. В микробных матах определены галоалкалофильные и галотолерантные виды цианобактерий, пурпурных серных и несерных бактерий и аэробных аноксигенных фототрофов. Зеленые серобактерии, как и в других содовых озерах, отсутствовали. Впервые в составе матов содового озера обнаружено массовое развитие алкалофильной АНФБ, определенной как новый род и новый вид '*Ca. Viridilinea mediisalina*'. По представлениям Г.А. Заварзина эпиконтинентальные содовые озера, подобные озеру Киран, являлись особыми центрами формирования микробного разнообразия.

Микробные маты и биопленки солевых маршей и литоральных зон озер, имевших связь с Кандалакшским заливом Белого моря, содержали умеренно галофильные и галотолерантные виды АФБ. Это можно объяснить относительно невысокой минерализацией вод Кандалакшского залива и отшнурованных лагун и озер. Приполярные бентосные сообщества имеют короткий период вегетации и подвержены стрессовым воздействиям низких температур и замораживанию. Между тем, обнаруженные виды АФБ в своем большинстве являются мезофилами. Можно предположить, что их устойчивость к промерзанию мелководья в составе

матов и биопленок осуществляется за счет обильных капсул, слизистых чехлов отдельных бактерий и слизистого матрикса, объединяющего сообщество в целом. Комплекс условий в литорали Кандалакшского залива и связанных с ним озер и солевых маршей приближается к состоянию океана среднего Протерозоя в постледниковый период 2.4 млрд лет назад. Следует отметить полное отсутствие пурпурных серобактерий семейства *Ectothiorhodospiraceae*, часто встречающихся в южных и средних широтах. В результате анализа полученных нами и литературных данных, были отмечены космополитные для данного региона виды пурпурных серобактерий (*Chromatium* sp., *Thiocapsa rosea*, *Thiocapsa marina*, *Thiorhodovibrio* sp.). Нами установлено, АНФБ являются постоянным компонентом беломорских бентосных сообществ. По данным высокопроизводительного секвенирования обнаруженные АНФБ принадлежат к новому роду и новым видам.

В литературе имеется мало сведений о видовом составе микробных матов соленых сульфидных источников. В то же время, благодаря постоянному потоку в источниках, формируются стабильные характерные сообщества, состав которых инициируется конкретными физико-химическими параметрами. Нами установлено, что микробные маты соленых источников побережья озера Чокрак и Берикейских источников по составу идентичны микробным матам лагун морского происхождения. В них обнаружены галофильные виды пурпурных бактерий, в том числе экстремально галофильные виды. Умеренно галофильные зеленые серобактерии преобладали в источниках с высоким содержанием сульфида. Как в холодных, так и теплых источниках в значительном количестве присутствовали ЗСБ рода *Prosthecochloris*, который широко распространен в водоемах морского происхождения. Установлен солевой предел развития для вида *Prosthecochloris indica* и его зависимость от температуры воды источника. В природных образцах (при температуре 44-50°C) из Берикейских источников с соленостью 78-97 г/л обнаружено присутствие галофильных АНФБ.

Данные высокопроизводительного секвенирования определили присутствие в Чокракских источниках двух АНФБ, одна из которых находилась в кластере с экстремально галофильной нитчатой зеленой бактерией '*Ca. Chlorothrix halophila*'. Этот микроорганизм нам не удалось выделить в культуру. Выделенная культура АНФБ из Чокракского холодного источника с умеренной соленостью идентифицирована нами как новый вид рода *Viridilinea* – '*Ca. Viridilinea halotolerans*'. На основании этого можно сделать вывод об эволюционной неоднородности представителей рода *Viridilinea*. В него входят алкалофильные бактерии, обитающие в содовых озерах, и талассофильные, живущие в хлоридно-натриевых водоемах с рН близким к нейтральному значению.

Таким образом, наши исследования расширили представления о биоразнообразии не только АНФБ, но и определили особенности микробных сообществ соленых водоемов разного

типа, а также затронули вопросы эволюции фототрофных сообществ на примере существующих в настоящее время солоноводных экосистем.

ВЫВОДЫ

1. Впервые, с использованием молекулярных методов идентификации, исследован таксономический состав бентосных фототрофных сообществ содового озера Киран (Восточная Сибирь), солевых маршей и отшнурованных от Белого моря озер и двух типов мезотермальных соленых источников. Установлено, что аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии (АНФБ) являются типичным компонентом бентосных фототрофных сообществ соленоводных водоемов с признаками «сульфурета» и занимают экологическую нишу строго анаэробных сульфидофильных фототрофов, конкурируя с пурпурными и зелеными серобактериями.

2. АФБ адаптированы к комплексу условий в конкретных экосистемах: в содовом озере Киран в микробных матах преобладают алкалогаллофильные виды, в солевых маршах и литорали озер Кандалакшского залива Белого моря доминируют нейтрофильные АФБ. А микробные маты холодных и мезотермальных соленых серных источников по видовому составу АФБ близки к фототрофным сообществам, существующим в морских или гиперсоленых лагунах.

3. Исследование новых местообитаний привело к обнаружению новых АНФБ. Из микробных матов содового озера Киран и соленого Чокракского источника выделены и описаны два новых вида нитчатых бактерий филума Chloroflexi: ‘*Candidatus Viridilinea mediisalina*’ и ‘*Candidatus Viridilinea halotolerans*’. АНФБ нового рода ‘*Viridilinea*’ являются облигатными фототрофами, анаэробами, сульфидофилами, имеют бактериохлорофиллы *a*, *c*, *d* и каротиноидные пигменты. В него входят как алкалофильные виды, обитающие в содовых озерах, так и талассофильные, живущие в хлоридно-натриевых водоемах с рН близким к нейтральному значению.

4. На основании результатов полногеномного секвенирования выделенных АНФБ у новых видов обнаружены ферменты 3-гидроксипропионатного цикла автотрофной фиксации углекислоты и *nifH* ген, участвующий в фиксации азота. При этом у алкалофильного вида ‘*Candidatus Viridilinea mediisalina*’, в отличие от ‘*Candidatus Viridilinea halotolerans*’, не обнаружен фермент сульфид-хинон-оксидоредуктаза, осуществляющий окисление сульфида.

5. Проведенные исследования природных образцов и выделенных культур филума Chloroflexi расширили представления об экологии и биоразнообразии АНФБ в микробных матах и биопленках соленых водоемов разного типа.

СОКРАЩЕНИЯ И АББРЕВИАТУРЫ

ЛН – light-harvesting, англ. светособирающий

OTU – operational taxonomic unit, англ. операционная таксономическая единица

ААФ – аэробные аноксигенные фототрофные бактерии

АНФБ – аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии

АФБ – аноксигенные фототрофные бактерии

Бхл – бактериохлорофилл

ЗСБ – зеленые серные бактерии

ММ – микробный мат

НПБ – несерные пурпурные бактерии

ОКФ – общее количество фототрофов

ПСБ – пурпурные серные бактерии

ПЦР – полимеразная цепная реакция

рРНК – рибосомальная рибонуклеиновая кислота

РЦ – реакционный центр

ФС – фотосистема

ЦТК – цикл трикарбоновых кислот

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альбов С.В. О геохимической обстановке в Керченско-Таманской области и близлежащих площадях // Доклады Академии Наук СССР. - 1973. - Т. 208. - № 1. - с.184–187.
2. Горленко В.М. Аноксигенные фототрофные бактерии содовых озер // Труды Института микробиологии имени С.Н. Виноградского. Вып. XIV. Алкалофильные микробные сообщества. / под ред. В.Ф. Гальченко. Москва: Наука - 2007. - с.225–257.
3. Горленко В.М. Характеристика нитчатых фототрофных бактерий из пресных озер // Микробиология. - 1975. - Т. 44. - № 4. - с.756–758.
4. Горленко В.М., Коротков С.А. Морфологические и физиологические особенности новой нитчатой скользящей зеленой бактерии *Oscillochloris trichoides* nov. comb. // Изв. АН СССР Сер. Биол. - 1979. - Т. 6. - с.848–856.
5. Горленко В.М., Пивоварова Т.А. О принадлежности сине-зеленой водоросли *Oscillatoria coerulea* Gicklhorn, 1921 к новому роду хлоробактерий *Oscillochloris* nov. gen. // Изв. АН СССР Сер. Биол. - 1977. - № 3. - с.396–409.
6. Горленко В.М., Пучков А.Н., Демчев В.В. Фотосинтезирующие микроорганизмы Супралиторальных ванн Белого моря // Биологические науки. - 1985. - Т. 5. - с.66–72.
7. Дубинина Г.А., Горленко В.М. Новые нитчатые фотосинтезирующие зеленые бактерии с газовыми вакуолями // Микробиология. - 1975. - Т. 44. - № 3. - с.511–518.
8. Егорова Д.В., Ананьина Л.Н., Козырева Л.П., Захарюк А.Г., Плотникова Е.Г. Физико-Химические Свойства И Микробное Разнообразие Озера Соленое (Республика Бурятия) // Вестник Пермского Университета. Серия: Биология. - 2011. - Т. 1. - № 1. - с.55–59.
9. Калашников А.М., Гайсин В.А., Сухачева М.В., Намсараев Б.Б., Пантелеева А.Н., Нуянзина-Болдарева Е.Н., Кузнецов Б.Б., Горленко В.М. Аноксигенные Фототрофные Бактерии Микробных Сообществ Термального Источника Горячинск (Прибайкалье) // Микробиология. - 2014. - Т. 83. - № 4. - с.484–499.
10. Кеппен О.И. *Oscillochloris trichoides* - представитель аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий // Труды Института микробиологии имени С.Н. Виноградского. Вып. XV. Фотосинтезирующие микроорганизмы / под ред. В.Ф. Гальченко. Москва: Макс Пресс - 2010. - с.196–222.
11. Кеппен О.И., Баулина О.И., Лысенко А.М., Кондратьева Е.Н. Новая зелёная бактерия, относящаяся к семейству *Chloroflexaceae* // Микробиология. - 1993. - Т. 62. - № 2. - с.267–275.
12. Кеппен О.И., Лебедева Н.В., Трошина О.Ю., Родионов Ю.В. Нитрогеназная активность нитчатой фототрофной зеленой бактерии // Микробиология. - 1989. - Т. 58. - № 3. - с.520–521.
13. Клюкин А.А., Корженевский В.В. Крымское Приазовье: Краеведческий очерк-путеводитель / Симферополь: Бизнес-Информ - 2004. - 144 с.

14. Компанцева Е.И., Брянцева И.А., Комова А.В., Намсараев Б.Б. Структура фототрофных сообществ в содовых озерах Юго-восточного Забайкалья // Микробиология. - 2007. - Т. 76. - № 2. - с.243–252.
15. Компанцева Е.И., Пучкова Н.Н., Горленко В.М., Саввичев А.С. Фототрофные микроорганизмы в холодных высокосульфидных соленых источниках // Микробиология. - 1989. - Т. 58. - № 1. - с.127–132.
16. Компанцева Е.И., Сорокин Д.Ю., Горленко В.М., Намсараев Б.Б. Фототрофное сообщество соленого щелочного озера Хилганта (Юго-Восточное Забайкалье) // Микробиология. - 2005. - Т. 74. - № 3. - с.410–419.
17. Крамов В.М., Фоменков А.И., Матвиенко Н.И., Убиета Р.Х., Смолянинов В.В., Горленко В.М. Сайт-специфическая эндонуклеаза *SauB31* из *Chloroflexus aurantiacus* В3 // Биоорганическая химия. - 1987. - Т. 13. - № 6. - с.773–776.
18. Красильникова Е.Н., Кеппен О.И., Горленко В.М., Кондратьева Е.Н. Рост *Chloroflexus aurantiacus* на средах с разными органическими соединениями и пути их метаболизма // Микробиология. - 1986. - Т. 55. - № 3. - с.425–430.
19. Красильникова Е.Н., Кондратьева Е.Н. Рост *Chloroflexus aurantiacus* в анаэробных условиях в темноте и метаболизм органических субстратов // Микробиология. 1987. Т. 56. № 3. с. 357–361.
20. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов / под ред. Ю.И. Сорокин. / Москва: Наука - 1989. - 288 с.
21. Лунина О.Н., Саввичев А.С., Бабенко В.В., Болдырева Д.И., Колганова Т.В., Краснова Е.Д., Кокрятская Н.М., Веслополова Е.Ф., Воронов Д.А., Демиденко Н.А., Летарова М.А., Летаров А.В., Горленко В.М. Сезонные изменения структуры сообщества аноксигенных фототрофных бактерий меромиктического озера Трехцветное (Кандалакшский залив Белого моря) // Микробиология. - 2019. - Т. 88. - № 1. - с.100–115.
22. Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д., Хашинов В.В. Солоноватые и соленые озера Забайкалья: гидрохимия, биология // 2009. – 340 с.
23. Пельш А.Д. О фотосинтезирующих серобактериях восточного бассейна Сакского озера // Микробиология. - 1937. - Т. 6. - № 8. - с.1092–1100.
24. Пивоварова Т.А., Горленко В.М. Тонкое строение *Chloroflexus aurantiacus* var. *mesophilus* (nom. prof), выросших на свету в аэробных и анаэробных условиях // Микробиология. - 1977. - Т. 46. - № 2. - с.329–334.
25. Рай К. Использование термофильных зеленых бактерий рода *Chloroflexus* и сульфидогенов для очистки отходов от серных соединений / Москва: - 1995. - 1–51 с.
26. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод / Москва: Недра - 1970. - 488 с.
27. Саралов А.И. Адаптивность экстремофилов Archaea и Bacteria // Микробиология. - 2019. - Т. 88. - № 4. - с.377-400.

28. Ткачук В.Г., Толстихин Н.И. Минеральные воды южной части Восточной Сибири / Изд-во АН СССР - 1961. – 200 с.
29. Федоров В.Д. О методах изучения фитопланктона и его активности / Изд. Москов. Университета - 1979. - 168 с.
30. Фомичев М.М. Чокракские сероводородные источники // Труды лаборатории гидрогеологических проблем. Т. 1. Москва: Издательство Академии наук СССР - 1948. - с.221–232.
31. Цыренова Д.Д., Брянская А.В., Козырева Л.П., Намсараев З.Б., Намсараев Б.Б. Структура и особенности формирования галоалкалофильного сообщества озера Хилганта // Микробиология. - 2011. - Т. 80. - № 2. - с.251–257.
32. Abella C.A., Garcia-Gil L.J. Microbial ecology of planktonic filamentous phototrophic bacteria in holomictic freshwater lakes // The Dynamics and Use of Lacustrine Ecosystems: Springer - 1992. - P. 79–86.
33. Adams P.G., Cadby A.J., Robinson B., Tsukatani Y., Tank M., Wen J., Blankenship R.E., Bryant D.A., Hunter C.N. Comparison of the physical characteristics of chlorosomes from three different phyla of green phototrophic bacteria // Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg. - 2013. - Vol. 1827. - № 10. - p.1235–1244.
34. Alexander B., Andersen J., Cox R., Imhoff J. Phylogeny of green sulfur bacteria on the basis of gene sequences of 16S rRNA and of the Fenna-Matthews-Olson protein // Arch. Microbiol. - 2002. - Vol. 178. - № 2. - p.131–140.
35. Allwood A.C., Walter M.R., Kamber B.S., Marshall C.P., Burch I.W. Stromatolite reef from the Early Archaean era of Australia // Nature. - 2006. - Vol. 441. - № 7094. - p.714–718.
36. Amann R.I., Krumholz L., Stahl D.A. Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. // J. Bacteriol. - 1990. - Vol. 172. - № 2. - p.762–770.
37. Ames J. Photosynthesis. New Comprehensive Biochemistry, Vol 15. / Amsterdam: Elsevier - 1987. 354 p.
38. Andersson M., Holmberg H., Adlercreutz P. Evaluation of *Alcaligenes eutrophus* cells as an NADH regenerating catalyst in organic-aqueous two-phase system // Biotechnol. Bioeng. - 1998. - Vol. 57. - № 1. - p.79–86.
39. Ansedé J.H., Pellechia P.J., Yoch D.C. Metabolism of acrylate to β -hydroxypropionate and its role in dimethylsulfoniopropionate lyase induction by a salt marsh sediment bacterium, *Alcaligenes faecalis* M3A // Appl. Environ. Microbiol. - 1999. - Vol. 65. - № 11. - p.5075–5081.
40. Ansedé J.H., Pellechia P.J., Yoch D.C. Nuclear Magnetic Resonance Analysis of [1-¹³C] Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) and [1-¹³C] Acrylate Metabolism by a DMSP Lyase-Producing Marine Isolate of the α -Subclass of Proteobacteria // Appl. Environ. Microbiol. - 2001. - Vol. 67. - № 7. - p.3134–3139.
41. Arellano J.B., Bernt Melø T., Borrego C.M., Garcia-Gil J., Naqvi K.R. Nanosecond Laser Photolysis Studies of Chlorosomes and Artificial Aggregates Containing Bacteriochlorophyll *e*: Evidence for the Proximity of Carotenoids and Bacteriochlorophyll *a* in Chlorosomes from *Chlorobium phaeobacteroides* strain CL1401 // Photochem. Photobiol. - 2007. - Vol. 72. - № 5. - p.669–675.

42. Asao M., Madigan M.T. Taxonomy, phylogeny, and ecology of the heliobacteria // *Photosynth. Res.* - 2010. - Vol. 104. - № 2–3. - p.103–111.
43. Asao M., Pinkart H.C., Madigan M.T. Diversity of extremophilic purple phototrophic bacteria in Soap Lake, a Central Washington (USA) Soda Lake // *Environ. Microbiol.* - 2011. - Vol. 13. - № 8. - p.2146–2157.
44. Asao M., Takaichi S., Madigan M.T. Amino acid-assimilating phototrophic heliobacteria from soda lake environments: *Heliorestis acidaminivorans* sp. nov. and ‘*Candidatus Heliomonas lunata*’ // *Extremophiles.* - 2012. - Vol. 16. - № 4. - p.585–595.
45. Ashelford K.E., Chuzhanova N.A., Fry J.C., Jones A.J., Weightman A.J. At least 1 in 20 16S rRNA sequence records currently held in public repositories is estimated to contain substantial anomalies // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2005. - Vol. 71. - № 12. - p.7724–7736.
46. Auch A.F., Jan M. von, Klenk H.-P., Göker M. Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison // *Stand. Genomic Sci.* - 2010. - Vol. 2. - № 1. - p.117–134.
47. Baas-Becking L.G.M. Studies on the sulphur bacteria // *Ann. Bot.* - 1925. - Vol. 39. - № 3. - p.613–650.
48. Bachar A., Omoregie E., Wit R. De, Jonkers H.M. Diversity and function of *Chloroflexus*-like bacteria in a hypersaline microbial mat: Phylogenetic characterization and impact on aerobic respiration // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2007. - Vol. 73. - № 12. - p.3975–3983.
49. Béjà O., Suzuki M.T., Heidelberg J.F., Nelson W.C., Preston C.M., Hamada T., Eisen J.A., Fraser C.M., DeLong E.F. Unsuspected diversity among marine aerobic anoxygenic phototrophs // *Nature.* - 2002. - Vol. 415. - № 6872. - p.630–633.
50. Belila A., Abbas B., Fazaa I., Saidi N., Snoussi M., Hassen A., Muyzer G. Sulfur bacteria in wastewater stabilization ponds periodically affected by the «red-water» phenomenon // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* - 2013. - Vol. 97. - № 1. - p.379–394.
51. Bergman B., Gallon J.R., Rai A.N., Stal L.J. N₂ fixation by non-heterocystous cyanobacteria // *FEMS Microbiol. Rev.* - 1997. - Vol. 19. - № 3. - p.139–185.
52. Bingham A.H.A., Darbyshire J. Isolation of two restriction endonucleases from *Chloroflexus aurantiacus* (CaI, CauII) // *Gene.* - 1982. - Vol. 18. - p.87–91.
53. Blankenship R.E. Carbon metabolism // *Molecular Mechanisms of Photosynthesis.* - John Wiley & Sons. - 2014. - p.147–159.
54. Blankenship R.E., Feick R., Bruce B.D., Kirmaier C., Holten D., Fuller R.C. Primary photochemistry in the facultative green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // *J. Cell. Biochem.* - 1983. - Vol. 22. - № 4. - p.251–261.
55. Blankenship R.E., Matsuura K. Antenna complexes from green photosynthetic bacteria // *Light-harvesting antennas in photosynthesis: Springer* - 2003. - P. 195–217.

56. Blankenship R.E., Olson J.M., Miller M. Anoxygenic Photosynthetic Bacteria // Anoxygenic photosynthetic bacteria Advances in Photosynthesis and Respiration. / ed. by R.E. Blankenship, M.T. Madigan, C.E. Bauer. Dordrecht: Springer Netherlands - 1995a. - p. 399–435.
57. Blankenship R.E., Olson J.M., Miller M. Antenna Complexes from Green Photosynthetic Bacteria // Anoxygenic Photosynth. Bact. - 1995b. - Vol. 2. - p.399–435.
58. Boldareva E.N., Moskalenko A.A., Makhneva Z.K., Tourova T.P., Kolganova T. V., Gorlenko V.M. *Rubribacterium polymorphum* gen. nov., sp. nov., a novel alkaliphilic nonsulfur purple bacterium from an Eastern Siberian soda lake // Microbiology. - 2009. - Vol. 78. - № 6. - p.732–740.
59. Boomer S.M., Lodge D.P., Dutton B.E., Pierson B. Molecular Characterization of Novel Red Green Nonsulfur Bacteria from Five Distinct Hot Spring Communities in Yellowstone National Park // Appl. Environ. Microbiol. - 2002. - Vol. 68. - № 1. - p.346–355.
60. Boomer S.M., Pierson B.K., Austinhirst R., Castenholz R.W. Characterization of novel bacteriochlorophyll- *a* -containing red filaments from alkaline hot springs in Yellowstone National Park // Arch. Microbiol. - 2000. - Vol. 174. - № 3. - p.152–161.
61. Brock T.D. Thermophiles: general, molecular, and applied microbiology / John Wiley & Sons - 1986.
62. Brocks J.J., Summons R.E. Biomarkers for early life // Biogeochemistry. - 2003. - Vol. 8. - p.63–115.
63. Bryant D.A., Costas A.M.G., Maresca J.A., Chew A.G.M., Klatt C.G., Bateson M.M., Tallon L.J., Hostetler J., Nelson W.C., Heidelberg J.F., Ward D.M. *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*: An Aerobic Phototrophic Acidobacterium // Science. - 2007. - Vol. 317. - № 5837. - p.523–526.
64. Bryant D.A., Frigaard N.U. Prokaryotic photosynthesis and phototrophy illuminated // Trends Microbiol. - 2006. - Vol. 14. - № 11. - p.488–496.
65. Bryantseva I.A., Gaisin V.A., Gorlenko V.M. *Rhodobaculum claviforme* gen. nov., sp. nov., a new alkaliphilic nonsulfur purple bacterium // Microbiology. - 2015. - Vol. 84. - № 2. - p.247–255.
66. Bryantseva I.A., Tourova T.P., Kovaleva O.L., Kostrikina N.A., Gorlenko V.M. *Ectothiorhodospira magna* sp. nov., a new large alkaliphilic purple sulfur bacterium // Microbiology. - 2010. - Vol. 79. - № 6. - p.780–790.
67. Burganskaya E.I., Bryantseva I.A., Gaisin V.A., Grouzdev D.S., Rysina M.S., Barkhutova D.D., Baslerov R. V., Gorlenko V.M., Kuznetsov B.B. Benthic phototrophic community from Kiran soda lake, south-eastern Siberia // Extremophiles. - 2018. - Vol. 22. - № 2. - p.211–220.
68. Canfield DE, Rosing MT, Bjerrum C. Early anaerobic metabolisms // Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences. - 2006. - Vol. 361. - p.1819-1841.
69. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F.D., Costello E.K., Fierer N., Peña A.G., Goodrich J.K., Gordon J.I. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // Nat. Methods. - 2010. - Vol. 7. - № 5. - p.335–336.
70. Castenholz R.W. Class I:“Chloroflexi” // Bergey’s Man. Syst. Bacteriol. Springer, New York. - 2001. - p.427.

71. Castenholz R.W. Motility and taxes // The Biology of Cyanobacteria / ed. by N.G. Carr, B.A. Whitton. Los Angeles, CA: University of California Press - 1982. - p. 413–439.
72. Castenholz R.W. The green sulfur and nonsulfur bacteria of hot springs // Green Photosynthetic Bacteria: Springer - 1988. - p. 243–255.
73. Castenholz R.W. The Possible Photosynthetic Use of Sulfide By the Filamentous Phototrophic Bacteria of Hot Springs // Limnol. Oceanogr. - 1973. - Vol. 18. - № 6. - p.863–876.
74. Castenholz R.W., Pierson B.K. Ecology of thermophilic anoxygenic phototrophs // Anoxygenic photosynthetic bacteria: Springer - 1995. - p. 87–103.
75. Cavalier-Smith T. Deep phylogeny, ancestral groups and the four ages of life // Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci. - 2010. - Vol. 365. - № 1537. - p.111–132.
76. Chan M., Himes R.H., Akagi J.M. Fatty acid composition of thermophilic, mesophilic, and psychrophilic clostridia // J. Bacteriol. - 1971. - Vol. 106. - № 3. - p.876–881.
77. Cheong D.-Y., Hansen C.L. Feasibility of hydrogen production in thermophilic mixed fermentation by natural anaerobes // Bioresour. Technol. - 2007. - Vol. 98. - № 11. - p.2229–2239.
78. Chun J., Oren A., Ventosa A., Christensen H., Arahal D.R., Costa M.S., Rooney A.P., Yi H., Xu X., Meyer S. De, Trujillo M.E. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes // 2018. - Vol. 68. - p.461–466.
79. Cohen S.N., Chang A.C.Y., Boyer H.W., Helling R.B. Construction of Biologically Functional Bacterial Plasmids In Vitro // Proc. Natl. Acad. Sci. - 1973. - Vol. 70. - № 11. - p.3240–3244.
80. Cohen Y. Bioremediation of oil by marine microbial mats // Int. Microbiol. - 2002. - Vol. 5. - № 4. - p.189–193.
81. Cohen Y., Jorgensen B.B., Revsbech N.P., Poplawski R. Adaptation to hydrogen sulfide of oxygenic and anoxygenic photosynthesis among cyanobacteria // Appl. Environ. Microbiol. - 1986. - Vol. 51. - № 2. - p.398–407.
82. Cohen Y., Krumbein W.E., Shilo M. Solar Lake (Sinai). 2. Distribution of photosynthetic microorganisms and primary production // Limnol. Oceanogr. - 1977. - Vol. 22. - № 4. - p.609–620.
83. Cohen Y., Padan E., Shilo M. Sulfide-dependent anoxygenic photosynthesis in the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica* // Nature. - 1975. - Vol. 257. - № 3. - p.489–492.
84. Cohen-bazire G., Pfennig N., Kunizawa R., Kunisawa R. The fine structure of green bacteria // J. Cell Biol. - 1964. - Vol. 22. - p.207–225.
85. Collins A.M., Qian P., Tang Q., Bocian D.F., Hunter C.N., Blankenship R.E. Light-harvesting antenna system from the phototrophic bacterium *Roseiflexus castenholzii* // Biochemistry. - 2010. - Vol. 49. - № 35. - p.7524–7531.
86. Costas A.M.G., Tsukatani Y., Rijpstra W.I.C., Schouten S., Welander P. V., Summons R.E., Bryant D.A. Identification of the bacteriochlorophylls, carotenoids, quinones, lipids, and hopanoids of «*Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*» // J. Bacteriol. - 2012. - Vol. 194. - № 5. - p.1158–1168.

87. D'amelio E.D., Cohen Y., Marais D.J. Des. Association of a new type of gliding, filamentous, purple phototrophic bacterium inside bundles of *Microcoleus chthonoplastes* in hypersaline cyanobacterial mats // Arch. Microbiol. - 1987. - Vol. 147. - № 3. - p.213–220.
88. Dorador C., Vila I., Witzel K.-P., Imhoff J.F. Bacterial and archaeal diversity in high altitude wetlands of the Chilean Altiplano // Fundam. Appl. Limnol. / Arch. für Hydrobiol. - 2013. - Vol. 182. - № 2. - p.135–159.
89. Dorssen R.J. van, Gerola P.D., Olson J.M., Amesz J. Optical and structural properties of chlorosomes of the photosynthetic green sulfur bacterium *Chlorobium limicola* // Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Bioenergetics. - 1986. - Vol. 848. - № 1. - p.77–82.
90. Driessche G. van, Hu W., Werken G. Van De, Selvaraj F., Mcmanus J.D., Blankenship R.E., Beeumen J.J. Van. Auracyanin A from the thermophilic green gliding photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus* represents an unusual class of small blue copper proteins // Protein Sci. - 1999. - Vol. 8. - № 5. - p.947–957.
91. Eberly J.O., Ely R.L. Thermotolerant hydrogenases: Biological diversity, properties, and biotechnological applications // Crit. Rev. Microbiol. - 2008. - Vol. 34. - № 3–4. - p.117–130.
92. Ecology of Cyanobacteria II / ed. by B.A. Whitton. / Dordrecht: Springer Netherlands - 2012. - 760 p.
93. Edgar R.C., Haas B.J., Clemente J.C., Quince C., Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection // Bioinformatics. - 2011. - Vol. 27. - № 16. - p.2194–2200.
94. Ehrenreich A., Widdel F. Anaerobic oxidation of ferrous iron by purple bacteria, a new type of phototrophic metabolism. // Appl. Environ. Microbiol. - 1994. - Vol. 60. - № 12. - p.4517–4526.
95. Eisenreich W., Strauss G., Werz U., Fuchs G., Bacher A. Retrobiosynthetic analysis of carbon fixation in the phototrophic eubacterium *Chloroflexus aurantiacus* // FEBS J. - 1993. - Vol. 215. - № 3. - p.619–632.
96. Elshahed M.S., Senko J.M., Najjar F.Z., Kenton S.M., Roe B. a, Dewers T. a, Spear J.R., Krumholz L.R. Bacterial Diversity and Sulfur Cycling in a Mesophilic Sulfide-Rich Spring // Appl. Environ. Microbiol. - 2003. - Vol. 69. - № 9. - p.5609–5621.
97. Encyclopedia of Plant Physiology Photosynthesis III Vol 19. / ed. by L.A. Staehelin, C.J. Arntzen. / Berlin Staley: Springer-Verlag - 1986.
98. Evans M.C., Buchanan B.B., Arnon D.I. A new ferredoxin-dependent carbon reduction cycle in a photosynthetic bacterium // Proc. Natl. Acad. Sci. - 1966. - Vol. 55. - № 4. - p.928–934.
99. Fariás M.E., Contreras M., Rasuk M.C., Kurth D., Flores M.R., Poiré D.G., Novoa F., Visscher P.T. Characterization of bacterial diversity associated with microbial mats, gypsum evaporites and carbonate microbialites in thalassic wetlands: Tebenquiche and La Brava, Salar de Atacama, Chile // Extremophiles. - 2014. - Vol. 18. - № 2. - p.311–329.
100. Fauteux L., Cottrell M.T., Kirchman D.L., Borrego C.M., Garcia-Chaves M.C., Giorgio P.A. del. Patterns in abundance, cell size and pigment content of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria along environmental gradients in northern lakes // PLoS One. - 2015. - Vol. 10. - № 4. - e0124035.

101. Fenna R.E., Matthews B.W. Chlorophyll arrangement in a bacteriochlorophyll protein from *Chlorobium limicola* // Nature. - 1975. - Vol. 258. - № 5536. - p.573–577.
102. Fernández-Gómez B., Richter M., Schüler M., Pinhassi J., Acinas S.G., González J.M., Pedrós-Alió C. Ecology of marine bacteroidetes: A comparative genomics approach // ISME J. - 2013. - Vol. 7. - № 5. - p.1026–1037.
103. Fourçans A., Solé A., Diestra E., Ranchou-Peyruse A., Esteve I., Caumette P., Duran R. Vertical migration of phototrophic bacterial populations in a hypersaline microbial mat from Salins-de-Giraud (Camargue, France) // FEMS Microbiol. Ecol. - 2006. - Vol. 57. - № 3. - p.367–377.
104. Frank H.A., Cogdell R.J. Carotenoids in photosynthesis // Photochem. Photobiol. - 1996. - Vol. 63. - № 3. - p.257–264.
105. Freeman J.C., Blankenship R.E. Isolation and characterization of the membrane-bound cytochrome c-554 from the thermophilic green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // Photosynth. Res. - 1990. - Vol. 23. - № 1. - p.29–38.
106. Frigaard N.-U., Bryant D.A. Chlorosomes: antenna organelles in photosynthetic green bacteria // Complex intracellular structures in prokaryotes: Springer - 2006. - p. 79–114.
107. Frigaard N.-U., Sakuragi Y., Bryant D.A. Gene inactivation in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002 and the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum* using in vitro-made DNA constructs and natural transformation // Photosynthesis research protocols: Springer - 2004. - p. 325–340.
108. Frigaard N.-U., Takaichi S., Hirota M., Shimada K., Matsuura K. Quinones in chlorosomes of green sulfur bacteria and their role in the redox-dependent fluorescence studied in chlorosome-like bacteriochlorophyll c aggregates // Arch. Microbiol. - 1997. - Vol. 167. - № 6. - p.343–349.
109. Fuchs G., Stupperich E., Eden G. Autotrophic CO₂ fixation in *Chlorobium limicola*. Evidence for the operation of a reductive tricarboxylic acid cycle in growing cells // Arch. Microbiol. - 1980. - Vol. 128. - № 1. - p.64–71.
110. Fukushima S., Morohoshi S., Hanada S., Matsuura K., Haruta S. Gliding motility driven by individual cell-surface movements in a multicellular filamentous bacterium *Chloroflexus aggregans* // FEMS Microbiol. Lett. - 2016. - Vol. 363. - № 8. - fnw056.
111. Gaisin V.A., Kalashnikov A.M., Grouzdev D.S., Sukhacheva M.V., Kuznetsov B.B., Gorlenko V.M. *Chloroflexus islandicus* sp. nov., a thermophilic filamentous anoxygenic phototrophic bacterium from a geyser // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2017. - Vol. 67. - № 5. - p.1381–1386.
112. Gao X., Xin Y., Blankenship R.E. Enzymatic activity of the alternative complex III as a menaquinol:auracyanin oxidoreductase in the electron transfer chain of *Chloroflexus aurantiacus* // FEBS Lett. - 2009. - Vol. 583. - № 19. - p.3275–3279.
113. Garcia Costas A.M., Liu Z., Tomsho L.P., Schuster S.C., Ward D.M., Bryant D.A. Complete genome of *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*, a chlorophyll-based photoheterotroph belonging to the phylum Acidobacteria // Environ. Microbiol. - 2012. - Vol. 14. - № 1. - p.177–190.
114. García-Gil L.J., Abellà C.A. Population-Dynamics of Phototrophic Bacteria in 3 Basins of Lake Banyoles (Spain) // Hydrobiologia. - 1992. - Vol. 243. - p.87–94.

115. Garcia-Pichel F., Castenholz R.W. Characterization and biological implications of scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment // *J. Phycol.* - 1991. - Vol. 27. - № 3. - p.395–409.
116. Garcia-Pichel F., Castenholz R.W. On the significance of solar ultraviolet radiation for the ecology of microbial mats // *Microbial Mats: Springer* - 1994. - p. 77–84.
117. Gich F., Airs R.L., Danielsen M., Keely B.J., Abella C.A., Garcia-Gil J., Miller M., Borrego C.M. Characterization of the chlorosome antenna of the filamentous anoxygenic phototrophic bacterium *Chloronema* sp. strain UdG9001 // *Arch. Microbiol.* - 2003. - Vol. 180. - № 6. - p.417–426.
118. Giovannoni S.J., Revsbech N.P., Ward D.M., Castenholz R.W. Obligately phototrophic *Chloroflexus*: primary production in anaerobic hot spring microbial mats // *Arch. Microbiol.* - 1987. - Vol. 147. - № 1. - p.80–87.
119. Gorlenko V.M. Ecological Niches of Green Sulfur and Gliding Bacteria // *Green Photosynthetic Bacteria* / ed. by J.M. Olson, J.G. Ormerod, J. Amesz, E. Stackebrandt, H.G. Trüper. New York: Plenum Press - 1988. - p. 257–268.
120. Gorlenko V.M., Bryantseva I.A., Kalashnikov A.M., Gaisin V.A., Sukhacheva M.V., Gruzdev D.S., Kuznetsov B.B. *Candidatus* 'Chloroploca asiatica' gen. nov., sp. nov., a new mesophilic filamentous anoxygenic phototrophic bacterium // *Microbiology.* - 2014. - Vol. 83. - № 6. - p.838–848.
121. Gorlenko V.M., Bryantseva I.A., Rabold S., Tourova T.P., Rubtsova D., Smirnova E., Thiel V., Imhoff J.F. *Ectothiorhodospira variabilis* sp. nov., an alkaliphilic and halophilic purple sulfur bacterium from soda lakes // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* - 2009. - Vol. 59. - № 4. - p.658–664.
122. Gorlenko V.M., Dubinina G.A., Kuznetsov S.I. The Ecology of Aquatic Microorganisms / ed. by W. Ohle. / Stuttgart: Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung - 1983. - 1–254 p.
123. Gorlenko V.M., Pierson B.K. Genus II. Chloronema // *Bergey's manual of systematic bacteriology vol 1* / ed. by D.R. Boone, R.W. Castenholz, G.M. Garrity. New York: Springer - 2001. - Vol. 2. - p. 437–438.
124. Green S.J., Jahnke L.L. Molecular Investigations and Experimental Manipulations of Microbial Mats: A View to Paleomicrobial Ecosystems // *Microbial Mats: Modern and ancient microorganisms in stratified systems, cellular origin, life in extreme habitats and astrobiology* / ed. by J. Seckbach, A. Oren. Dordrecht: Springer - 2010. - p. 183–206.
125. Gregersen L.H., Bryant D.A., Frigaard N.-U. Mechanisms and evolution of oxidative sulfur metabolism in green sulfur bacteria. // *Front. Microbiol.* - 2011. - Vol. 2. - № May. - p.1–14.
126. Grouzdev D.S., Gaisin V.A., Krutkina M.S., Bryantseva I.A., Lunina O.N., Savvichev A.S., Gorlenko V.M. Genome Sequence of *Prosthecochloris* sp. Strain ZM and *Prosthecochloris* sp. Strain ZM-2, Isolated from an Arctic Meromictic Lake // *Microbiol. Resour. Announc.* - 2018. - Vol. 7. - № 21. - p.1–3.
127. Grouzdev D.S., Kuznetsov B.B., Keppen O.I., Krasil'nikova E.N., Lebedeva N. V., Ivanovsky R.N. Reconstruction of bacteriochlorophyll biosynthesis pathways in the filamentous anoxygenic phototrophic bacterium *Oscillochloris trichoides* DG-6 and evolution of anoxygenic phototrophs of the order *Chloroflexales* // *Microbiol. (United Kingdom).* - 2015. - Vol. 161. - № 1. - p.120–130.

128. Gupta R.S., Chander P., George S. Phylogenetic framework and molecular signatures for the class Chloroflexi and its different clades; proposal for division of the class Chloroflexi class. nov. into the suborder *Chloroflexineae* subord. nov., consisting of the emended family *Oscillochloridaceae* and the family *Chloroflexaceae* fam. nov., and the suborder *Roseiflexineae* subord. nov., containing the family *Roseiflexaceae* fam. nov. // Antonie Van Leeuwenhoek. - 2013. - Vol. 103. - № 1. - p.99–119.
129. Habicht K.S., Gade M., Thamdrup B., Berg P., Canfield D.E. Calibration of sulfate levels in the Archean ocean // Science (80-.). - 2002. - Vol. 298. - № 5602. - p.2372–2374.
130. Hale M.B., Blankenship R.E., Fuller R.C. Menaquinone is the sole quinone in the facultatively aerobic green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // BBA - Bioenerg. - 1983. - Vol. 723. - № 3. - p.376–382.
131. Halfen L.N., Pierson B.K., Francis G.W. Carotenoids of a gliding organism containing bacteriochlorophylls // Arch. Mikrobiol. - 1972. - Vol. 82. - № 3. - p.240–246.
132. Hanada S. The Phylum Chloroflexi, the Family *Chloroflexaceae*, and the Related Phototrophic Families *Oscillochloridaceae* and *Roseiflexaceae* // The Prokaryotes – Other Major Lineages of Bacteria and the Archaea / ed. by S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, E. Stackebrandt. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag - 2014. - p. 515–532.
133. Hanada S., Hiraishi A., Shimada K., Matsuura K. Isolation of *Chloroflexus aurantiacus* and related thermophilic phototrophic bacteria from Japanese hot springs using an improved isolation procedure // J. Gen. Appl. Microbiol. - 1995a. - Vol. 41. - № 2. - p.119–130.
134. Hanada S., Hirashi A., Shimada K., Matsuura K. *Chloroflexus aggregans* sp. nov., a Filamentous Phototrophic Bacterium Which Forms Dense Cell Aggregates by Active Gliding Movement // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1995b. - Vol. 45. - № 4. - p.676–681.
135. Hanada S., Pierson B.K. The Family *Chloroflexaceae* // The Prokaryotes, Vol. 7. - 2006. - p.815–842.
136. Hanada S., Takaichi S., Matsuura K., Nakamura K. *Roseiflexus castenholzii* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, filamentous, photosynthetic bacterium that lacks chlorosomes. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2002. - Vol. 52. - № 1. - p.187–193.
137. Hania W. Ben, Joseph M., Bunk B., Spröer C., Klenk H.P., Fardeau M.L., Spring S. Characterization of the first cultured representative of a Bacteroidetes clade specialized on the scavenging of cyanobacteria // Environ. Microbiol. - 2017. - Vol. 19. - № 3. - p.1134–1148.
138. Hansen T.A., Gemerden H. Sulfide utilization by purple nonsulfur bacteria // Arch. Mikrobiol. - 1972. - Vol. 86. - № 1. - p.49–56.
139. Hase T., Ohmiya N., Matsubara H., Mullinger R.N., Rao K.K., Hall D.O. Amino acid sequence of a four-iron-four-sulphur ferredoxin isolated from *Bacillus stearothermophilus*. // Biochem. J. - 1976. - Vol. 159. - № 1. - p.55.
140. Heda G.D., Madigan M.T. Utilization of amino acids and lack of diazotrophy in the thermophilic anoxygenic phototroph *Chloroflexus aurantiacus* // J. Gen. Microbiol. - 1986. - Vol. 132. - № 1986. - p.2469–2473.

141. Heising S., Richter L., Ludwig W., Schink B. *Chlorobium ferrooxidans* sp. nov., a phototrophic green sulfur bacterium that oxidizes ferrous iron in coculture with a “*Geospirillum*” sp. strain // Arch. Microbiol. - 1999. - Vol. 172. - № 2. - p.116–124.
142. Herbert R.A., Tanner A.C. The isolation and some characteristics of photosynthetic bacteria (*Chromatiaceae* and *Chlorobiaceae*) from Antarctic marine sediments // J. Appl. Bacteriol. - 1977. - Vol. 43. - № 3. - p.437–445.
143. Hillier W., Babcock G.T. Photosynthetic reaction centers // Plant Physiol. - 2001. - Vol. 125. - № 1. - p.33–37.
144. Hiraishi A., Ueda Y. Intrageneric structure of the genus *Rhodobacter*: Transfer of *Rhodobacter sulfidophilus* and related marine species to the genus *Rhodovulum* gen. nov. // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1994. - Vol. 44. - № 1. - p.15–23.
145. Hiras J., Wu Y.-W., Eichorst S.A., Simmons B.A., Singer S.W. Refining the phylum Chlorobi by resolving the phylogeny and metabolic potential of the representative of a deeply branching, uncultivated lineage // ISME J. - 2016. - Vol. 10. - № 4. - p.833.
146. Hoehler T.M., Bebout B.M., Marais D.J. Des. The role of microbial mats in the production of reduced gases on the early Earth // Nature. - 2001. - Vol. 412. - № 6844. - p.324–327.
147. Hohmann-Marriott M.F., Blankenship R.E. Evolution of photosynthesis // Annu. Rev. Plant Biol. - 2011. - Vol. 62. - p.515–548.
148. Holo H. *Chloroflexus aurantiacus* secretes 3-hydroxypropionate, a possible intermediate in the assimilation of CO₂ and acetate // Arch. Microbiol. - 1989. - Vol. 151. - № 3. - p.252–256.
149. Holo H., Sirevag R. Autotrophic growth and CO₂ fixation of *Chloroflexus aurantiacus* // Arch. Microbiol. - 1986. - Vol. 145. - № 2. - p.173–180.
150. Hughes J.B., Hellmann J.J., Ricketts T.H., Bohannon B.J.M. Counting the Uncountable: Statistical Approaches to Estimating Microbial Diversity // Appl. Environ. Microbiol. - 2001. - Vol. 67. - № 10. - p.4399–4406.
151. Hydrogeology of the USSR. Volume VIII. Crimea / ed. by A. V Sidorenko. / Moscow: Nedra - 1970. - 364 p.
152. Imhoff J.F. Biology of Green Sulfur Bacteria // eLSChester, UK: John Wiley & Sons, Ltd - 2014.
153. Imhoff J.F. Diversity of Anaerobic Anoxygenic Phototrophic Purple Bacteria // Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes / ed. by P.C. Hallenbeck. Cham: Springer International Publishing - 2017. - p. 47–86.
154. Imhoff J.F. Taxonomy and Physiology of Phototrophic Purple Bacteria and Green Sulfur Bacteria // Anoxygenic Photosynthetic Bacteria Advances in Photosynthesis and Respiration. / ed. by R.E. Blankenship, M.T. Madigan, C.E. Bauer. Dordrecht: Springer Netherlands - 1995. - p. 1–15.
155. Imhoff J.F. True marine and halophilic anoxygenic phototrophic bacteria // Arch. Microbiol. - 2001. - Vol. 176. - № 4. - p.243–254.

156. Imhoff J.F., Sueling J., Petri R. Phylogenetic relationships among the *Chromatiaceae*, their taxonomic reclassification and description of the new genera *Allochromatium*, *Halochromatium*, *Isochromatium*, *Marichromatium*, *Thiococcus*, *Thiohalocapsa* and *Thermochromatium* // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1998. - Vol. 48. - № 1 998. - p.1129–1143.
157. Imhoff J.F., Süling J. The phylogenetic relationship among *Ectothiorhodospiraceae*: a reevaluation of their taxonomy on the basis of 16S rDNA analyses // Arch. Microbiol. - 1996. - Vol. 165. - № 2. - p.106–113.
158. Imhoff J.F., Thiel V. Taxonomy and phylogeny of *Chlorobiaceae* // Photosynth Res. - 2010. - Vol. 104. - p.123–136.
159. Imhoff J.F., Trüper H.G. *Ectothiorhodospira abdelmalekii* sp. nov., a new halophilic and alkaliphilic phototrophic bacterium // Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene, I. Abteilung, Originalarbeiten, Angewandte und ökologische Mikrobiologie. - 1981. - Vol. 2. - № 3. - p.228–234.
160. Imhoff J.F., Truper H.G. *Ectothiorhodospira halochloris* sp. nov., a new extremely halophilic phototrophic bacterium containing bacteriochlorophyll *b* // Arch. Microbiol. - 1977. - Vol. 114. - № 2. - p.115–121.
161. Ivanovsky R.N., Fal Y.I., Berg I.A., Ugolkova N. V., Krasilnikova E.N., Keppen O.I., Zakharchuc L.M., Zyakun A.M. Evidence for the presence of the reductive pentose phosphate cycle in a filamentous anoxygenic photosynthetic bacterium, *Oscillochloris trichoides* strain DG-6 // Microbiology. - 1999. - Vol. 145. - № 7. - p.1743–1748.
162. Jahnke L.L., Turk-Kubo K.A., N. Parenteau M., Green S.J., Kubo M.D.Y., Vogel M., Summons R.E., Marais D.J. Des. Molecular and lipid biomarker analysis of a gypsum-hosted endoevaporitic microbial community // Geobiology. - 2014. - Vol. 12. - № 1. - p.62–82.
163. Johnston A.W.B., Todd J.D., Sun L., Nikolaidou-Katsaridou M.N., Curson A.R.J., Rogers R. Molecular diversity of bacterial production of the climate-changing gas, dimethyl sulphide, a molecule that impinges on local and global symbioses // J. Exp. Bot. - 2008. - Vol. 59. - № 5. - p.1059–1067.
164. Jonkers H.M., Ludwig R., Wit R., Pringault O., Muyzer G., Niemann H., Finke N., Beer D. Structural and functional analysis of a microbial mat ecosystem from a unique permanent hypersaline inland lake: 'La Salada de Chiprana' (NE Spain) // FEMS Microbiol. Ecol. - 2003. - Vol. 44. - № 2. - p.175–189.
165. Jørgensen B.B., Cohen Y., Marais D.J. Des. Photosynthetic action spectra and adaptation to spectral light distribution in a benthic cyanobacterial mat // Appl. Environ. Microbiol. - 1987. - Vol. 53. - № 4. - p.879–886.
166. Jørgensen B.B., Marais D.J. Des. Competition for sulfide among colorless and purple sulfur bacteria in cyanobacterial mats // FEMS Microbiol. Lett. - 1986. - Vol. 38. - № 3. - p.179–186.
167. Jørgensen B.B., Nelson D.C. Bacterial zonation, photosynthesis, and spectral light distribution in hot spring microbial mats of Iceland // Microb. Ecol. - 1988. - Vol. 16. - № 2. - p.133–147.
168. Kampf C., Pfennig N. Capacity of *Chromatiaceae* for chemotrophic growth. Specific respiration rates of *Thiocystis violacea* and *Chromatium vinosum* // Arch. Microbiol. - 1980. - Vol. 127. - № 2. - p.125–135.

169. Kellenberger E., Ryter A., Séchaud J. Electron Microscope Study of DNA-Containing Plasmids: II. Vegetative and Mature Phage DNA as Compared with Normal Bacterial Nucleoids in Different Physiological States // *J. Cell Biol.* - 1958. - Vol. 4. - № 6. - p.671–678.
170. Keppen O.I., Baulina O.I., Kondratieva E.N. *Oscillochloris trichoides* neotype strain DG-6 // *Photosynth. Res.* - 1994. - Vol. 41. - № 1. - p.29–33.
171. Keppen O.I., Tourova T.P., Kuznetsov B.B., Ivanovsky R.N., Gorlenko V.M. Proposal of *Oscillochloridaceae* fam. nov. on the basis of a phylogenetic analysis of the filamentous anoxygenic phototrophic bacteria, and emended description of *Oscillochloris* and *Oscillochloris trichoides* in comparison with further new isolates // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* - 2000. - Vol. 50. - № 4. - p.1529–1537.
172. Kimble L.K., Madigan M.T. Nitrogen fixation and nitrogen metabolism in heliobacteria // *Arch. Microbiol.* - 1992. - Vol. 158. - № 3. - p.155–161.
173. Kimble L.K., Stevenson A.K., Madigan M.T. Chemotrophic growth of heliobacteria in darkness // *FEMS Microbiol. Lett.* - 1994. - Vol. 115. - № 1. - p.51–55.
174. Klappenbach J.A., Pierson B.K. Phylogenetic and physiological characterization of a filamentous anoxygenic photoautotrophic bacterium '*Candidatus Chlorothrix halophila*' gen. nov., sp. nov., recovered from hypersaline microbial mats // *Arch. Microbiol.* - 2004. - Vol. 181. - № 1. - p.17–25.
175. Klatt C.G., Bryant D.A., Ward D.M. Comparative genomics provides evidence for the 3-hydroxypropionate autotrophic pathway in filamentous anoxygenic phototrophic bacteria and in hot spring microbial mats // *Environ. Microbiol.* - 2007. - Vol. 9. - № 8. - p.2067–2078.
176. Klatt C.G., Liu Z., Ludwig M., Kühl M., Jensen S.I., Bryant D.A., Ward D.M. Temporal metatranscriptomic patterning in phototrophic Chloroflexi inhabiting a microbial mat in a geothermal spring // *ISME J.* - 2013. - Vol. 7. - № 9. - p.1775–1789.
177. Klatt C.G., Wood J.M., Rusch D.B., Bateson M.M., Hamamura N., Heidelberg J.F., Grossman A.R., Bhaya D., Cohan F.M., Kühl M., Bryant D.A., Ward D.M. Community ecology of hot spring cyanobacterial mats: predominant populations and their functional potential // *ISME J.* - 2011. - Vol. 5. - № 8. - p.1262–1278.
178. Klatt J.M., Haas S., Yilmaz P., Beer D. de, Polerecky L. Hydrogen sulfide can inhibit and enhance oxygenic photosynthesis in a cyanobacterium from sulfidic springs // *Environ. Microbiol.* - 2015. - Vol. 17. - № 9. - p.3301–3313.
179. Klatt J.M., Meyer S., Häusler S., Macalady J.L., Beer D. de, Polerecky L. Structure and function of natural sulphide-oxidizing microbial mats under dynamic input of light and chemical energy // *ISME J.* - 2016. - Vol. 10. - № 4. - p.921–933.
180. Knauth L.P. Temperature and salinity history of the Precambrian ocean: implications for the course of microbial evolution // *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* - 2005. - Vol. 219. - № 1. - p.53–69.
181. Kobayashi M. *Microbial Energy Conversion: The Proceedings of a Seminar Sponsored by the UN Institute for Training and Research (UNITAR) and the Ministry for Research and Technology of the Federal Republic of Germany Held in Göttingen, October 1976* / ed. by H.G. Schlegel, J. Barnea. / Elsevier - 1976. - p.443–453.

182. Kohno T., Sei K., Mori K. Characterization of type 1851 organism isolated from activated sludge samples // *Water Sci. Technol.* - 2002. - Vol. 46. - № 1–2. - p.111–114.
183. Komárek J., Anagnostidis K. *Cyanoprokaryota 2. Teil Oscillatoriales* / ed. by B. Büdel, G. Gärtner, L. Krienitz, M. Schagerl. / Heidelberg: Elsevier - 2005. - 759 p.
184. Krasnova E.D., Matorin D.N., Belevich T.A., Efimova L.E., Kharcheva A. V, Kokryatskaya N.M., Losyuk G.N., Todorenko D.A., Voronov D.A., Patsaeva S. V. The characteristic pattern of multiple colored layers in coastal stratified lakes in the process of separation from the White Sea // *J. Oceanol. Limnol.* - 2018. - Vol. 36. - № 6. - p.1962–1977.
185. Krumbein W.E., Cohen Y., Shilo M. Solar Lake (Sinai). 4. Stromatolitic cyanobacterial mats // *Limnol. Oceanogr.* - 1977. - Vol. 22. - № 4. - p.635–656.
186. Kuntikov E.I., Gorlenko V.M. Interrelation between halo- and thermotolerance in anoxygenic phototrophic bacteria // *Microbiol.* - 1998. - Vol. 67. - № 3. - p.245–250.
187. Kuznetsov B.B., Ivanovsky R.N., Keppen O.I., Sukhacheva M. V., Bumazhkin B.K., Patutina E.O., Beletsky A. V., Mardanov A. V., Baslerov R. V., Panteleeva A.N., Kolganova T. V., Ravin N. V., Skryabin K.G. Draft Genome Sequence of the Anoxygenic Filamentous Phototrophic Bacterium *Oscillochloris trichoides* subsp. DG-6 // *J. Bacteriol.* - 2011. - Vol. 193. - № 1. - p.321–322.
188. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* / ed. by E. Stackebrandt, M. Goodfellow. New York: John Wiley & Sons - 1991. - p. 115–175.
189. Lee M., Rosario M.C. del, Harris H.H., Blankenship R.E., Guss J.M., Freeman H.C. The crystal structure of auracyanin A at 1.85 Å resolution: the structures and functions of auracyanins A and B, two almost identical “blue” copper proteins, in the photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* - 2009. - Vol. 14. - № 3. - p.329–345.
190. Lehours A.-C., Jeanthon C. The hydrological context determines the beta-diversity of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in European Arctic seas but does not favor endemism // *Front. Microbiol.* - 2015. - Vol. 6. – p.1-9.
191. Ley R.E., Harris J.K., Wilcox J., Spear J.R., Miller S.R., Bebout B.M., Maresca J.A., Bryant D.A., Sogin M.L., Pace N.R. Unexpected Diversity and Complexity of the Guerrero Negro Hypersaline Microbial Mat // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2006. - Vol. 72. - № 5. - p.3685–3695.
192. Liu H., Zhang T., Fang H.H.P. Thermophilic H₂ production from a cellulose-containing wastewater // *Biotechnol. Lett.* - 2003. - Vol. 25. - № 4. - p.365–369.
193. Loy A., Arnold R., Tischler P., Rattei T., Wagner M., Horn M. probeCheck—a central resource for evaluating oligonucleotide probe coverage and specificity // *Environ. Microbiol.* - 2008. - Vol. 10. - № 10. - p.2894–2898.
194. Madigan M.T. *The Chlorobiaceae, Chloroflexaceae, and Heliobacteriaceae* // *Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes* / ed. by P.C. Hallenbeck. Cham: Springer International Publishing - 2017. - p. 139–161.

195. Madigan M.T. The Family Heliobacteriaceae // Prokaryotes Vol 4 / ed. by S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, E. Stackebrandt. Singapore: Springer Science & Business Media - 2006. - p. 951–964.
196. Madigan M.T., Brock T.D. CO₂ fixation in photosynthetically-grown *Chloroflexus aurantiacus* // FEMS Microbiol. Lett. - 1977. - Vol. 1. - № 5. - p.301–304.
197. Madigan M.T., Brock T.D. Photosynthetic Sulfide Oxidation by *Chloroflexus aurantiacus*, a Filamentous, Photosynthetic Gliding Bacterium // J. Bacteriol. - 1975. - Vol. 122. - № 2. - p.782–784.
198. Madigan M.T., Euzéby J.P., Asao M. Proposal of *Heliobacteriaceae* fam. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2010. - Vol. 60. - № 7. - p.1709–1710.
199. Madigan M.T., Gest H. Growth of the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas capsulata* chemoautotrophically in darkness with as the energy source // J. Bacteriol. - 1979. - Vol. 137. - № 1. - p.524–530.
200. Madigan M.T., Jung D.O., Woese C.R., Achenbach L.A. *Rhodoflexax antarcticus* sp. nov., a moderately psychrophilic purple nonsulfur bacterium isolated from an Antarctic microbial mat // Arch. Microbiol. - 2000. - Vol. 173. - № 4. - p.269–277.
201. Madigan M.T., Martinko J.M., Bender K.S., Buckley D.H., Stahl D.A. Brock biology of microorganisms / Boston, MA: Pearson Education - 2015. – Vol. 14.
202. Madigan M.T., Petersen S.R., Brock T.D. Nutritional studies on *Chloroflexus*, a filamentous photosynthetic, gliding bacterium // Arch. Microbiol. - 1974. - Vol. 100. - № 1. - p.97–103.
203. Majumder E.L.W., King J.D., Blankenship R.E. Alternative Complex III from phototrophic bacteria and its electron acceptor auracyanin // Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg. - 2013. - Vol. 1827. - № 11–12. - p.1383–1391.
204. Maresca J.A., Graham J.E., Bryant D.A. The biochemical basis for structural diversity in the carotenoids of chlorophototrophic bacteria // Photosynth. Res. - 2008. - Vol. 97. - № 2. - p.121–140.
205. Martínez-Alonso M., Bleijswijk J., Gaju N., Muyzer G. Diversity of anoxygenic phototrophic sulfur bacteria in the microbial mats of the Ebro Delta: a combined morphological and molecular approach // FEMS Microbiol. Ecol. - 2005. - Vol. 52. - № 3. - p.339–350.
206. Meene A.M.L. Van De, Olson T.L., Collins A.M., Blankenship R.E. Initial characterization of the photosynthetic apparatus of «*Candidatus Chlorothrix halophila*» a filamentous, anoxygenic photoautotroph // J. Bacteriol. - 2007. - Vol. 189. - № 11. - p.4196–4203.
207. Meer M.T.J. van der, Klatt C.G., Wood J., Bryant D.A., Bateson M.M., Lammerts L., Schouten S., Sinninghe Damste J.S., Madigan M.T., Ward D.M. Cultivation and Genomic, Nutritional, and Lipid Biomarker Characterization of *Roseiflexus* Strains Closely Related to Predominant In Situ Populations Inhabiting Yellowstone Hot Spring Microbial Mats // J. Bacteriol. - 2010. - Vol. 192. - № 12. - p.3033–3042.
208. Melø T.B., Frigaard N.-U., Matsuura K., Naqvi K.R. Electronic energy transfer involving carotenoid pigments in chlorosomes of two green bacteria: *Chlorobium tepidum* and *Chloroflexus aurantiacus* // Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. - 2000. - Vol. 56. - № 10. - p.2001–2010.

209. Milford A.D., Achenbach L.A., Jung D.O., Madigan M.T. *Rhodobaca bogoriensis* gen. nov. and sp. nov., an alkaliphilic purple nonsulfur bacterium from African Rift Valley soda lakes // Arch. Microbiol. - 2000. - Vol. 174. - № 1–2. - p.18–27.
210. Miller S.R., Miller S.R., Bebout B.M., Bebout B.M. Variation in Sulfide Tolerance of Photosystem II in Phylogenetically Diverse Cyanobacteria from Sulfidic Habitats // Society. - 2004. - Vol. 70. - № 2. - p.736–744.
211. Miura Y., Watanabe Y., Okabe S. Significance of Chloroflexi in performance of submerged membrane bioreactors (MBR) treating municipal wastewater // Environ. Sci. Technol. - 2007. - Vol. 41. - № 22. - p.7787–7794.
212. Molemans F., Emmelo J. Van, Fiers W. The sequence specificity of endonucleases *CauI* and *CauII* isolated from *Chloroflexus aurantiacus* // Gene. - 1982. - Vol. 18. - p.93–96.
213. Nealson K., Berelson W. Layered microbial communities and the search for life in the universe // Geomicrobiol. J. - 2003. - Vol. 20. - № 5. - p.451–462.
214. Nicholson J.A.M., Stolz J.F., Pierson B.K. Structure of a microbial mat at Great Sippewissett Marsh, Cape Cod, Massachusetts // FEMS Microbiol. Lett. - 1987. - Vol. 45. - № 6. - p.343–364.
215. Nielsen M., Revsbech N.P., Kühl M. Microsensor measurements of hydrogen gas dynamics in cyanobacterial microbial mats // Front. Microbiol. - 2015. - Vol. 6. - № 726. - p.1–12.
216. Noffke N., Christian D., Wacey D., Hazen R.M. Microbially Induced Sedimentary Structures Recording an Ancient Ecosystem in the ca. 3.48 Billion-Year-Old Dresser Formation, Pilbara, Western Australia // Astrobiology. - 2013. - Vol. 13. - № 12. - p.1103–1124.
217. Nübel U., Bateson M.M., Madigan M.T., Kuhl M., Ward D.M. Diversity and Distribution in Hypersaline Microbial Mats of Bacteria Related to *Chloroflexus* spp. // Appl. Environ. Microbiol. - 2001. - Vol. 67. - № 9. - p.4365–4371.
218. Nutman A.P., Bennett V.C., Friend C.R.L., Kranendonk M.J. Van, Chivas A.R. Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures // Nature. - 2016. - Vol. 537. - № 7621. - p.535–538.
219. O'Connor C.D., Metcalf E., Wrighton C.J., Harris T.J.R., Saunders J.R. RsrII-a novel restriction endonuclease with a heptanucleotide recognition site // Nucleic Acids Res. - 1984. - Vol. 12. - № 17. - p.6701–6708.
220. Oelze J., Golecki J.R. Membranes and chlorosomes of green bacteria: structure, composition and development // Anoxygenic photosynthetic bacteria: Springer - 1995. - p. 259–278.
221. Olson J.M. Chlorophyll Organization and Function in Green Photosynthetic Bacteria // Photochem. Photobiol. - 1998. - Vol. 67. - № 1. - p.61–75.
222. Olson J.M. Photosynthesis in the Archean era // Photosynth. Res. - 2006. - Vol. 88. - № 2. - p.109–117.
223. Olson T. Le, Meene A.M.L. van de, Francis J.N., Pierson B.K., Blankenship R.E. Pigment Analysis of «*Candidatus Chlorothrix halophila*,» a Green Filamentous Anoxygenic Phototrophic Bacterium // J. Bacteriol. - 2007. - Vol. 189. - № 11. - p.4187–4195.

224. Oostergetel G.T., Amerongen H. van, Boekema E.J. The chlorosome: A prototype for efficient light harvesting in photosynthesis // *Photosynth. Res.* - 2010. - Vol. 104. - № 2. - p.245–255.
225. Oren A., Kessel M., Stackebrandt E. *Ectothiorhodospira marismortui* sp. nov., an obligately anaerobic, moderately halophilic purple sulfur bacterium from a hypersaline sulfur spring on the shore of the Dead Sea // *Arch. Microbiol.* - 1989. - Vol. 151. - № 6. - p.524–529.
226. Ovchinnikov Y.A., Abdulaev N.G., Shmuckler B.E., Zargarov A.A., Kutuzov M.A., Telezhinskaya I.N., Levina N.B., Zolotarev A.S. Photosynthetic reaction centre of *Chloroflexus aurantiacus*. Primary structure of L-subunit. // *FEBS Lett.* - 1988a. - Vol. 231. - № 1. - p.237–242.
227. Ovchinnikov Y.A., Abdulaev N.G., Shmuckler B.E., Zargarov A.A., Kutuzov M.A., Telezhinskaya I.N., Levina N.B., Zolotarev A.S. Photosynthetic reaction centre of *Chloroflexus aurantiacus*. Primary structure of M-subunit. // *FEBS Lett.* - 1988b. - Vol. 232. - № 2. - p.364–368.
228. Overmann J. GNB and GSB // *Encyclopedia of Life Sciences* - 2007.
229. Overmann J., Fischer U., Pfennig N. A new purple sulfur bacterium from saline littoral sediments, *Thiorhodovibrio winogradskyi* gen. nov. and sp. nov. // *Arch. Microbiol.* - 1992. - Vol. 157. - № 4. - p.329–335.
230. Oyaizu H., Debrunner-Vossbrinck B., Mandelco L., Studier J.A., Woese C.R. The green non-sulfur bacteria: A deep branching in the eubacterial line of descent // *Syst. Appl. Microbiol.* - 1987. - Vol. 9. - № 1–2. - p.47–53.
231. Parenteau M.N., Jahnke L.L., Green S.J., Boomer S.M., Pierson B.K. Marine *Chloroflexus*-Like Organisms Synthesize Mid-Chain Branched Monomethylalkanes // *Astrobiol. Sci. Conf.* 2010. - 2010. - p.5126–5126.
232. Parks D.H., Imelfort M., Skennerton C.T., Hugenholtz P., Tyson G.W. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes // *Genome Res.* - 2015. - Vol. 25. - № 7. - p.1043–1055.
233. Pentecost A. The microbial ecology of some italian hotspring travertines // *Microbios.* - 1995. - Vol. 81. - p.45–58.
234. Pernthaler J., Glöckner F.-O., Schönhuber W., Amann R. Fluorescence in situ hybridization (FISH) with rRNA-targeted oligonucleotide probes // *Methods Microbiol.* - 2001. - Vol. 30. - p.207–226.
235. Perutz M.F. Electrostatic effects in proteins // *Science* - 1978. - Vol. 201. - № 4362. - p.1187–1191.
236. Pfennig N., Lippert K.D. Über das vitamin B₁₂-bedürfnis phototropher Schwefelbakterien // *Arch. Microbiol.* - 1966. - Vol. 55. - № 3. - p.245–256.
237. Pierson B., Oesterle A., Murphy G.L. Pigments, light penetration, and photosynthetic activity in the multi-layered microbial mats of Great Sippewissett Salt Marsh, Massachusetts // *FEMS Microbiol. Lett.* - 1987. - Vol. 45. - № 6. - p.365–376.
238. Pierson B.K. Cytochromes in *Chloroflexus aurantiacus* grown with and without oxygen // *Arch. Microbiol.* - 1985. - Vol. 143. - p.260–265.

239. Pierson B.K., Castenholz R.W. A phototrophic gliding filamentous bacterium of hot springs, *Chloroflexus aurantiacus*, gen. and sp. nov. // Arch. Microbiol. - 1974a. - Vol. 100. - № 1. - p.5–24.
240. Pierson B.K., Castenholz R.W. Studies of pigments and growth in *Chloroflexus aurantiacus*, a phototrophic filamentous bacterium // Arch. Microbiol. - 1974b. - Vol. 100. - № 1. - p.283–305.
241. Pierson B.K., Castenholz R.W. Taxonomy and physiology of filamentous anoxygenic phototrophs // Anoxygenic photosynthetic bacteria: Springer - 1995. - p. 31–47.
242. Pierson B.K., Giovannoni S.J., Castenholz R.W. Physiological ecology of a gliding bacterium containing bacteriochlorophyll *a* // Appl. Environ. Microbiol. - 1984. - Vol. 47. - № 3. - p.576–584.
243. Pierson B.K., Giovannoni S.J., Stahl D.A., Castenholz R.W. *Heliothrix oregonensis*, gen. nov., sp. nov., a phototrophic filamentous gliding bacterium containing bacteriochlorophyll *a* // Arch. Microbiol. - 1985. - Vol. 142. - № 2. - p.164–167.
244. Pierson B.K., Parenteau M.N. Phototrophs in high iron microbial mats: microstructure of mats in iron-depositin hot springs // FEMS Microbiol. Ecol. - 2000. - Vol. 32. - p.181–196.
245. Pierson B.K., Thornber J.P. Isolation and spectral characterization of photochemical reaction centers from the thermophilic green bacterium *Chloroflexus aurantiacus* strain J-10-f1. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. - 1983. - Vol. 80. - № 1. - p.80–84.
246. Pierson B.K., Valdez D., Larsen M., Morgan E., Mack E.E. *Chloroflexus*-like organisms from marine and hypersaline environments: distribution and diversity // Photosynth. Res. - 1994. - Vol. 41. - № 1. - p.35-52.
247. Polerecky L., Bachar A., Schoon R., Grinstein M., Jørgensen B.B., Beer D. De, Jonkers H.M. Contribution of *Chloroflexus* respiration to oxygen cycling in a hypersaline microbial mat from Lake Chiprana, Spain // Environ. Microbiol. - 2007. - Vol. 9. - № 8. - p.2007–2024.
248. Prieto-Barajas C.M., Valencia-Cantero E., Santoyo G. Microbial mat ecosystems: Structure types, functional diversity, and biotechnological application // Electron. J. Biotechnol. - 2018. - Vol. 31. - p.48–56.
249. Pšenčík J., Butcher S.J., Tuma R. Chlorosomes: structure, function and assembly // The Structural Basis of Biological Energy Generation: Springer - 2014. - p. 77–109.
250. Puchkova N.N., Imhoff J.F., Gorlenko V.M. *Thiocapsa litoralis* sp. nov., a new purple sulfur bacterium from microbial mats from the White Sea // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2000. - Vol. 50. - № 4. - p.1441–1447.
251. Rabold S., Gorlenko V.M., Imhoff J.F. *Thiorhodococcus mannitoliphagus* sp. nov., a purple sulfur bacterium from the White Sea // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2006. - Vol. 56. - № 8. - p.1945–1951.
252. Rethmeier J. Untersuchungen zur Ökologie und zum Mechanismus der Sulfidadaptation mariner Cyanobakterien der Ostsee // 1995.
253. Revsbech N.P., Jørgensen B.B., Blackburn T.H., Cohen Y. Microelectrode studies of the photosynthesis and O₂, H₂S, and pH profiles of a microbial mat // Limnol. Oceanogr. - 1983. - Vol. 28. - № 6. - p.1062–1074.

254. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* - 1963. - Vol. 17. - № 1. - p.208.
255. Robert F., Chaussidon M. A palaeotemperature curve for the Precambrian oceans based on silicon isotopes in cherts // *Nature.* - 2006. - Vol. 443. - № 7114. - p.969–972.
256. Rodriguez-R L.M., Konstantinidis K.T. The enveomics collection: a toolbox for specialized analyses of microbial genomes and metagenomes / *PeerJ Preprints* - 2016. – Vol. 4. - e1900v1.
257. Saer R.G., Blankenship R.E. Light harvesting in phototrophic bacteria: structure and function // *Biochem. J.* - 2017. - Vol. 474. - № 13. - p.2107–2131.
258. Samylina O.S., Sapozhnikov F. V, Gainanova O.Y., Ryabova A. V, Nikitin M.A., Sorokin D.Y. Algo-bacterial communities of the Kulunda steppe (Altai Region, Russia) Soda Lakes // *Microbiology.* - 2014. - Vol. 83. - № 6. - p.849–860.
259. Sattley W.M., Asao M., Tang J.K.-H., Collins A.M. Energy conservation in heliobacteria: photosynthesis and central carbon metabolism // *The structural basis of biological energy generation: Springer* - 2014. - p. 231–247.
260. Sattley W.M., Madigan M.T. The Family *Heliobacteriaceae* // *The Prokaryotes* / ed. by E.F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, F.L. Thompson, E. Rosenberg. Dordrecht: Springer - 2014. - p. 185–196.
261. Schmidt K. A Comparative Study on the Composition of Chlorosomes (Chlorobium Vesicles) and Cytoplasmic Membranes from *Chloroflexus aurantiacus* Strain Ok-70-fl and *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum* Strain 6230 Karin // *Arch. Microbiol.* - 1980. - Vol. 124. - p.21–31.
262. Schmidt K. Biosynthesis of carotenoids // *The Photosynthetic Bacteria* / ed. by R.K. Clayton, W.R. Sistrom. New York: Plenum Press - 1978. - p. 729– 750.
263. Seviour R.J., Blackall L.L. Current taxonomic status of filamentous bacteria found in activated sludge plants // *The microbiology of activated sludge: Springer* - 1998. - p. 122–146.
264. Shiozawa J. a, Lottspeich F., Feick R. The photochemical reaction center of *Chloroflexus aurantiacus* Is Composed of Two Structurally Similar Polypeptides // *Eur J Biochem.* - 1987. - Vol. 600. - p.595–600.
265. Shiozawa J.A., Lottspeich F., Feick R. The primary structure of the *Chloroflexus aurantiacus* reaction center polypeptide // *Eur J Biochem.* - 1989. - Vol. 180. - p.75–84.
266. Shively J.M., Cannon G.C., Heinhorst S., Bryant D.A., DasSarma S., Bazylnski D., Preiss J., Steinbüchel A., Docampo R., Dahl C. Bacterial Inclusions // *eLS*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd - 2006.
267. Siefert E., Pfennig N. Chemoautotrophic growth of *Rhodospseudomonas* species with hydrogen and chemotrophic utilization of methanol and formate // *Arch. Microbiol.* - 1979. - Vol. 122. - № 2. - p.177–182.
268. Sirevag R., Castenholz R. Aspects of carbon metabolism in *Chloroflexus* // *Arch. Microbiol.* - 1979. - Vol. 120. - № 2. - p.151–153.

269. Sørensen P.G., Cox R.P., Miller M. Chlorosome lipids from *Chlorobium tepidum*: characterization and quantification of polar lipids and wax esters // *Photosynth. Res.* - 2008. - Vol. 95. - № 2–3. - p.191–196.
270. Sorokin D.Y., Gorlenko V.M., Namsaraev B.B., Namsaraev Z.B., Lysenko A.M., Eshinimaev B.T., Khmelenina V.N., Trotsenko Y.A., Kuenen J.G. Prokaryotic communities of the north-eastern Mongolian soda lakes // *Hydrobiologia.* - 2004. - Vol. 522. - № 1–3. - p.235–248.
271. Speelmans G., Hillenga D., Poolman B., Konings W.N. Application of thermostable reaction centers from *Chloroflexus aurantiacus* as a protonmotive force generating system // *BBA - Bioenerg.* - 1993. - Vol. 1142. - № 3. - p.269–276.
272. Sprague S.G., Staehelin L.A., Fuller R.C. Semiaerobic induction of bacteriochlorophyll synthesis in the green bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // *J. Bacteriol.* - 1981. - Vol. 147. - № 3. - p.1032–1039.
273. Staehelin A.L., Golecki J.R., Drews G. Supramolecular organization of chlorosomes (chlorobium vesicles) and of their membrane attachment sites in *Chlorobium limicola* // *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* - 1980. - Vol. 589. - № 1. - p.30–45.
274. Staehelin A.L., Golecki J.R., Fuller R.C., Drews G. Visualization of the supramolecular architecture of chlorosomes (chlorobium type vesicles) in freeze-fractured cells of *Chloroflexus aurantiacus* // *Arch. Microbiol.* - 1978. - Vol. 119. - № 3. - p.269–277.
275. Stal L.J. Coastal microbial mats: The physiology of a small-scale ecosystem // *South African J. Bot.* - 2001. - Vol. 67. - № 3. - p.399–410.
276. Stal L.J. Microbial mats in coastal environments // *Microbial mats: Springer* - 1994. - p. 21–32.
277. Stal L.J. Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities // *New Phytol.* - 1995. - Vol. 131. - № 1. - p.1–32.
278. Stal L.J., Moezelaar R. Fermentation in cyanobacteria // *FEMS Microbiol. Rev.* - 1997. - Vol. 21. - № 2. - p.179–211.
279. Stal L.J., Paerl H.W., Bebout B., Villbrandt M. Heterocystous versus non-heterocystous cyanobacteria in microbial mats // *Microbial Mats: Springer* - 1994. - p. 403–414.
280. Steenbergen C.L.M., Korthals H.J. Distribution of phototrophic microorganisms in the anaerobic and microaerophilic strata of Lake Vechten (The Netherlands). Pigment analysis and role in primary production // *Limnol. Oceanogr.* - 1982. - Vol. 27. - № 5. - p.883–895.
281. Stolz J.F. Bacterial Intracellular Membranes // *Encyclopedia of Life Sciences.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd - 2007.
282. Stolz J.F. Distribution of phototrophic microbes in the flat laminated microbial mat at Laguna Figueroa, Baja California, Mexico // *Biosystems.* - 1990. - Vol. 23. - № 4. - p.345–357.
283. Strauss G., Eisenreich W., Bacher A., Fuchs G. ¹³C-NMR study of autotrophic CO₂ fixation pathways in the sulfur-reducing Archaeobacterium *Thermoproteus neutrophilus* and in the phototrophic Eubacterium *Chloroflexus aurantiacus* // *FEBS J.* - 1992. - Vol. 205. - № 2. - p.853–866.

284. Strauss G., Fuchs G. Enzymes of a novel autotrophic CO₂ fixation pathway in the phototrophic bacterium *Chloroflexus aurantiacus*, the 3-hydroxypropionate cycle // FEBS J. - 1993. - Vol. 215. - № 3. - p.633–643.
285. Sugiura M., Takano M., Kawakami S., Toda K., Hanada S. Application of a portable spectrophotometer to microbial mat studies: temperature dependence of the distribution of cyanobacteria and photosynthetic bacteria in hot spring water // Microbes Environ. - 2001. - Vol. 16. - № 4. - p.255–261.
286. Sunda W., Kieber D.J., Kiene R.P., Huntsman S. An antioxidant function for DMSP and DMS in marine algae // Nature. - 2002. - Vol. 418. - № 6895. - p.317.
287. Sutcliffe I.C. Cell envelope architecture in the Chloroflexi: A shifting frontline in a phylogenetic turf war // Environ. Microbiol. - 2011. - Vol. 13. - № 2. - p.279–282.
288. Tabita F.R. Microbial ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: a different perspective // Photosynth. Res. - 1999. - Vol. 60. - № 1. - p.1–28.
289. Takahashi M., Ichimura S. Vertical distribution and organic matter production of photosynthetic sulfur bacteria in Japanese lakes // Limnol. Oceanogr. - 1968. - Vol. 13. - № 4. - p.644–655.
290. Takaichi S. Absence of Carotenes and Presence of a Tertiary Methoxy Group in a Carotenoid from a Thermophilic Filamentous Photosynthetic Bacterium *Roseiflexus castenholzii* // Plant Cell Physiol. - 2001. - Vol. 42. - № 12. - p.1355–1362.
291. Takaichi S. Carotenoids and carotenogenesis in anoxygenic photosynthetic bacteria // The photochemistry of carotenoids: Springer - 1999. - p. 39–69.
292. Takaichi S., Tsuji K., Matsuura K., Shimada K. A monocyclic carotenoid glucoside ester is a major carotenoid in the green filamentous bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // Plant Cell Physiol. - 1995. - Vol. 36. - № 5. - p.773–778.
293. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipinski A., Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 // Mol. Biol. Evol. - 2013. - Vol. 30. - № 12. - p.2725–2729.
294. Tanaka M., Haniu M., Matsueda G., Yasunobu K.T., Himes R.H., Akagi J.M., Barnes E.M., Devanathan T. The primary structure of the *Clostridium tartarivorum* ferredoxin, a heat-stable ferredoxin // J. Biol. Chem. - 1971. - Vol. 246. - № 12. - p.3953–3960.
295. Tang K.-H., Barry K., Chertkov O., Dalin E., Han C.S., Hauser L.J., Honchak B.M., Karbach L.E., Land M.L., Lapidus A. Complete genome sequence of the filamentous anoxygenic phototrophic bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // BMC Genomics. - 2011. - Vol. 12. - № 1. - p.334.
296. Tank M., Bryant D.A. *Chloracidobacterium thermophilum* gen. nov., sp. nov.: an anoxygenic microaerophilic chlorophotoheterotrophic acidobacterium // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2015b. - Vol. 65. - p.1426–1430.
297. Tank M., Bryant D.A. Nutrient requirements and growth physiology of the photoheterotrophic Acidobacterium, *Chloracidobacterium thermophilum* // Front. Microbiol. - 2015a. - Vol. 6. - p.1-14.
298. Tank M., Thiel V., Ward D.M., Bryant D.A. A Panoply of Phototrophs: An Overview of the Thermophilic Chlorophototrophs of the Microbial Mats of Alkaline Siliceous Hot Springs in Yellowstone

- National Park, WY, USA // Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes / ed. by P.C. Hallenbeck. Cham: Springer International Publishing - 2017. - p. 87–138.
299. Tatusova T., DiCuccio M., Badretdin A., Chetvernin V., Ciuffo S., Li W. Prokaryotic genome annotation pipeline // The NCBI Handbook [Internet]. 2nd edition: National Center for Biotechnology Information (US) - 2013.
300. Thiel V., Drautz-Moses D.I., Purbojati R.W., Schuster S.C., Lindemann S., Bryant D.A. Genome Sequence of *Prosthecochloris* sp. Strain HL-130-GSB from the Phylum Chlorobi // Genome Announc. - 2017. - Vol. 5. - № 24. - p.1–2.
301. Thiel V., Tank M., Bryant D.A. Diversity of Chlorophototrophic Bacteria Revealed in the Omics Era // Annu. Rev. Plant Biol. - 2018. - Vol. 69. - № 1. - p.21–49.
302. Thiel V., Wood J.M., Olsen M.T., Tank M., Klatt C.G., Ward D.M., Bryant D.A. The Dark Side of the Mushroom Spring Microbial Mat: Life in the Shadow of Chlorophototrophs. I. Microbial Diversity Based on 16S rRNA Gene Amplicons and Metagenomic Sequencing // Front. Microbiol. - 2016. - Vol. 7. - p.1-25.
303. Tice M.M., Lowe D.R. Photosynthetic microbial mats in the 3,416-Myr-old ocean // Nature. - 2004. - Vol. 431. - p.549–552.
304. Todd J.D., Rogers R., Li Y.G., Wexler M., Bond P.L., Sun L., Curson A.R.J., Malin G., Steinke M., Johnston A.W.B. Structural and regulatory genes required to make the gas dimethyl sulfide in bacteria // Science (80-.). - 2007. - Vol. 315. - № 5812. - p.666–669.
305. Tourova T.P., Keppen O.I., Kovaleva O.L., Slobodova N. V., Berg I.A., Ivanovsky R.N. Phylogenetic characterization of the purple sulfur bacterium *Thiocapsa* sp. BBS by analysis of the 16S rRNA, *cbbL*, and *nifH* genes and its description as *Thiocapsa bogorovii* sp. nov., a new species // Microbiology. - 2009. - Vol. 78. - № 3. - p.339–349.
306. Tourova T.P., Spiridonova E.M., Slobodova N. V., Boulygina E.S., Keppen O.I., Kuznetsov B.B., Ivanovsky R.N. Phylogeny of anoxygenic filamentous phototrophic bacteria of the family *Oscillochloridaceae* as inferred from comparative analyses of the *rrs*, *cbbL*, and *nifH* genes // Microbiology. - 2006. - Vol. 75. - № 2. - p.192–200.
307. Trüper H.G., Pfennig N. The family *Chlorobiaceae* // The prokaryotes: Springer - 1992. - p. 3583–3592.
308. Tsukatani Y., Romberger S.P., Golbeck J.H., Bryant D.A. Isolation and Characterization of Homodimeric Type-I Reaction Center Complex from *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*, an Aerobic Chlorophototroph // J. Biol. Chem. - 2012. - Vol. 287. - № 8. - p.5720–5732.
309. Turner P., Mamo G., Karlsson E.N. Potential and utilization of thermophiles and thermostable enzymes in biorefining // Microb. Cell Fact. - 2007. - Vol. 6. - № 1. - p.9.
310. van Gemerden H., Mas J. Ecology of Phototrophic Sulfur Bacteria // Anoxygenic photosynthetic bacteria / ed. by R.E. Blankenship, M.T. Madigan, C.E. Bauer. Dordrecht: Kluwer Academic Press - 1995. - p. 49–85.
311. van Gemerden H., Tughan C.S., Wit R. De, Herbert R.A. Laminated microbial ecosystems on sheltered beaches in Scapa Flow, Orkney Islands // FEMS Microbiol. Lett. - 1989a. - Vol. 62. - № 2. - p.87–101.

312. van Gemerden H., Wit R. De, Tughan C.S., Herbert R.A. Development of mass blooms of *Thiocapsa roseopersicina* on sheltered beaches on the Orkney Islands // FEMS Microbiol. Lett. - 1989b. - Vol. 62. - № 2. - p.111–118.
313. van Gemerden H. Microbial mats: A joint venture // Mar. Geol. - 1993. - Vol. 113. - № 1–2. - p.3–25.
314. Vasmel H., Amesz J. Photoreduction of menaquinone in the reaction center of the green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // BBA - Bioenerg. - 1983. - Vol. 724. - № 1. - p.118–122.
315. Verméglio A., Joliot P. Supramolecular organisation of the photosynthetic chain in anoxygenic bacteria // Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Bioenergetics. - 2002. - Vol. 1555. - № 1–3. - p.60–64.
316. Vonshak A. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): physiology, cell-biology and biotechnology / - 2002. - 252 p.
317. Vrij W. De, Bulthuis R.A., Konings W.N. Comparative study of energy-transducing properties of cytoplasmic membranes from mesophilic and thermophilic *Bacillus* species. // J. Bacteriol. - 1988. - Vol. 170. - № 5. - p.2359–2366.
318. Wakao N., Yokoi N., Isoyama N., Hiraishi A., Shimada K., Kobayashi M., Kise H., Iwaki M., Itoh S., Takaichi S., Sakurai Y. Discovery of natural photosynthesis using Zn-containing bacteriochlorophyll in an aerobic bacterium *Acidiphilium rubrum* // Plant Cell Physiol. - 1996. - Vol. 37. - № 6. - p.889–893.
319. Walker J.E., Wonacott A.J., Harris J.I. Heat Stability of a Tetrameric Enzyme, D-Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase // FEBS J. - 1980. - Vol. 108. - № 2. - p.581–586.
320. Wang J., Brune D.C., Blankenship R.E. Effects of oxidants and reductants on the efficiency of excitation transfer in green photosynthetic bacteria // Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Bioenergetics. - 1990. - Vol. 1015. - № 3. - p.457–463.
321. Wang Q., Garrity G.M., Tiedje J.M., Cole J.R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy // Appl. Environ. Microbiol. - 2007. - Vol. 73. - № 16. - p.5261–5267.
322. Ward D.M., Bateson M.M., Ferris M.J., Kuhl M., Wieland A., Koeppl A., Cohan F.M. Cyanobacterial ecotypes in the microbial mat community of Mushroom Spring (Yellowstone National Park, Wyoming) as species-like units linking microbial community composition, structure and function // Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. - 2006. - Vol. 361. - № 1475. - p.1997–2008.
323. Ward L.M., Hemp J., Shih P.M., McGlynn S.E., Fischer W.W. Evolution of Phototrophy in the Chloroflexi Phylum Driven by Horizontal Gene Transfer // Front. Microbiol. - 2018. - Vol. 9. - № 260. - p.1–16.
324. Wechsler T., Brunisholz R., Suter F., Fuller R.C., Zuber H. The complete amino acid sequence of a bacteriochlorophyll *a* binding polypeptide isolated from the cytoplasmic membrane of the green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // FEBS Lett. - 1985. - Vol. 191. - № 1. - p.34–38.
325. Wechsler T.D., Brunisholz R.A., Frank G., Suter F., Zuber H. The complete amino acid sequence of the antenna polypeptide B806-866-β from the cytoplasmic membrane of the green bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // FEBS Lett. - 1987. - Vol. 210. - № 2. - p.189–194.

326. Weller R., Bateson M.M., Heimbuch B.K., Kopczynski E.D., Ward D.M. Uncultivated cyanobacteria, *Chloroflexus*-like inhabitants, and spirochete-like inhabitants of a hot spring microbial mat. // Appl. Environ. Microbiol. - 1992. - Vol. 58. - № 12. - p.3964–3969.
327. Westall F., Vries S.T. de, Nijman W., Rouchon V., Orberger B., Pearson V., Watson J., Verchovsky A., Wright I., Rouzaud J.-N., Marchesini D., Severine A. The 3.466 Ga “Kitty’s Gap Chert,” an early Archean microbial ecosystem // Special Paper 405: Processes on the Early Earth: Geological Society of America - 2006. - p. 105–131.
328. Wit R. de, Gemerden H. van. Oxidation of sulfide to thiosulfate by *Microcoleus chthonoplastes* // FEMS Microbiol. Lett. - 1987. - Vol. 45. - № 1. - p.7–13.
329. Wong H., Ahmed-Cox A., Burns B. Molecular Ecology of Hypersaline Microbial Mats: Current Insights and New Directions // Microorganisms. - 2016. - Vol. 4. - № 1. - p.6.
330. Wright E.S., Yilmaz L.S., Corcoran A.M., Ökten H.E., Noguera D.R. Automated Design of Probes for rRNA-Targeted Fluorescence In Situ Hybridization Reveals the Advantages of Using Dual Probes for Accurate Identification // Appl. Environ. Microbiol. - 2014. - Vol. 80. - № 16. - p.5124–5133.
331. Wright E.S., Yilmaz L.S., Noguera D.R. DECIPHER, a search-based approach to chimera identification for 16S rRNA sequences // Appl. Environ. Microbiol. - 2012. - Vol. 78. - № 3. - p.717–725.
332. Xin Y., Lin S., Montan G.A. Purification and characterization of the B808 – 866 light-harvesting complex from green filamentous bacterium *Chloroflexus aurantiacus* // Photosynth. Res. - 2005. - Vol. 86. - p.155–163.
333. Yamada M., Zhang H., Hanada S., Nagashima K.V.P., Shimada K., Matsuura K. Structural and Spectroscopic Properties of a Reaction Center Complex from the Chlorosome-Lacking Filamentous Anoxygenic Phototrophic Bacterium // Society. - 2005. - Vol. 187. - № 5. - p.1702–1709.
334. Yoch D.C. Dimethylsulfoniopropionate: its sources, role in the marine food web, and biological degradation to dimethylsulfide // Appl. Environ. Microbiol. - 2002. - Vol. 68. - № 12. - p.5804–5815.
335. Yurkov V., Hughes E. Genes associated with the peculiar phenotypes of the aerobic anoxygenic phototrophs // Adv Bot Res. - 2013. - Vol. 66. - p.327–358.
336. Zarzycki J., Brecht V., Müller M., Fuchs G. Identifying the missing steps of the autotrophic 3-hydroxypropionate CO₂ fixation cycle in *Chloroflexus aurantiacus* // Proc. Natl. Acad. Sci. - 2009. - Vol. 106. - № 50. - p.21317–21322.
337. Zarzycki J., Fuchs G. Coassimilation of organic substrates via the autotrophic 3-hydroxypropionate bi-cycle in *Chloroflexus aurantiacus* // Appl. Environ. Microbiol. - 2011. - Vol. 77. - № 17. - p.6181–6188.
338. Zavarzin G.A., Zhilina T.N., Kevbrin V. V. Alkaliphilic microbial community and its functional diversity // Mikrobiologiya. - 1999. - Vol. 68. - № 5. - p.579–599.
339. Zeng Y., Feng F., Medova H., Dean J., Kobli ek M. Functional type 2 photosynthetic reaction centers found in the rare bacterial phylum Gemmatimonadetes // Proc. Natl. Acad. Sci. - 2014. - Vol. 111. - № 21. - p.7795–7800.

340. Zeng Y., Koblížek M. Phototrophic Gemmatimonadetes: A New “Purple” Branch on the Bacterial Tree of Life // *Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes*: Springer - 2017. - p. 163–192.
341. Zheng Q., Liu Y., Steindler L., Jiao N. Pyrosequencing analysis of aerobic anoxygenic phototrophic bacterial community structure in the oligotrophic western Pacific Ocean // *FEMS Microbiol. Lett.* - 2015. - Vol. 362. - № 8.
342. Zheng Q., Zhang R., Koblížek M., Boldareva E.N., Yurkov V., Yan S., Jiao N. Diverse Arrangement of Photosynthetic Gene Clusters in Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria // *PLoS One.* - 2011. - Vol. 6. - № 9. - p.1–7.

Приложение А

Филотипы фототрофных бактерий в приполярных озерах Кандалакшского залива Белого моря (в % от общего количества парных чтений).

№ OTU	Ближайший родственник по 16S рРНК	Er1	Er2	Er5	Gub1	Gub3	KS4	KS5	Nil2	Nil3	Nil4	ZM2	ZM3	ZM4
	Цианобактерии													
9	<i>Planktothricoides raciborskii</i> NIES-207 (NR_040858)	6.93E -06	1.12E -05	5.79E -05	0.002 939	5.26E -05	0.000 593	0.000 205	0.005 407	0.001 235	0.001 684	0.006 108	0.057 957	0.018 311
17	<i>Phormidium</i> sp. MBIC10210 (AB183567)	0.002 154	0.000 393	2.89E -05	0.003 502	0.000 383	0.004 059	0.007 56	0.000 885	0.001 804	0.001 087	0.000 974	0.014 057	8.31E -05
47	<i>Phormidium angustissimum</i> NIES-2123(LC319782)	0 0	0 0	2.89E -05	0 0	7.51E -06	2.96E -05	0.000 243	2.19E -05	4.59E -06	3.58E -05	0.000 127	0.034 194	0.001 406
50	<i>Phormidium terebriforme</i> UAM 409 (JN382221)	6.93E -06	2.24E -05	2.89E -05	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	2.39E -05	0.001 285	0.002 795	0.028 29
81	<i>Arthrospira platensis</i> GMPB1 (KX279416)	0.000 139	2.24E -05	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0.010 96	9.18E -06	0.035 594	2.53E -05	1.26E -05	0 0
90	<i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> SAG 2209 (NR_125521)	0 0	0.000 572	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	2.19E -05	0.020 818	3.58E -05	3.26E -05	0.002 323	0 0
174	<i>Limnothrix</i> sp. Osci-BM-01 (MG762091)	0 0	4.49E -05	2.89E -05	0 0	0 0	0.001 037	0.000 28	5.85E -05	0.000 45	7.16E -05	0.000 29	0.007 988	0.003 38
208	<i>Phormidium</i> sp. MBIC10210 (AB183567)	0.003 553	0.001 234	0 0	0 0	0 0	2.96E -05	0 0	0.000 271	0.000 542	0.000 991	3.62E -05	7.55E -05	5.75E -05
383	<i>Planktothrix agardhii</i> PCC 7811 KM019972)	0 0	0 0	0 0	6.19E -05	0 0	5.93E -05	1.87E -05	7.32E -06	0 0	0 0	0.000 565	0.003 141	1.92E -05
432	<i>Spirulina major</i> 1LT27S06 (FM177505)	0 0	0 0	0 0	5.63E -06	0 0	0.009 718	0.008 792	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
509	<i>Arthrospira platensis</i> GMPB1 (KX279416)	0.000 817	0.000 617	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0.000 461	0.001 625	7.16E -05	3.62E -06	0.000 189	0.000 39

771	<i>Aphanothece clathrata</i> SAG 23.99 (KM020006)	2.08E-05	0.00037	0.000347	0	7.51E-06	0.002044	0.001027	0.001024	0.000248	0.000179	6.52E-05	0.000365	0.000102
1236	<i>Symploca atlantica</i> PCC 8002 (AB075997)	0	0.004958	0	0	0	0	0	0	0	0.000167	0	0	0
1436	<i>Leptolyngbya</i> sp. UMPCCC 1224 (KM218869)	2.08E-05	1.12E-05	0	0	0	0	3.73E-05	0	0.000376	1.19E-05	2.9E-05	4.41E-05	6.39E-05
1611	<i>Calothrix parasitica</i> NIES-334 (LC322121)	0	0.000101	0	0	0	0	0	7.32E-06	0	0	3.62E-06	6.29E-06	0
1646	<i>Gloeotheca</i> sp. PCC 6909 (KT354207)	0	0	0	0	0	0.000119	1.87E-05	0.000117	3.67E-05	1.19E-05	7.6E-05	5.67E-05	0
1671	<i>Phormidium lucidum</i> CY-012 (KC217548)	1.39E-05	5.61E-05	0	0	0	2.96E-05	0	0	0	0	2.53E-05	0.000472	0
1744	<i>Aphanothece clathrata</i> SAG 23.99 (KM020006)	0	0.000101	0.002025	0	0	0.000326	0.000187	7.32E-06	3.21E-05	1.19E-05	0	3.15E-05	1.28E-05
1747	<i>Phormidium lucidum</i> CY-012 (KC217548)	0	1.12E-05	0	0	0	0	0	0	4.59E-05	0	0	0	0
1913	<i>Leptolyngbya subtilissima</i> EcFYyyy700 (KC463197)	2.08E-05	0.000449	0.000665	0	1.5E-05	0.000533	1.87E-05	8.05E-05	4.59E-05	0.000167	7.24E-06	2.52E-05	6.39E-06
2006	<i>Leptolyngbya</i> sp. 51.1 (FJ769796)	0	0.001884	0	0	0	0	0	0	9.18E-06	2.39E-05	0	0	0
2013	<i>Spirulina major</i> 1LT27S06 (FM177505)	6.93E-06	1.12E-05	0	0	0	0	0	0	0.000184	2.39E-05	3.62E-06	0	2.56E-05
2336	<i>Plectonema terebrans</i> CCAP 1463/4 (AY768407)	0	8.97E-05	0.000521	0	0	5.93E-05	0	7.32E-06	0	0	0	0	0
2418	<i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 (AF132771)	0	0	5.79E-05	0	0	0.000415	0.000205	0	1.84E-05	2.39E-05	0	6.29E-06	0
2505	<i>Oscillatoria sancta</i> PCC 7515 (NR_114511)	0.000332	0	0	0	0	0	0	0	3.67E-05	0.000107	1.81E-05	0.000151	8.94E-05
2755	<i>Synechococcus</i> sp. MLCB (EF630354)	0	3.36E-05	2.89E-05	0	0	0.000474	0.000168	0.000161	0	0	3.26E-05	0.000214	1.92E-05
3993	<i>Halomicronema metazoicum</i> ITAC101 (GU220365)	0	0.000471	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

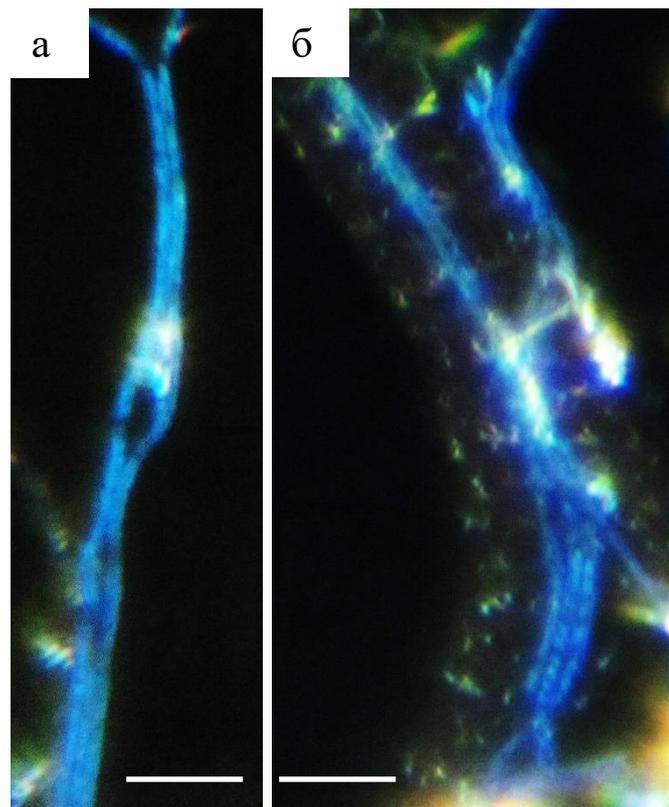
4764	<i>Symploca atlantica</i> PCC 8002 (AB075997)	0	0.001 043	0	0	0	0	0	0	0	0.000 119	0	0	0
5305	<i>Prochlorococcus marinus</i> (T) CCMP1375 (AE017126)	0	3.36E -05	0	0	1.5E- 05	0	0	0	3.21E -05	0	0	0	0
5332	<i>Synechococcus</i> sp. MLCB (EF630354)	0	0	0	0	0	0.000 119	0.000 261	0.000 139	0	0	0	5.67E -05	0
5335	<i>Planktothricoides raciborskii</i> NIES-207 (NR_040858)	0	0	0	0.000 659	7.51E -06	0.000 207	9.33E -05	0	0	0	0	6.29E -06	0
5386	<i>Spirulina major</i> 1LT27S06 (FM177505)	0	0	0	0	0	0	0	0	1.38E -05	2.39E -05	0	0	0.000 192
7797	<i>Xenococcus</i> sp. PCC 7307 (AB074510)	0	0	0	6.76E -05	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8992	<i>Chroococcus</i> sp. CAWBG101 (KU513781)	0	0	0	0	0	5.93E -05	0	0	3.67E -05	0.000 107	0	0	0
10056	<i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 (AF132771)	0	0	0	0	0	0	0	0	3.67E -05	0	0	0	1.28E -05
12310	<i>Synechococcus</i> sp. G2.1 (AY054298)	0	0	0	0	0	0.000 207	3.73E -05	2.93E -05	2.3E- 05	4.78E -05	0	1.26E -05	0
14971	<i>Pseudoanabaena minima</i> SABC031701 (KX818210)	0	0.000 482	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15014	<i>Geminocystis herdmanii</i> PCC 6308 (AB039001)	0	0	0	5.63E -06	0	8.89E -05	0	0	0	0	0	0	0
Bcero (%)		0.709 3%	1.302 2%	0.381 8%	0.724 1%	0.048 8%	2.020 6%	1.915 1%	1.966 6%	2.766 3%	4.062 0%	0.970 7%	12.41 80%	5.245 9%
	АНОБ													
79	<i>Candidatus Chlorothrix</i> <i>halophila</i> _Contig492.492 9..1494	0.000 928	0	0	0	0	0.000 296	1.87E -05	0.000 841	0.004 609	5.97E -05	0.001 137	0.015 53	0.000 575
1395	<i>Oscillochloris trichoides</i> DG-6 (AF093427)	0	0	0.002 198	0	0	0.000 178	0	0	4.59E -06	2.39E -05	0	0	1.28E -05
5457	<i>Candidatus Chlorothrix</i> <i>halophila</i> _Contig492.492 9..1494	0	0	0	0	0	0.000 207	0	0	0	0	0	0	0

8094	<i>Candidatus Chlorothrix halophila</i> _Contig492.492 9..1494	0	0	0	2.82E-05	0	8.89E-05	0.000317	0	0	0	0	0	0
Всего (%)		0.092 8%	0.000 0%	0.219 8%	0.002 8%	0.000 0%	0.077 0%	0.033 6%	0.084 1%	0.461 3%	0.008 4%	0.113 7%	1.553 0%	0.058 8%
	Зеленые серобактерии													
4	<i>Prosthecochloris phaeoasteroidea</i> ZM (KT339388)	0.172 942	4.49E-05	2.89E-05	0.000557	0.04445	0.000119	0.000112	0	0.000101	0	0	0	5.75E-05
6633	<i>Chlorobium phaeovibrioides</i> DSM 265 (NC 009337)	0	0	0	0	0	0	0.000205	0	0	0	0	0	0
Всего (%)		17.29 42%	0.004 5%	0.002 9%	0.055 7%	4.445 0%	0.011 9%	0.031 7%	0.000 0%	0.010 1%	0.000 0%	0.000 0%	0.000 0%	0.005 8%
	Пурпурные серобактерии													
368	<i>Thiorhodococcus kakinadensis</i> JA130 (NR_042526)	0.000388	0	0.000174	0.000512	0.00365	0.000178	0	0	9.18E-06	0	0	0	0
666	<i>Chromatium okenii</i> DSM 169 (AJ223234)	0	0	0.01562	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.39E-06
2028	<i>Lamprobacter modestohalophilus</i> Sivash (HQ877095)	1.39E-05	0.002131	0	0	0	0	1.87E-05	0.000146	4.59E-06	2.39E-05	1.09E-05	3.78E-05	6.39E-06
2169	<i>Thiocapsa marina</i> 5811 (AF112998)	0	0.000471	0.000289	3.94E-05	5.26E-05	0.000444	0	0	0	0	1.09E-05	0	0
4575	<i>Thiohalocapsa halophila</i> DSM 6210 (AJ002796)	0	0	0	0	0	0.000385	0.000112	0	0	7.16E-05	3.62E-06	1.26E-05	0
4836	<i>Thiorhodococcus mannitoliphagus</i> WS (NR_116894)	9E-05	0	0	1.13E-05	0	0	0	0	5.05E-05	2.39E-05	0	0	1.28E-05
9535	<i>Thiocystis gelatinosa</i> DSMZ 215 (Y11317)	0	0	0.000145	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Всего (%)		0.049 2%	0.260 2%	1.622 7%	0.056 3%	0.370 2%	0.100 7%	0.013 1%	0.014 6%	0.006 4%	0.011 9%	0.002 5%	0.005 0%	0.002 6%
	Несерные пурпурные													

		бактерии													
190	<i>Rhodoferax antarcticus</i> ANT.BR (GU233447)	6.93E-06	1.12E-05	0.0479	0.001599	0.000758	0.000178	7.47E-05	0	4.59E-06	3.58E-05	0	1.26E-05	0.000319	
2630	<i>Roseospira visakhapatnamensis</i> JA131 (AM282560)	1.39E-05	3.36E-05	5.79E-05	0	0	0.000148	0	0.000139	0.000689	0	0.000148	5.04E-05	0.000198	
15736	<i>Rhodobacter ovatus</i> JA234 (NR_115057)	6.93E-06	0	0.000231	5.63E-06	0	5.93E-05	0	0	0	0	5.79E-05	0	3.83E-05	
5604	<i>Rhodoferax ferrireducens</i> DSM 15236 (CP000267)	0	0	0	3.38E-05	5.26E-05	0.000326	1.87E-05	1.46E-05	0	0	0	0	5.11E-05	
12442	<i>Rhodovulum bhavnagarensis</i> JA738 (FR828479)	0	0	0	0	0.00012	0	0	0	0	0	0	0	0	
Всего (%)		0.0028%	0.0045%	4.8189%	0.1639%	0.0931%	0.0711%	0.0093%	0.0154%	0.0693%	0.0036%	0.0206%	0.0063%	0.0607%	
		Аэробные АФБ													
718	<i>Roseicyclus mahoneyensis</i> ML6 (AJ315682)	2.08E-05	0.000258	0	0	2.25E-05	0.000178	0.000224	0.001968	0.000142	0.000263	7.24E-05	0.000107	1.28E-05	
811	<i>Erythrobacter aquimaris</i> SW-110 (AY461441)	7.62E-05	0.000258	0	5.63E-06	0	0	0.000131	0.000198	0.000734	1.19E-05	5.79E-05	0.000151	1.28E-05	
8116	<i>Erythrobacter gangjinensis</i> K7-2 (NR_116318)	0	0	0	0	0	5.93E-05	0	0	0	0	0	0	0	
9683	<i>Erythrobacter longus</i> DSM 6997 (AF465835)	0	0	0	0	0	0	0	1.46E-05	0	0	0	0	0	
11233	<i>Erythrobacter aquimaris</i> SW-110 (AY461441)	0	0	0	0	0	0	3.73E-05	0	9.18E-06	0	0	0	0	
3797	<i>Roseomonas lacus</i> TH-G33 (AJ786000)	0	0	2.89E-05	0	0	2.96E-05	0	0	0	3.58E-05	0	0	1.28E-05	
4253	<i>Roseobacter litoralis</i> ATCC 49566 (X78312)	2.08E-05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4267	<i>Porphyrobacter sanguineus</i> IAM 12620 (AB021493)	6.93E-06	3.36E-05	0	1.13E-05	0	0.000237	0	0.000176	0	3.58E-05	6.52E-05	0.000126	1.28E-05	

13478	<i>Porphyrobacter sanguineus</i> IAM 12620 (AB021493)	0	1.12E-05	0	0	0	0	0	0	0	0	1.09E-05	1.26E-05	0
5699	<i>Blastomonas aquatica</i> PE4-5 (KJ528316)	0	1.12E-05	0	0	0	0.000119	0	0	1.84E-05	1.19E-05	0	1.26E-05	0
13553	<i>Sandaracinobacter sibiricus</i> RB16-17 (Y10678)	0	0	0	0	0	0	3.73E-05	0	0	0	0	0	0
7630	<i>Roseovarius nanhaiticus</i> NH52J (FJ403243)	0	0	0	1.69E-05	3E-05	0	0	0.000176	0	0	0	0	0
Всего (%)		0.0125%	0.0572%	0.0029%	0.0034%	0.0053%	0.0622%	0.0429%	0.2531%	0.0904%	0.0358%	0.0206%	0.0409%	0.0051%
Всего парных чтений		144372	89156	34572	177593	133160	33752	53574	136685	217840	83751	276184	158858	156521

Приложение Б



Морфология АНФБ в неокрашенном препарате в отраженном свете в темном поле. АНФБ, содержащие хлоросомы и бактериохлорофилл *c*, выглядят голубыми (а, б). Трихомы цианобактерий не имеют хлоросом и практически не отражают свет (б) (Кузнецов, Дубинина, 1989). Масштаб 10 мкм.