

ИСТОРИЯ БЕЛОГО МОРЯ В ПАЛЕОАРХИВАХ ОЗЕР И БОЛОТ ЕГО ПОБЕРЕЖЬЯ

УДК 574.583:551.468.3

СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ПЛАНКТОННЫХ СООБЩЕСТВ ФОТОТРОФНЫХ И МИКСОТРОФНЫХ ПРОТИСТОВ В ПРИБРЕЖНОЙ ЛАГУНЕ “ОЗЕРО КИСЛО-СЛАДКОЕ” (БЕЛОЕ МОРЕ, КАРЕЛЬСКИЙ БЕРЕГ)

© 2022 г. А. О. Плотников^{a, *}, Е. А. Селиванова^a, Ю. А. Хлопка^a, Д. А. Воронов^b, Д. Н. Маторин^c,
Д. А. Тодоренко^c, Е. Д. Краснова^c

^aИнститут клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

^bИнститут проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

^cМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: protoz@mail.ru

Поступила в редакцию 11.04.2022 г.

После доработки 31.07.2022 г.

Принята к публикации 18.08.2022 г.

В меромиктическом водоеме российского побережья Арктики на примере лагуны “озеро Кисло-Сладкое” впервые методом ДНК метабаркодинга определены таксономический состав и вертикальная структура сообществ фототрофных протистов (ФП). На разных глубинах измерены температура, соленость, концентрация кислорода, рН, Eh, освещенность и функциональные параметры флуоресценции хлорофилла. Выявлено 140 операционных таксономических единиц ФП, относящихся к макротаксонам Dinoflagellata, Chlorophyta, Cryptophyta, Naptophyta, Ochrophyta, Cercozoa. ФП преобладали над гетеротрофными протистами на глубинах 0–1.0 и 2.5–3.5 м, достигая максимума в хемоклине, особенно в горизонте 3.0 м, над редокс-переходом. Таксономический состав ФП в разных слоях различался согласно гидрологической и гидрохимической стратификации. Кроме абиотических факторов на состав и распределение ФП влияли хищные протисты: церкозойный жгутиконосец *Ebria tripartita* и динофлагеллята *Oxvrrhis marina*, которые при массовом размножении значительно снижали обилие ФП. Выявлено 5 слоев, характеризующихся разными доминирующими комплексами ФП. Поверхностный слой опресненной воды 0–0.5 м характеризовался доминированием криптофитовых *Teleaulax* sp. и *Hemiselmis cryptochromatica*. Активность фотосинтеза фитопланктона здесь была ниже по сравнению с нижележащими слоями, что, по-видимому, определялось фотоингибированием. В слое морской воды 1.0–2.0 м ниже пикноклина доминировали Chlorophyta, типичные для пикопланктона северных морей, а также представители криптофитовых, гаптофитовых, пединеллид, диатомовых. Сообщество ФП на нижней границе оксиклина (2.5 м) имело специфическую структуру с массовым развитием миксотрофной динофлагелляты *Heterocapsa rotundata*, для которой здесь формировались наиболее благоприятные условия, способствующие переходу с фотосинтеза на фаготрофное потребление бактерий. В хемоклине зарегистрирован максимум хлорофилла, образованный криптофитовыми *Rhodomonas* sp., демонстрирующий высокие показатели эффективности фотосинтеза, несмотря на присутствие сероводорода и низкую освещенность. В более глубокой анаэробной зоне, по-видимому, сохранялись цисты и ДНК отмерших протистов, останки которых осели в придонные слои.

Ключевые слова: Белое море, прибрежные меромиктические водоемы, отделяющиеся водоемы, фототрофные протисты, фитопланктон, флуоресценция хлорофилла, ДНК метабаркодинг, высокопроизводительное секвенирование

DOI: 10.31857/S2587556622060127

ВВЕДЕНИЕ

На побережье Кандалакшского залива Белого моря обнаружено более двух десятков прибрежных водоемов, в разной степени изолированных от моря, общей чертой которых является устойчивая вертикальная стратификация, обусловленная взаимодействием морских вод и пресного

стока (Краснова, 2021; Краснова и др., 2016; Шапоренко и др., 2005). Некоторые из них могут быть отнесены к меромиктическим, поскольку плотностная стратификация в них сохраняется многие годы (Краснова и др., 2016; Лосюк и др., 2021; Lunina et al., 2016). По общепринятой классификации (Lewis, 1983) они соответствуют экто-

генным водоемам прибрежного морского типа (Ib). В районах, испытывающих поднятие берега, к каковым относится беломорское побережье (Романенко, Шилова, 2012), меромиксия – закономерная стадия эволюции водоемов, отделившихся от моря (Nakala, 2004). Меромиктические водоемы представляют собой интересный для науки и пока недостаточно изученный феномен. В пределах одного водного объекта одновременно есть несколько различающихся экологических сообществ, расположенных одно над другим, и связанных потоками вещества и энергии. В верхнем слое, именуемом миксолимнионом и подверженном перемешиванию, присутствует сообщество живых организмов, аналогичное таковым в других водоемах той же климатической зоны. Нижний, не охваченный циркуляцией слой, мнимолимнион, в силу изоляции от атмосферы и накопления органических веществ автохтонного и аллохтонного происхождения лишен кислорода, там формируется сообщество анаэробных организмов с главенствующей ролью бактерий, осуществляющих разнообразные, преимущественно диссимилиационные, биогеохимические циклы. Между ними располагается градиентная зона, на которую приходится максимум первичной продукции за счет массового развития аноксигенных фототрофных бактерий (Саввичев и др., 2014; Goglenko et al., 1978). Продуцируемое ими органическое вещество потребляется преимущественно гетеротрофными бактериями и протистами, а также миксотрофными протистами, способными переключаться с фотосинтеза на усвоение готовых органических веществ, в том числе путем эндоситоза бактерий (Krasnova et al., 2018).

В экосистеме меромиктических водоемов определяющую роль играют микроорганизмы. Для изучения биоразнообразия и оценки таксономического состава их сообществ хорошо зарекомендовал себя метагеномный анализ, основанный на секвенировании тотальной ДНК, выделенной из природного биотопа. ДНК метабаркодинг, являющийся разновидностью метагеномного анализа, основан на определении таксономического состава микроорганизмов по коротким фрагментам ДНК, получаемым путем амплификации варибельного таксон-специфичного участка гена (как правило, малой субъединицы рРНК), с последующим высокопроизводительным секвенированием. Целевое секвенирование варибельного участка ДНК позволяет дифференцировать таксоны разного уровня (от филы до рода, иногда даже до вида). В отличие от других генов, последовательности гена малой субъединицы рРНК наиболее популярны для ДНК метабаркодинга широкого круга разных таксонов про- и эукариот и депонированы в международных базах данных EMBL-EBI, GenBank и др. Метагеномный ана-

лиз, включая ДНК метабаркодинг, все чаще используют для оценки разнообразия бактерий в меромиктических водоемах (Casamayor et al., 2000; Lauro et al., 2010; Inceoglu et al., 2015; Baatar et al., 2016; Salmaso, 2019 и мн. др.), однако в нашей стране такие работы пока единичны (Savvichev et al., 2018, 2020). Этот метод перспективен для изучения состава фитопланктона (Abad et al., 2016; Dzhembekova et al., 2018; Trefault et al., 2021), особенно самой мелкой его фракции – пикофитопланктона (Белевич, Милютина, 2022), а также для других протистов (Gran-Stadniczeŭko et al., 2018).

Что же касается водоемов с четкой вертикальной стратификацией, то метагеномные исследования сообществ эукариот в них пока единичны (Jeunen et al., 2019). В данной статье мы впервые приводим результаты оценки методом ДНК метабаркодинга таксономического состава фотосинтезирующих протистов (одноклеточных эукариот) в разных слоях одной из беломорских прибрежных стратифицированных лагун под названием “озеро Кисло-Сладкое”.

В водоемах с вертикальной стратификацией условия обитания для микроорганизмов существенно различаются в разных слоях. Массовое развитие отдельных представителей фитопланктона возле редокс-границы происходит в условиях значительного затенения и при диффузии сероводорода снизу (Krasnova et al., 2018). В связи с этим встают вопросы о физиологическом состоянии микроводорослей в этой зоне, а также о ее роли как источника первичной продукции для экосистемы в целом. Определение параметров флуоресценции хлорофилла служит удобным методом оценки обилия фитопланктона и его фотосинтетической активности (Маторин, Рубин, 2012; Suggett et al., 2011). Комбинация современных методов ДНК метабаркодинга с оценкой функциональных характеристик фотосинтеза методами флуориметрии позволила получить комплексную объективную оценку таксономической структуры и функционирования фототрофных протистов на разных горизонтах стратифицированного водоема.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описание лагуны “озеро Кисло-Сладкое”

В окрестностях Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова МГУ имени М.В. Ломоносова (ББС МГУ) оз. Кисло-Сладкое (66°32.87' с.ш.; 33°08.14' в.д.) было первым исследованным водоемом из числа отделяющихся от Белого моря (Шапоренко и др., 2005). Озеро Кисло-Сладкое представляет собой лагуну с площадью водного зеркала 1.78 га, которая сообщается с морем через каменистый порог, высота которого

на 40 см выше уровня среднего прилива (Краснова и др., 2016). Поэтому большую часть времени течение на пороге направлено из озера к морю. Морская вода поступает в озеро только во время сизигийных приливов, небольшими порциями. Зимой водоем может оказываться в полной изоляции от моря из-за ледового барьера.

Средняя глубина около 1 м, максимальная 4.5 м. В летнее время озеро стратифицировано. Поверхностный слой воды до глубины 1 м, которой ограничивается ветровое перемешивание, опреснен. Соленость в нем минимальна весной после таяния снега и льда (4–8‰) и постепенно возрастает к осени, приближаясь к солености воды на прилегающей морской акватории (22–25‰). Ниже располагается соленая вода, которая, в силу изоляции от атмосферы, практически не обменивается с ней теплом и газами. Из-за этого в летнее время в слое воды под термоклином образуется погруженный максимум температуры, а кислород, выработанный в ходе фотосинтеза фитопланктоном, может накапливаться, достигая концентраций, в 1.5–3 раза превышающих насыщение. В нижней части водоема, в силу стагнации, складываются анаэробные условия, активизируется бактериальная сульфатредукция (Саввичев и др., 2014) и накапливается сероводород, концентрация которого измеряется единицами и десятками мг/л, а иногда доходит до 100 мг/л (Лосюк и др., 2021).

Граница между аэробной и анаэробной зонами в разные годы может находиться на разной глубине. Летом 2018 г., когда отбирали пробы для данного исследования, она была на глубине 3.1–3.2 м. В зоне хемоклина (градиентной зоне между аэробной и анаэробной зонами) в течение нескольких предшествующих лет, а также летом 2018 г., существовала 10-сантиметровая прослойка воды красно-бурого цвета с массовым развитием криптофитовых жгутиконосцев *Rhodomonas* sp., генетически сходных с представителями этого рода из моря Бофорта (Краснова и др., 2014).

Отбор проб и измерение гидрологических характеристик

Полевые работы были выполнены летом и осенью 2018 г. Для исследования фитопланктона пробы были отобраны 6 июля; параметры фотосинтеза измеряли 1 сентября. Одновременно определяли основные гидрологические параметры. Температуру и соленость воды измеряли кондуктометром-зондом WTW Cond 3110 (Германия), концентрацию растворенного в воде кислорода регистрировали диффузионным оксиметром-зондом “MARK 302 E” (Россия). Реакцию среды (pH) и окислительно-восстановительный потенциал (Eh) определяли портативным определителем ка-

чества воды WaterLiner WMM-73 (Тайвань) с соответствующими электродами в пробах воды, отобранных на разной глубине с помощью погружного насоса Whale Premium Submersible Pump GP1352 (США) с размеченным кабелем, по вертикали через каждые 0.5 м, а в зоне хемоклина через 0.1 м. Освещенность на разной глубине *in situ* измеряли бытовым люксметром LuxLiner LMI-20 (Китай), модифицированным для погружения под воду. Все измерения и отбор проб производили над самой глубокой точкой водоема с использованием лодки.

Для ДНК метабаркодинга фитопланктона были отобраны пробы со следующих глубин: 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.1, 3.5 и 4.0 м. На глубине 2.5 м вода имела коричневатый цвет и затхлый запах; проба с глубины 3.0 м имела более сильный запах и была окрашена в красно-бурый цвет, характерный для цветения *Rhodomonas* (Краснова и др., 2014). Глубина 3.0 м соответствовала верхней части хемоклина (с положительным Eh). На глубине 3.1 м Eh изменил знак на отрицательный, появился запах сероводорода, и вода стала бесцветной; этот горизонт соответствует нижней (анаэробной) части хемоклина. Глубины 3.5 и 4.0 м приходились на анаэробную зону. Таким образом были охвачены все экологические зоны, характерные для мезомикробических водоемов с сульфидной аноксией.

Образцы воды отбирали в одноразовые пластиковые бутылки объемом 500 мл. В течение 6 часов после отбора образцы последовательно фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор 2.4–4.5 и 0.45 мкм, в лаборатории ББС МГУ. Фильтры помещали в стерильные пластиковые пробирки типа Эппендорф с 200 мкл раствора консерванта DNA/RNA Shield (Zymo Research, США) и транспортировали в Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН (ИКВС УрО РАН) (г. Оренбург). Все последующие этапы работы с ДНК и анализ данных секвенирования выполняли в Центре коллективного пользования научным оборудованием “Персистенция микроорганизмов” Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН. Кроме того, сразу после отбора проб производилось их микрокопирование под микроскопом Leica DM2500 в режиме светлого поля, интерференционного контраста и флуоресценции с набором фильтров N2.1 (возбуждение/пропускание 515–560/580 нм).

Параметры флуоресценции хлорофилла регистрировали в пробах, отобранных погружным насосом, в день отбора с помощью флуориметра Water-PAM (Walz, Effelrich, Германия). Перед измерением пробы воды с фитопланктоном адаптировали в темноте в течение 15 мин. Регистрировали параметр флуоресценции F_0 (постоянную флуоресценцию при слабом освещении) в усло-

виях, когда все центры фотосинтеза открыты и флуоресценция минимальная. Использование короткой насыщающей вспышки света (в течение 0.8 сек с интенсивностью 3000 мкмоль квантов/м² с) позволяло полностью закрывать реакционные центры фотосистемы II и выключать фотосинтез. В этих условиях флуоресценция достигает максимального уровня F_m . На основании измеренных уровней флуоресценции F_m и F_o рассчитывали $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ – максимальный квантовый выход разделения зарядов в фотосистеме II (ФС II) (Schreiber, 2004). Параметр флуоресценции F_v/F_m позволяет определить максимальную эффективность процессов фотосистемы II, связанную с разложением воды и выделением кислорода. F_v/F_m может варьировать от 0 (отсутствие активности) до 0.8 (максимальная активность в оптимальных условиях); у большинства клеток водорослей максимальное значение F_v/F_m составляет около 0.65–0.70 (Falkowski and Raven, 2007). Этот параметр применялся при исследованиях водорослей во многих работах (Falkowski and Raven, 2007; Schreiber, 2004; Suggett et al., 2011). Обозначения параметров флуоресценции приведены в соответствии с общепринятой номенклатурой (Маторин, Рубин, 2012; Schreiber, 2004).

В настоящее время флуоресценция хлорофилла используется во многих океанологических зондах для изучения распределения фитопланктона по акватории и по глубине (Маторин, Рубин, 2012; Falkowski and Raven, 2007). Интенсивность флуоресценции водорослей пропорциональна поглощению света, что определяется содержанием пигментов, главным образом хлорофилла *a*. Обилие фитопланктона можно оценивать по величине интенсивности начальной флуоресценции – F_o , которая пропорциональна суммарному свето-собирающему комплексу (ССК) фитопланктона, содержащегося в единице объема воды (Маторин et al., 2004). После калибровки интенсивность флуоресценции F_o была использована для определения содержания хлорофилла *a* в пробах воды. Калибровка флуориметра в единицах концентрации хлорофилла *a* была проведена с помощью морских культур с разной плотностью – диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* ((*Contricribra weissflogii* (Grunow)) для поверхностных горизонтов и криптофитовой водоросли *Rhinomonas reticulata* (I.A.N.Lucas) G. Novarino для фитопланктона из слоя 3 м.

Выделение тотальной ДНК

Из фильтров тотальную ДНК выделяли комбинированным методом, включавшим механическую гомогенизацию в сочетании с методом ферментативного лизиса (Белькова, 2009). К образцам добавляли 400 мкл трис-солевого буфера

(20 ммоль/л ЭДТА, 750 ммоль/л NaCl, 100 ммоль/л Трис-HCl, pH 8.0) и гомогенизировали с помощью гомогенизатора TissueLyser LT (“Qiagen”, Германия) с использованием лизирующего матрикса E (“MP Biomedicals”, США) в течение 1 мин при частоте 50 Гц. После этого добавляли 50 мкл трис-солевого буфера с лизоцимом (50 мг/мл) и инкубировали 30 мин при 37°C. Затем в смесь вносили 10% раствор додецилсульфата натрия до конечной концентрации 1% и 3 мкл раствора протеиназы K (10 мг/мл), инкубировали 30 мин при 37°C. После экстракции фенол-хлороформом (1 : 1) и хлороформ-изоамиловым спиртом (24 : 1) ДНК в водной фазе очищали на колонках набором NucleoSpin gDNA Clean-up XS (“Macherey-Nagel”, Германия), элюировали в 25 мкл деионизированной автоклавированной воды. Для исключения контаминации использовали отрицательный контрольный образец, содержащий 100 мкл деионизированной автоклавированной воды. Качество ДНК оценивали с помощью электрофореза в 1% агарозном геле и фотометра NanoDrop 8000 (“Thermo Fisher Scientific Inc.”, США). Концентрацию ДНК определяли флуориметрическим методом с использованием прибора Quantus (“Promega”, США) и реагентов Quanti Fluor dsDNA (“Promega”, США).

Приготовление ДНК-библиотек и высокопроизводительное секвенирование

ДНК-библиотеки синтезировали в соответствии с протоколом Illumina (http://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf) с праймерами к варибельному участку V4 гена 18S рРНК UNonMet-PCR (18S-EUK581-F & 18S-EUK1134-R) (del Campo et al., 2019). Секвенирование проводили на платформе MiSeq (“Illumina”, США) с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit V3 PE600 (“Illumina”, США).

Биоинформатическая обработка данных секвенирования

Оценку качества чтения ридов проводили с использованием программы FastQC v0.11.9. На следующем этапе объединяли парно-концевые риды в контиги, используя программу PEAR v0.9.10 (Zhang et al., 2014). С помощью программы USEARCH v9.0.1623_win32 (Edgar, 2010) осуществляли фильтрацию объединенных ридов по качеству и длине, используя команду `fastq_filter` с параметрами: `-fastq_maxee 1.0` (максимально ожидаемая ошибка не превышает 1%); `-fastq_minlen 280` (минимальная длина рида – 280 н.п.). Формирование операционных таксономических единиц

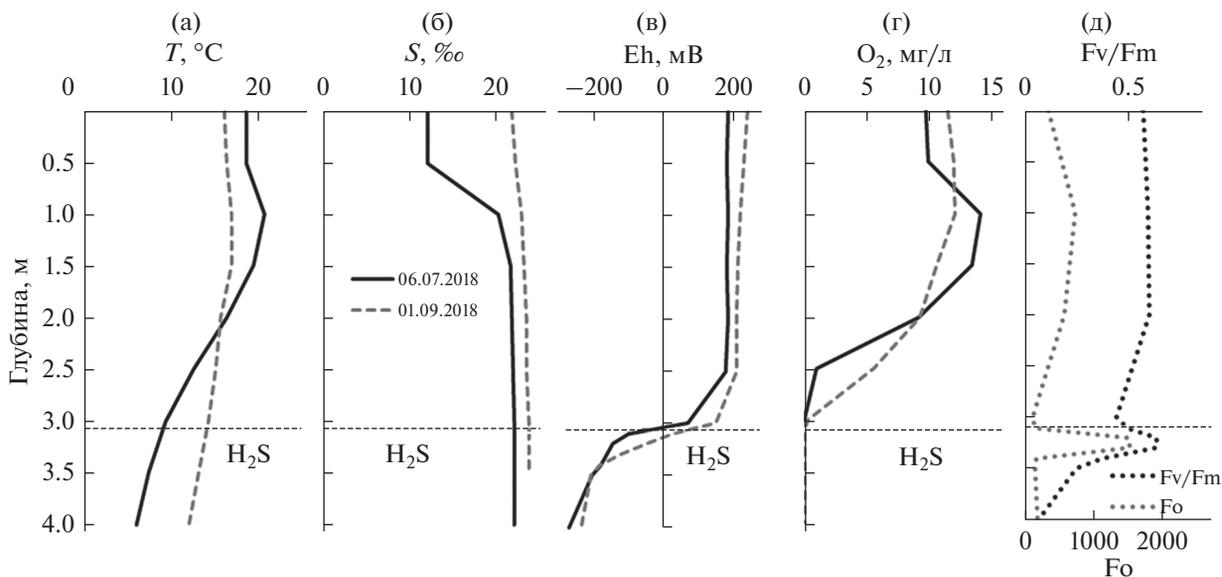


Рис. 1. Вертикальные профили основных гидрологических параметров в оз. Кисло-Сладкое в июле и сентябре 2018 г.: (а) температура, (б) соленость, (в) окислительно-восстановительный потенциал, (г) концентрация кислорода, (д) параметры флуоресценции хлорофилла *a* в сентябре 2018 г. F_o – интенсивность флуоресценции, отражающая обилие фитопланктона, F_v/F_m – квантовый выход флуоресценции, связанный с функциональным состоянием фотосинтетического аппарата.

(ОТЕ) проводили путем последовательной дерепликации и кластеризации на уровне 97%, используя алгоритм UPARSE (Edgar, 2013). В процессе кластеризации удаляли химерные последовательности. Для оценки количественной представленности полученных ОТЕ в образцах применяли глобальное выравнивание последовательностей ОТЕ на первоначальные объединенные риды с помощью команды `-usearch_global`. Из полученных данных исключали синглтоны и даблтоны (последовательности, встречающиеся однократно или дважды). Таксономическую идентификацию полученных ОТЕ определяли с помощью базы данных PR2, release 4.13 (Guillou et al., 2013). Полученная таксономическая принадлежность ОТЕ в дальнейшем использовалась для обозначения последних в тексте статьи. Дополнительно ОТЕ с низкой поддержкой выравнивали на базу данных nr/nt (NCBI). Для последующего анализа из библиотек были удалены ОТЕ, соответствующие ДНК прокариот, высших растений, животных, грибов и гетеротрофных протистов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гидрологические параметры

В июле и в начале сентября в оз. Кисло-Сладкое наблюдалась характерная для этого водоема вертикальная стратификация (рис. 1 и 2). Соленость поверхностного слоя 0.5 м в июле составляла 12‰, к сентябрю увеличилась до 20‰ за счет по-

степенного стока опресненного слоя в море и подмешивания к нему нижележащей соленой воды.

На глубине 0.5–1 м располагался пикноклин. Начиная с глубины 1 м толща воды была соленой с концентрацией солей более 20‰, а с 3 м и ниже вода была однородной по солености – 22‰.

Температурная стратификация в июле соответствовала мезотермии, характерной для соленых стратифицированных водоемов в период интенсивной инсоляции (Yoshimura, 1937). Возле поверхности температура была 18.6°C, под пикноклином повышалась на 2 градуса, а возле дна достигала 6.1°C. К сентябрю профиль температуры выровнялся, верхняя половина озера охладилась по сравнению с июлем на 2 градуса, а нижняя прогрелась до 12–14°C.

Граница аэробной и анаэробной зон проходила на глубине 3.0–3.2 м. Различие в 20 см обусловлено сезонной изменчивостью уровня озера.

В июле наблюдалось характерное для соленых водоемов с вертикальной стратификацией накопление под пикноклином растворенного кислорода до концентрации, превышающей уровень насыщения. На глубине 1.0–1.5 м его концентрация составляла 13.4–14.1 мг/л (146–158% насыщения). На глубине 2.0–2.5 м формировался оксиклин, где концентрация кислорода резко снижалась почти в 10 раз, с 9.22 до 0.97 мг/л.

Застойные явления в нижней части водоема благоприятствовали постепенному закислению воды по направлению ко дну: если возле поверх-

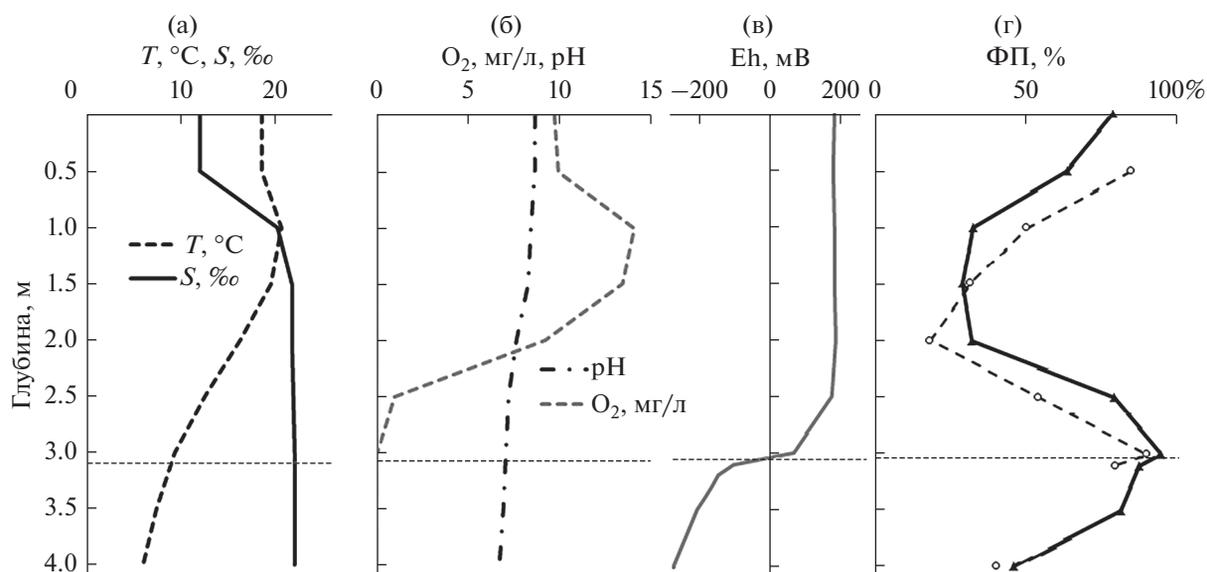


Рис. 2. Вертикальные профили гидрологических параметров в июле 2018 г.: (а) температура и соленость; (б) рН и концентрация растворенного кислорода; (в) окислительно-восстановительный потенциал; (г) доля ридов (%), принадлежащих фотосинтетическим таксонам (ФП) в сообществе протистов по данным ДНК метабаркодинга на разных глубинах оз. Кисло-Сладкое: сплошная линия – доля ридов ФП в 2.4–4.5 мкм фракции, прерывистая линия – то же в 0.45 мкм фракции.

ности рН была слабощелочной (8.6), также, как на соседней морской акватории, то возле дна она была слабокислой (6.2–6.5).

По измерениям освещенности под водой в начале июля до глубины 1 м доходило около 20% световой энергии, то есть большая часть энергии теряется уже возле поверхности. Лишь 10% проникало до глубины 1.7 м. Глубина, до которой доходит 1% солнечного света, и которую принято считать границей компенсационной зоны, где выработка кислорода фитопланктоном эквивалентна расходу на его дыхание, находилась на глубине 2.8 м. На глубине редокс-границы (3.1 м) освещенность составляла 21 лкс, что соответствовало 0.04% освещенности на поверхности воды. Начиная с глубины 3.5 м условия были афотическими даже при солнечной погоде.

В июле и в сентябре 2018 г. вертикальная зональность оз. Кисло-Сладкое была одинаковой. Выделяется три основные зоны и переходные слои между ними. Поверхностному опресненному слою (до глубины 0.5 м) свойственны наибольшие сезонные колебания температуры и солености. Под ним находится узкий пикноклин. В середине водной толщи между 1.0 и 2.5 м расположен защищенный от конвекции соленый слой, в июле перенасыщенный кислородом и с локальным погруженным максимумом температуры. Слой между 2.5 и 3.1–3.2 м (3.1–3.3 м в сентябре) представляет собой хемоклин, внутри которого проходит редокс-граница (3.0–3.1 м в июле, 3.1–3.3 м

в сентябре 2018 г.). Анаэробная зона расположена ниже глубины 3.1–3.3 м до дна.

Параметры флуоресценции хлорофилла

Вертикальное распределение параметров флуоресценции по глубине в оз. Кисло-Сладкое в сентябре 2018 г. (см. рис. 1) хорошо согласуется с вертикальной зональностью водоема.

Выделяется три горизонта с относительно низкими значениями F_0 и слабой активностью фотосинтеза: 1) поверхностный опресненный слой воды. Концентрация хлорофилла *a*, рассчитанная по F_0 , здесь составляет 0.73 мкг/л, такой его уровень характерен для поверхностных беломорских вод (Белевич, Ильяш, 2019; Ильяш и др., 2011); 2) узкая прослойка над хемоклином выше зоны цветения криптофитовых жгутиконосцев *Rhodomonas* sp. По данным микроскопии в сентябре 2018 г. там концентрировалось большое количество хищных динофлагеллят *Oxvrrhis marina*, которые питаются мелким фитопланктоном, в том числе клетками *Rhodomonas* sp.; 3) анаэробная зона, где квантовый выход флуоресценции падает почти до нуля: здесь живые фототрофы с хлорофиллом *a* представлены единичными клетками или цистами.

Более высокие значения F_0 отмечены: 1) под пикноклином на глубине 1–2 м, что свидетельствует об увеличении количества фитопланктона, 2) в красном слое воды на уровне 3 м, где зарегистрированы максимальные значения F_0 (в пересчете на хлорофилл 1.8 мкг/л) и F_v/F_m (0.64) при

Таблица 1. Параметры флуоресценции хлорофилла на разной глубине в оз. Кисло-Сладкое в разные годы

Глубина	28.08.2014		3.09.2015		25.08.2017		1.09.2018	
	Fo	Fv/Fm	Fo	Fv/Fm	Fo	Fv/Fm	Fo	Fv/Fm
0.5 м	916 ± 40	0.29 ± 0.01	994 ± 62	0.5 ± 0.03	500 ± 20	0.35 ± 0.03	734 ± 15	0.57 ± 0.03
Над хемоклином	25261 ± 101	0.77 ± 0.02	1657 ± 28	0.7 ± 0.02	1500 ± 12	0.54 ± 0.03	1492 ± 32	0.63 ± 0.03
Под хемоклином	6990 ± 71	0.38 ± 0.02	122 ± 2	0.4 ± 0.02	1010 ± 11	0.3 ± 0.02	167 ± 10	0.37 ± 0.02

Примечание. Fo – интенсивность флуоресценции, отражающая концентрацию хлорофилла и обилие фитопланктона, Fv/Fm – квантовый выход флуоресценции, связанный с функциональным состоянием фотосинтетического аппарата.

крайне низкой освещенности и отрицательном Eh. Такие значения Fv/Fm характерны для водорослей, находящихся в благоприятных условиях культивирования (Falkowski and Raven, 2007).

Исследования предыдущих лет показали, что в 2014–2019 гг. в летнее время наблюдалось сходное вертикальное распределение показателей флуоресценции фитопланктона (табл. 1). В поверхностном слое Fo и Fv/Fm всегда значительно ниже, по сравнению с хемоклином, что указывает на возможное фотоингибирование (Тодоренко, 2019). На верхнюю часть хемоклина всегда приходится максимум концентрации хлорофилла *a* и показателя Fv/Fm. Высокая эффективность первичных процессов фотосинтеза связана с благоприятными условиями для доминирующих в этом слое криптофитовых водорослей (Тодоренко и др., 2019; Чеканов, Краснова, 2019). Таким образом, данные многолетних исследований свидетельствуют о повторяемости закономерностей вертикального распределения фитопланктона и их фотосинтетической активности.

Таксономический состав и вертикальная структура сообществ ФП по данным ДНК метабаркодинга

Таксономический состав автотрофных и миксотрофных протистов оценивали на глубинах 0–4.0 м по данным высокопроизводительного секвенирования ампликонов варибельного фрагмента V4 гена 18S рРНК. Ампликоны получали из тотальной геномной ДНК клеток, полученных при фильтрации воды через мембранные фильтры с разным диаметром пор. При этом отдельно секвенировали фракции эукариот, которые оседали на фильтрах с диаметром пор 2.4–4.5 и 0.45 мкм. Поскольку по данным секвенирования невозможно напрямую оценить концентрацию клеток фитопланктона, мы оценивали долю ридов (прочтений), принадлежащих автотрофным (Chlorophyta) и миксотрофным таксонам (Cryptophyta, Dinoflagellata, Nartophyta, Ochrophyta и Cercozoa) протистов среди всех ридов протистов в образце. Оказалось, что фототрофные протисты доминировали над гетеротрофными в поверхностных горизонтах от 0 до 1.0 м, и в соседствующих

с хемоклином горизонтах 2.5–3.5 м, достигая максимума над редокс-переходом на глубине 3 м (см. рис. 1). На этом горизонте, характеризовавшемся резким снижением освещенности (до 34 люкс) и концентрации кислорода (до 0), доля ридов, принадлежащих ФП, достигала максимума – 95.18 и 90.41% в 2.4–4.5 и 0.45 мкм фракциях соответственно. Интересно, что на глубинах 0–1.0 м доля ФП в 0.45 мкм фракции была выше, чем в 2.4–4.5 мкм фракции, тогда как на глубинах 2.0–3.0 м наблюдалось обратное соотношение. Указанные различия в количественных показателях фитопланктона по глубине могут свидетельствовать о том, что на разных глубинах доминируют разные таксоны фотосинтезирующих протистов.

Чтобы оценить различия в доминирующих комплексах ФП на разных глубинах, мы оценили долю ридов, принадлежащих каждому из шести обнаруженных макротаксонов, среди всех ридов ФП в секвенируемых образцах ДНК. Оказалось, что наибольшим относительным обилием, и соответственно долей сиквенсов, характеризовались зеленые водоросли Chlorophyta, а также миксотрофные протисты Cryptophyta и Dinoflagellata (рис. 3а, б). В частности, на долю Chlorophyta приходилось 82.39–57.78% ридов в 0.45 мкм фракции на хорошо освещенных глубинах 1.0–2.0 м (см. рис. 3б). Доля Cryptophyta составляла от 42.40 до 95.69% в 2.4–4.5 мкм фракции на всех глубинах, за исключением 2.5 м, где они были слабо представлены (9.13%), по-видимому в результате интенсивного выедания хищными протистами *Ebria tripartita* (см. рис. 3а). В 0.45 мкм фракции Cryptophyta доминировали на глубинах 0.5, 2.0 и 3.0–4.0 м, составляя 32.90, 34.84 и 95.11–83.14% соответственно (см. рис. 3б). Dinoflagellata достигали массового развития на горизонтах 0, 0.5 и 2.5 м, где на их долю приходилось 21.88, 19.41 и 77.35% в 2.4–4.5 мкм фракции (см. рис. 3а). В 0.45 мкм фракции на глубинах 0.5 и 2.5 м, их доля была еще выше, составляя 54.62 и 82.23% соответственно (см. рис. 3б). Морские одноклеточные водоросли Nartophyta в значительном количестве выявлялись в 2.4–4.5 мкм фракции в поверхностных горизонтах 0–2.0 м, составляя 1.75–7.81% (см. рис. 3а). Миксотрофные протисты Ochrophyta, включающие Bacillariophyta, Raphidophyceae, Bolidophyceae,

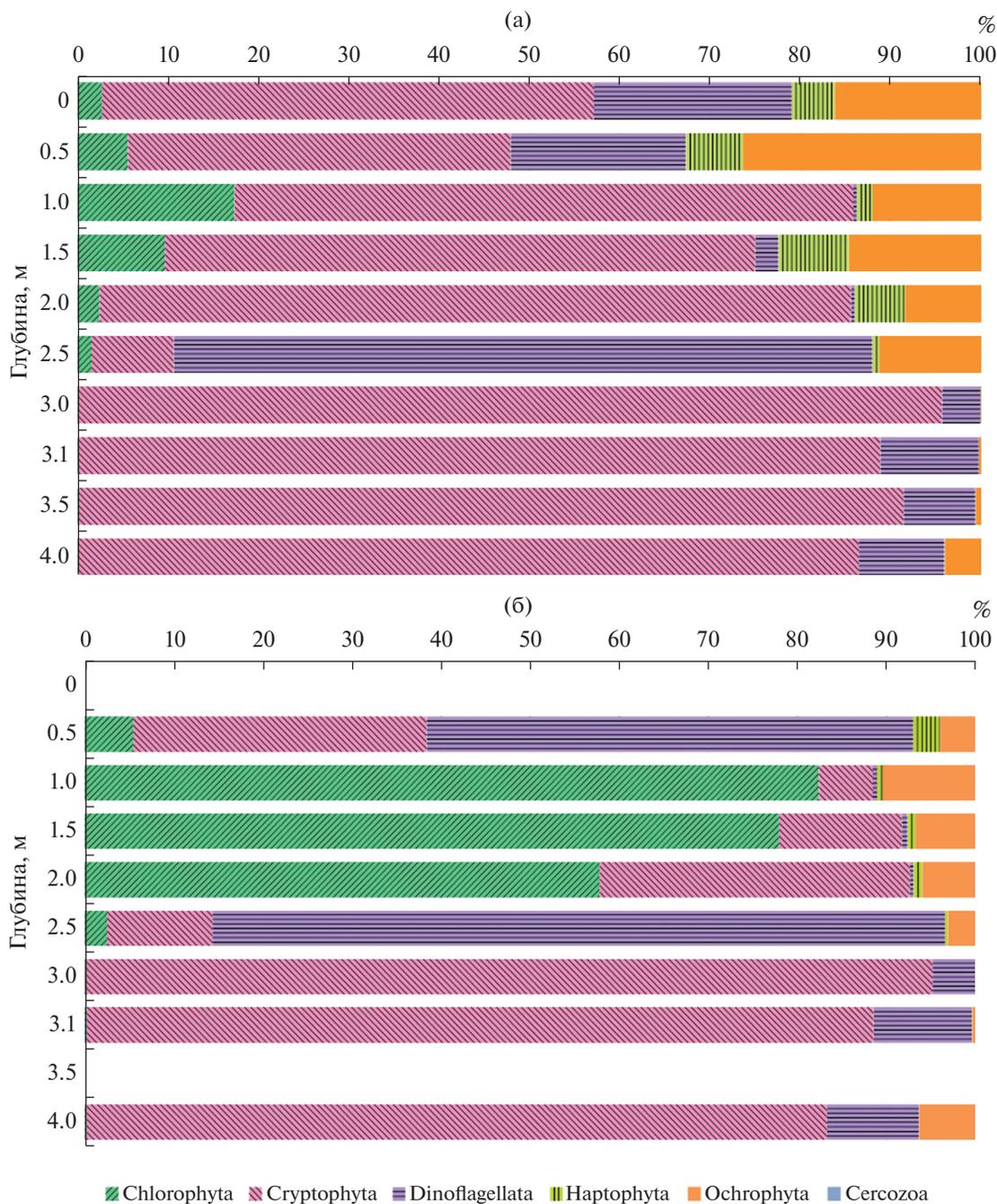


Рис. 3. Относительное обилие макротаксонов фотосинтезирующих протистов по данным высокопроизводительного секвенирования на разных глубинах оз. Кисло-Сладкое: (а) в 2.4–4.5 мкм фракции; (б) в 0.45 мкм фракции.

Chrysophyceae, Dictyochophyceae, занимали существенную долю в фитопланктоне на глубинах 0–2.5 м, максимально достигая 26.34% на 0.5 м в 2.4–4.5 мкм фракции и 10.47% на 1.0 м в 0.45 мкм фракции. Единственный фототрофный представитель Cercozoa – амебодный протист рода *Paulinella* встречался крайне редко на глубинах 1.0–2.0 м, где его доля не превышала 0.035%.

Чтобы оценить, насколько сильно различались комплексы доминирующих ФП на различных глубинах и в разных размерных фракциях, мы отобрали ОТЕ, на долю которых приходилось не менее 1% видов от всех ФП хотя бы в одной фракции одного образца. В итоге из 140 ОТЕ фототрофных протистов были выбраны 33 доминирующих, причем на их долю приходилось 97.09% видов ФП во всех образцах и фракциях.

Среди различных макротаксонов фототрофных протистов Dinoflagellata доминировали на всех глубинах, кроме 2.0 м. При этом одни таксоны предпочитали поверхностные горизонты, в частности *Prorocentrum triestinum*, *Prorocentrum* sp. и *Yihiella yeosuensis*, которые в массе размножались на глубинах 0–2.0 м, и отсутствовали в более глубоких слоях (табл. 2). Напротив, *Gymnodinium* sp. и *Heterocapsa rotundata* достигали массового развития на глубинах 2.5–3.1 м, причем *H. rotundata* достигала максимальных значений 73.81 и 79.25 на 2.5 м в 2.4–4.5 и 0.45 мкм фракциях соответственно. Три неидентифицированных ОТЕ Dinophyceae sp. 1, 2 и 3 достигали наибольших концентраций в придонных анаэробных слоях на глубинах 3.1–4.0 м.

Зеленые водоросли Chlorophyta достигали массового развития в хорошо освещенных слоях под пикноклином, от 1.0 до 2.5 м. Наибольших показателей относительного обилия достигали типичные представители морского пикопланктона, распространенные в северных морях России, такие как *Bathycoccus prasinus*, *Mantoniella* sp., *Picochlorum* sp. (Белевич, Милютин, 2022) и неидентифицированный ФП порядка Prasinococcales.

Аналогично представителям Dinoflagellata миксотрофные протисты Cryptophyta входили в состав доминирующих комплексов на всех глубинах. При этом одни таксоны, в частности *Teleaulax* sp. и *Hemiselmis cryptochromatica* занимали горизонты 0–2.5 м, достигая максимума на 2.0 м, тогда как *Rhodomonas* sp. концентрировались преимущественно в более глубоких слоях 3.0–4.0 м, составляя 81.03 и 80.40% в 2.4–4.5 и 0.45 мкм фракциях соответственно. В июле 2018 г. концентрация клеток *Rhodomonas* sp. под редокс-границей на уровне 3.1–3.3 м достигала максимальных величин, характерных для цветения, благодаря чему вода с этого горизонта была непрозрачной и имела насыщенный красно-бурый цвет.

Распределение доминирующих таксонов диатомовых водорослей по вертикали было неоднородным. В частности, диатомея *Cyclotella* sp. достигала массового развития в поверхностных слоях 0–2.5 м. Представители рода *Chaetoceros* достигали максимальной доли в сообществе ФП лишь на глубине 2.5 м. Что интересно, на глубине 4.0 м доля *Chaetoceros thronsdensei* также превысила 1%, а другая доминирующая на этой глубине диатомея *Minutocellus* sp. совсем не выявлена на горизонтах выше 3.1 м.

Рафидофитовая водоросль *Chattonella* sp. достигала массового развития в поверхностном слое 0.5 м, но встречалась и в более глубоких слоях в пределах до 2.5 м. Другие доминирующие ФП относились к типичным представителям пикопланктона северных морей (Белевич, Милютин, 2022), и

принадлежали макротаксонам Dictyochophyceae (*Florenciella parvula*, *Helicopedinella* sp., *Pedinellales* sp.), Haptophyta (*Chrysochromulina* sp., *Prymnesium* sp.) Bolidophyceae (Parmales sp.), Chrysophyceae (Chrysophyceae spp.). Данные ФП выявлялись в оз. Кисло-Сладкое только в поверхностных горизонтах 0–2.0 м, за исключением гаптофитовой водоросли *Isochrysis* sp., нижняя граница распространения которой достигала 2.5 м глубины.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Благодаря данному исследованию оз. Кисло-Сладкое стало первым из прибрежных меромиктических водоемов российской Арктики, где методом ДНК метабаркодинга подробно изучены таксономический состав и пространственная структура сообществ ФП – важных источников первичной продукции, с оценкой их фотосинтетической активности. Вертикальная зональность, которую определяют абиотические факторы, проявляется и в биотической стратификации. ФП в большом количестве присутствуют в водоеме по всей толще, но таксономический состав в разных гидрологических зонах различается. По таксономической структуре и параметрам фотосинтеза мы выявили пять типов сообществ ФП, последовательно расположенных друг под другом.

1. Миксолимнион – поверхностный слой 0–0.5 м, который характеризуется меньшей соленостью по сравнению с нижележащей водной массой и морем, широким диапазоном изменчивости термохалинных характеристик и максимальной инсоляцией. В этом слое доминируют криптофиты *Teleaulax* sp. и *Hemiselmis cryptochromatica*, составляющие в сумме 40–50% фототрофного сообщества, а также пединеллиды *Helicopedinella* sp. и *Pedinellales* sp., динофлагелляты *Prorocentrum* sp. и *Yihiella yeosuensis*, зеленая водоросль *Mantoniella* sp., гаптофитовые водоросли *Isochrysis* sp. и *Chrysochromulina* sp., рафидофитовая водоросль *Chattonella* sp., диатомея *Cyclotella* sp. Однако функциональные параметры ФП здесь ниже, чем в более глубоких слоях. Концентрация хлорофилла *a*, рассчитанная по его флуоресценции F_0 , соответствует значениям, характерным для поверхностных беломорских вод в этот сезон, а пониженная активность фотосинтеза в этом слое, определенная по F_v/F_m , по всей вероятности, связана с фотоингибированием.

2. Слой морской воды от 1.0 до 2.0 м, находящийся ниже пикноклина и не участвующий в вертикальной циркуляции. В этом слое, как и в миксолимнионе, доминируют мелкие криптофитовые *Teleaulax* spp. и *Hemiselmis cryptochromatica*, в меньшем количестве развиваются гаптофитовые *Isochrysis* sp., пединеллида *Pedinellales* sp. и диатомея *Cyclotella* sp. Характерной особенностью данного слоя является массовое развитие мелко-

Таблица 2. Относительное обилие (%) доминирующих ОТЕ фототрофных протистов в оз. Кисло-Сладкое на различных глубинах

Доминирующие ОТЕ	2.4–4.5 мкм фракция										0.45 мкм фракция									
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.1	3.5	4.0	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.1	3.4	4.0
Dinoflagelata																				
<i>Gymnodinium</i> sp.	0	0	0	0.01	0	2.17	1.58	2.91	0.28	0.28	0	0	0	0	0	1.51	1.34	1.64	0	0
<i>Heterosapsa rotundata</i>	0.06	0	0.04	0.08	0	73.81	2.24	3.17	0.38	0.53	0	0	0	0	0.09	2.75	2.24	0	0.08	
<i>Prorocentrum</i> sp.	18.01	14.59	0.18	0.05	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Prorocentrum trisetinum</i>	0	0	0.06	1.35	0.08	0	0	0	0	0	0	0	0	0.07	0.07	0	0	0	0	0
<i>Yithella yeosuensis</i>	3.66	4.80	0.07	0.15	0.03	0	0	0	0	5.89	0.31	3.80	0	0	0	0.67	0.57	5.70	0	0
Dinophyceae sp.1	0	0	0.01	0	0.01	0.75	0.05	0.73	0	5.41	0	0	0	0	0	0.10	0.07	1.34	0	6.79
Dinophyceae sp.2	0	0	0	0	0.01	0.13	0.05	0	1.25	1.04	0	0	0	0	0	0	0	1.34	0	1.36
Dinophyceae sp.3	0	0	0	0	0	0	0	0	2.02	2.02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.58
Chlorophyta																				
<i>Bathycoccus prasinos</i>	0.05	0.15	5.85	3.35	0.49	0.01	0	0.01	0	0	0	0.01	0	0.39	67.46	0.63	0	0	0	0.02
<i>Mantoniella</i> sp.	1.90	4.50	6.82	2.04	0.65	0	0	0	0	0	0	0	0	4.14	5.93	10.11	0	0	0	0
Prasinococcales sp.	0.23	0.33	0.46	0.40	0.10	0	0	0	0	0	0	0	0	0.43	0.89	0.73	0	0	0	0
<i>Picochlorum</i> sp.	0.16	0.10	3.18	2.66	0.74	1.45	0	0.03	0	0	0	0.03	0	0.21	1.74	1.49	1.83	0.16	0	0.14
Cryptophyta																				
<i>Teleaulax</i> sp.	27.01	16.74	42.50	37.72	52.81	0.05	0	0	0	0	0	0	0	8.79	3.10	9.16	0	0.01	0	0.01
<i>Teleaulax</i> sp. нуклеоморф	2.10	1.19	1.53	1.32	1.38	0	0	0	0	0	0	0	0	0.44	0.46	4.53	0	0	0	0
<i>Rhodomonas</i> sp.	0.06	0.01	0.08	0.59	0.34	3.34	75.59	79.99	81.03	78.97	0	0	0	0.17	0.11	0.07	1.18	78.61	0	78.59
<i>Rhodomonas</i> sp. нуклеоморф	0.01	0	0	0.04	0.02	0.04	19.74	8.25	9.97	7.04	0	0	0	0.01	0	0.23	14.45	9.13	0	3.95
<i>Hemiselmis cryptochromatica</i>	19.60	17.29	17.47	19.42	21.40	5.25	0.02	0.22	0.04	0.14	0	0.22	0	21.08	8.47	15.32	8.38	0.34	0	0.19
<i>Hemiselmis cryptochromatica</i> нуклеоморф	2.78	3.91	0.95	1.21	0.69	0.26	0	0.01	0	0.03	0	0.01	0	1.30	0.92	4.29	1.73	0.03	0	0
Haptophyta																				
<i>Isochrysis</i> sp.	3.80	4.46	0.93	4.20	3.93	0.74	0.01	0.02	0.07	0.07	0	0	0	2.28	0.47	0.39	0.34	0.05	0	0.02
<i>Chrysochromulina</i> sp.	0.78	1.77	0.35	0.29	0.29	0	0	0	0	0	0	0	0	0.61	0.06	0.22	0	0	0	0
<i>Prymnesium</i> sp.	0.02	0	0.24	3.10	0.97	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0.18	0.12	0	0	0	0
Bacillariophyta																				
<i>Chaetoceros thronsdensei</i>	0.08	0.22	0	0	0.05	8.97	0.02	0.15	0.29	1.38	0	0.15	0	0.02	0	0	2.19	0.22	0	2.96
<i>Chaetoceros</i> sp.	0.01	0.06	0	0	0.01	1.45	0	0.02	0.04	0.32	0	0.02	0	0	0	0	0.47	0.03	0	0.54
<i>Cyclotella</i> sp.	5.33	5.39	7.68	3.30	1.30	0.48	0	0.04	0.06	0.06	0	0.04	0	1.47	0.43	0.21	0.23	0.06	0	0.23
<i>Minutocellus</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0.01	0.13	1.70	0	0.01	0	0	0	0	0	0.02	0	1.96
Raphidophyceae																				
<i>Chattonella</i> sp.	0.49	2.32	0.11	0.18	0.23	0.06	0	0	0	0	0	0	0	0.48	0.06	0.16	0.10	0	0	0
Bolidophyceae																				
<i>Parmales</i> sp.	0.01	0.14	0.07	0.06	0.04	0	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0.21	1.57	0	0	0	0
Chrysophyceae																				
Chrysophyceae sp.1	0	0	0.28	0.20	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0	0.01	1.03	0.65	0	0	0	0
Chrysophyceae sp.2	0.01	0	0.59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0.03	0.02	0	0	0	0
Chrysophyceae sp.3	0.02	0.09	0.07	0.06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.07	0.79	0.23	0	0	0	0
Dictyochophyceae																				
<i>Florenziella parvula</i>	0	0	0.74	3.14	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.21	0.02	0	0	0	0
<i>Helicopedinella</i> sp.	7.01	11.42	0.18	0.08	0.08	0	0	0	0	0	0	0	0	1.04	0	0	0	0	0	0
<i>Pedinellales</i> sp.	2.24	4.79	0.15	5.11	5.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.36	0.54	1.21	0	0	0	0

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения более 1%.

клеточных представителей Chlorophyta, типичных для пикопланктона северных морей: *Bathycoccus prasinus*, *Mantoniella* sp., *Prasinococcales* sp., *Picochlorum* sp. Показатели относительного обилия более 1% достигают представители разнообразных таксонов ФП, отсутствующих или слабо представленных в других слоях: динофлагеллята *Prorocentrum triestinum*, Haptophyta *Prymnesium* sp., Bolidophyceae *Parmales* sp., Chrysophyceae spp., Dictyochophyceae *Florenciella parvula*. Фотосинтетическая деятельность всех указанных таксонов ФП обеспечивает высокую концентрацию растворенного кислорода, превышающую насыщение. На глубине 1.0–2.0 м заметно возрастает доля гетеротрофных таксонов среди всех протистов (см. рис. 2). По данным микроскопии в этом слое наблюдалось массовое развитие крупных морских жгутиконосцев, которые питаются мелкими клетками фитопланктона: в июле – морской церкозои *Ebria tripartita*, а в сентябре – гетеротрофной динофлагелляты *Oxyrrhis marina*. В июле клетки *Ebria tripartita* концентрировались на глубине 1.0–2.5 м, в сентябре 2018 г. массовое развитие *Oxyrrhis marina* наблюдалось в слое 3.0–3.1 м, где в этот момент был зарегистрирован минимум фотосинтетической активности ФП. Таким образом, как в июле, так и в сентябре 2018 г., важным лимитирующим фактором развития фитопланктона являлись хищные протисты.

3. Нижняя граница оксиклина на глубине 2.5 м, где концентрация кислорода снижается до значений менее 1 мг/л, характеризуется своеобразной структурой сообщества ФП, очень сильно отличающейся от выше- и нижележащих слоев. В этом горизонте формируется почти монокультура динофлагелляты *Heterocapsa rotundata*, на которую приходится 73.81 и 79.25% ридов в ДНК библиотеках 2.4–4.5 и 0.45 мкм фракций соответственно. Цветению *H. rotundata*, как недавно установлено, способствуют условия низкой температуры и уменьшенной солнечной радиации, при которых эти миксотрофные динофлагелляты переключаются с фотосинтеза на потребление бактериальных клеток (Millette et al., 2017). Как раз такие условия формируются на глубине 2.5 м, а непосредственно под этим слоем начинается зона цветения анаэробных фототрофных бактерий (Саввичев и др., 2014), которые могут обеспечивать пищевые потребности *H. rotundata*. В существенных количествах появляется другая динофлагеллята – *Gymnodinium* sp., которая в вышележащих слоях отсутствует. В сообществе исключительно этого слоя наблюдается значимая доля диатомей рода *Chaetoceros* – более 10% в 2.4–4.5 мкм фракции, тогда как в вышележащих слоях они представлены в следовых количествах. Здесь находится нижняя граница массового развития таких ФП, как *Picochlorum* sp., *Hemiselmis cryptochromatica*, *Isochrysis* sp.

и *Cyclotella* sp., а также верхняя граница слоя с массовым развитием *Rhodomonas* sp.

4. В зоне редокс-перехода на глубине 3.0–3.1 м доминируют Cryptophyta с абсолютным преобладанием *Rhodomonas* sp., максимум обилия которых приходится на анаэробную часть хемоклина. *Rhodomonas* sp. благодаря особенностям пигментного состава, обеспечивающего очень высокую эффективность фотосинтеза, способен обитать при крайне низкой освещенности, что подтверждается высокими показателями флуоресценции хлорофилла *a*. Кроме того, *Rhodomonas* sp. – миксотрофы, что расширяет возможности их выживания на пределе фотической зоны. Рассчитанная по F_0 концентрация хлорофилла *a* в популяции *Rhodomonas* sp., который в зоне редокс-перехода образует практически монокультуру, превышает 1 мкг/л, что обычно не свойственно поверхностным беломорским водам (Нецветаева и др., 2018) и квалифицирует этот слой водоема как высокопродуктивный (эвтрофный) (Мордасова, 2014). В этом же слое достигают высоких концентраций динофлагелляты *Gymnodinium* sp., *Heterocapsa rotundata*, и неидентифицированные Dinophyceae.

5. В афотических придонных анаэробных слоях ниже 3.1 м в июле и 3.3 м в сентябре живые ФП, по-видимому, были представлены единичными клетками или цистами. Об этом свидетельствуют данные микроскопирования нативных проб, низкие значения параметра флуоресценции F_v/F_m , практически неизменное соотношение макротаксонов ФП на глубинах 3.0–4.0 м, и постоянно высокие показатели относительного обилия *Rhodomonas* sp. Кроме того, находки трех неидентифицированных таксонов Dinophyceae, а также диатомей *Minutocellus* sp., на глубинах 3.1–4.0 м, при их отсутствии в слоях, расположенных выше, свидетельствуют о сохранении на этой глубине отмерших клеток, цист, и/или ДНК протистов, которые массово размножились в предшествующий период и осели в придонные слои. Длительному сохранению ДНК способствует формирование в придонных слоях кислой анаэробной среды, насыщенной сульфидами, что хорошо подтверждается данными гидрохимической съемки.

Несмотря на четкую вертикальную зональность сообществ ФП в оз. Кисло-Сладкое отмечено, что в 0.45 мкм фракции наряду с представителями пикофитопланктона встречаются ОТЕ, принадлежащие ФП с крупными клетками, например *Prorocentrum triestinum*. В то же время представители пикопланктона *Bathycoccus prasinus*, *Mantoniella* sp., *Picochlorum* sp. также выявляются в 2.4–4.5 мкм фракции. Полученные данные ДНК метабаркодинга свидетельствуют о том, что использованный метод мембранной фильтрации не позволяет полностью разделить на фракции

представителей крупноклеточного и мелкоклеточного фитопланктона, что согласуется с ранее опубликованными данными. В частности, при исследовании сообщества протистов в меромиктическом фьорде Саанич Инлет (Ванкувер, Британская Колумбия, Канада) в образцах, прошедших фильтр с диаметром пор 2.7 мкм выявлена ДНК крупных инфузорий, клетки которых предположительно разрушились во время фильтрации (Orsi et al., 2012). При исследовании диатомовых водорослей солоноватой реки Большая Саморода (Приэльтонье, Россия) методом ДНК метабаркодинга выявлены представители таксонов, клетки которых не обнаружены при микроскопии концентрированных образцов, что авторы объясняют наличием свободной или “внеклеточной” ДНК (англ. free DNA или eDNA), высвобождаемой из погибших клеток и разносящейся течением (Selivanova et al., 2019).

ВЫВОДЫ

1. Озеро Кисло-Сладкое стало первым из беломорских прибрежных меромиктических водоемов, где методом ДНК метабаркодинга подробно изучены таксономический состав и вертикальная структура сообществ ФП. Выявлено 140 ОТЕ фототрофных протистов, относящихся к макротаксонам Chlorophyta, Cryptophyta, Dinoflagellata, Nartophyta, Ochrophyta и Cercozoa. На долю 33 доминирующих ОТЕ приходится 97.09% ридов. Водоросли отдела Chlorophyta, а также миксотрофные протисты Cryptophyta и Dinoflagellata характеризовались наибольшей долей в исследуемых сообществах.

2. ФП в большом количестве присутствуют в оз. Кисло-Сладком по всей толще, но таксономический состав разных слоев различается и согласуется с гидрологической стратификацией. Кроме абиотических факторов на состав и распределение ФП большое влияние оказывают хищные протисты. В частности, в оз. Кисло-Сладком отмечено значительное снижение обилия ФП в зоне массового размножения церкозойного жгутиконосца *Ebria tripartita* и динофлагелляты *Oxyrrhis marina*.

3. Среди фототрофных Dinoflagellata выявлено две группы доминирующих таксонов: одна занимает глубины до 2 м (*Prorocentrum triestinum*, *Prorocentrum* sp. и *Yihiella yeosuensis*), а вторая — область хемоклина на глубинах 2.5–3.1 м (*Gymnodinium* sp. и *Heterocapsa rotundata*).

4. Миксолимнион — поверхностный слой 0–0.5 м, который характеризуется доминированием криптофитовых *Teleaulax* sp. и *Hemiselmis cryptochromatica*, составляющих в сумме 40–50% фототрофного сообщества. При этом активность

фотосинтеза здесь низкая, что может быть связано с фотоингибированием.

5. В хорошо освещенном слое морской воды ниже пикноклина, от 1.0 до 2.0 м, доминируют зеленые водоросли, типичные для пикопланктона северных морей, а также отдельные представители криптофитовых (*Teleaulax* spp. и *Hemiselmis cryptochromatica*), гаптофитовых (*Isochrysis* sp.), пединеллид (*Pedinellales* sp.) и диатомовых (*Cyclotella* sp.).

6. Нижняя граница оксиклина на глубине 2.5 м характеризуется специфической структурой сообщества ФП, где формируется почти монокультура динофлагелляты *Heterocapsa rotundata*, для которой здесь формируются наиболее благоприятные условия, способствующие переходу с фотосинтеза на фаготрофную миксотрофию.

7. В хемоклине оз. Кисло-Сладкого существует погруженный максимум хлорофилла, образованный криптофитовыми жгутиконосцами *Rhodomonas* sp., на долю которых приходится 87–95% от общего количества последовательностей гена 18S рРНК в разных фракциях. Благодаря особенностям пигментного состава клеток *Rhodomonas* sp., в слое, характеризующемся цветением этого протиста, наблюдается очень высокая эффективность фотосинтеза, несмотря на присутствие сероводорода и низкую освещенность.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках государственной темы “Разнообразие, структура и функционирование морских и прибрежных экосистем” (номер ЦИТИС: 121032500077-8), Программы развития МГУ имени М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

FUNDING

The work was carried out under the state budget theme “Diversity, structure and functioning of marine and coastal ecosystems” (CITIS no. 121032500077-8) and Development program of Moscow State University “The future of the planet and global environmental changes.”

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белевич Т.А., Ильяш Л.В. Сезонная динамика первичной продукции пикофитопланктона в Кандалакшском заливе Белого моря // Тр. VII Междунар. науч.-практ. конф. “Морские исследования и образование (MARESEDU-2018)”. Тверь: Поли-ПРЕСС, 2019. Т. IV. С. 193–196.
- Белевич Т.А., Милютин И.А. Видовое разнообразие фототрофного пикопланктона морей Карского и Лаптевых // Микробиология. 2022. Т. 1. № 1. С. 75–85.
<https://doi.org/10.31857/S0026365622010025>

- Белькова Н.Л. Молекулярно-генетические методы анализа микробных сообществ // Разнообразие микробных сообществ внутренних водоемов России: Учеб.-методич. пособие. Ярославль: Принт-хаус, 2009. С. 53–63.
- Ильяш Л.В., Радченко И.Г., Кузнецов Л.Л., Лисицын А.П., Мартынова Д.М., Новигатский А.Н., Чульцова А.Л. Пространственная вариабельность состава, обилия и продукционных характеристик фитопланктона Белого моря в конце лета // Океанология. 2011. Т. 51. № 1. С. 24–32.
- Краснова Е.Д. Экология меромиктических озер России. 1. Прибрежные морские водоемы // Водные ресурсы. 2021. Т. 48. № 3. С. 322–333. <https://doi.org/10.31857/S0321059621030093>
- Краснова Е.Д., Воронов Д.А., Демиденко Н.А., Кокрятская Н.М., Пантюлин А.Н., Рогатых Т.А., Самсонов Т.Е., Фролова Н.Л., Шапоренко С.И. К инвентаризации реликтовых водоемов, отделяющихся от Белого моря // Комплексные исследования Бабьего моря, полу-изолированной беломорской лагуны: геология, гидрология, биота – изменения на фоне трансгрессии берегов. Тр. Беломорской биостанции МГУ. М: Тов-во науч. изд. КМК, 2016. Т. 12. С. 211–241.
- Краснова Е.Д., Пантюлин А.Н., Маторин Д.Н., Тодоренко Д.А., Белевич Т.А., Милютин И.А., Воронов Д.А. Цветение криптофитовой водоросли *Rhodomonas* sp. (Cryptophyta, Rhodomonadaceae) в редокс-зоне водоемов, отделяющихся от Белого моря // Микробиология. 2014. Т. 83. № 3. С. 346–354. <https://doi.org/10.7868/S0026365614030100>
- Лосюк Г.Н., Кокрятская Н.М., Краснова Е.Д. Сероводородное заражение прибрежных озер на разных стадиях изоляции от Белого моря // Океанология. 2021. Т. 61. № 3. С. 401–412. <https://doi.org/10.31857/S003015742102012X>
- Маторин Д.Н., Рубин А.Б. Флуоресценция хлорофилла высших растений и водорослей. М.: Ижевск, 2012. 256 с.
- Мордасова Н.В. Косвенная оценка продуктивности вод по содержанию хлорофилла // Тр. ВНИРО. 2014. Т. 152. С. 41–56.
- Нецветаева О.П., Македонская И.Ю., Коробов В.Б., Зметная М.И. Зависимость кислородонасыщения от содержания хлорофилла “a” в поверхностном слое вод Белого моря // Арктика: экология и экономика. 2018. № 3 (31). С. 31–41. <https://doi.org/10.25283/2223-4594-2018-3-31-41>
- Романенко Ф.А., Шилова О.С. Последледниковое поднятие Карельского берега Белого моря по данным радиоуглеродного и диатомового анализов озерно-болотных отложений п-ова Киндо // ДАН. 2012. Т. 442. № 4. С. 544–548.
- Саввичев А.С., Лунина О.Н., Русанов И.И., Захарова Е.Е., Веслополова Е.Ф., Иванов М.В. Микробиологические и изотопно-геохимические исследования озера Кисло-Сладкое – меромиктического водоема на побережье Кандалакшского залива Белого моря // Микробиология. 2014. Т. 83. № 2. С. 191–203. <https://doi.org/10.7868/S002636561401011X>
- Тодоренко Д.А., Краснова Е.Д., Маторин Д.Н. Изучение функционального состояния фотосинтетического аппарата фитопланктона в отделяющихся водоемах на Беломорском побережье с помощью флуоресцентных методов // Тр. VII Междунар. науч.-практ. конф. “Морские исследования и образование (MARESEDU-2018)”. Тверь: ПолиПРЕСС, 2019. Т. IV. С. 227–229.
- Чеканов К.А., Краснова Е.Д. Характеристики фотосинтетического аппарата криптофитовых жгутиконосцев *Rhodomonas* sp. из хемоклина стратифицированной лагуны на Зеленом мысе (Белое море, Кандалакшский залив) // Материалы XXII Междунар. науч. конф. (Школы) по морской геологии “Геология морей и океанов”. М.: ИО РАН, 2019. Т. 3. С. 232–234.
- Шапоренко С.И., Корнеева Г.А., Пантюлин А.Н., Перцова Н.М. Особенности экосистем отшнуровывающихся водоемов Кандалакшского залива Белого моря // Водные ресурсы. 2005. Т. 32. № 5. С. 517–532.
- Abad D., Albaina A., Aguirre M., Laza-Martínez A., Uriarte I., Iriarte A., Villate F., Estonba A. Is metabarcoding suitable for estuarine plankton monitoring? A comparative study with microscopy // Marine Biol. 2016. Vol. 163. Iss. 7. Art. number 149. <https://doi.org/10.1007/s00227-016-2920-0>
- Baatar B., Chiang P.-W., Rogozin D.Y., Wu Y.-T., Tseng C.-H., Yang C.-Y., Chiu H.-H., Oyuntsetseg B., Degermendzhya A.G., Tang S.-L. Bacterial Communities of Three Saline Meromictic Lakes in Central Asia // PLOS ONE. 2016. Vol. 11. № 3. e0150847. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150847>
- Casamayor E.O., Schafer H., Baneris L., Pedros-Alio C., Muyzer G. Identification of and Spatio-Temporal Differences between Microbial Assemblages from Two Neighboring Sulfurous Lakes: Comparison by Microscopy and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis // Appl. and Environ. Microbiol. 2000. Vol. 66. № 2. P. 499–508. <https://doi.org/10.1128/aem.66.2.499-508.2000>
- Del Campo J., Pizzorno A., Djebali S., Bouley J., Haller M., Pérez-Vargas J., Lina B., Boivin G., Hamelin M.-E., Nicolas F., Le Vert F., Leverrier Y., Rosa-Calatrava M., Marvel J., Hill F. OVX836 a recombinant nucleoprotein vaccine inducing cellular responses and protective efficacy against multiple influenza A subtypes // NPJ Vaccines. 2019. Vol. 4. Iss. 4. <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0098-4>
- Dzhembekova N., Moncheva S., Ivanova P., Slabakova N., Nagai S. Biodiversity of phytoplankton cyst assemblages in surface sediments of the Black Sea based on metabarcoding // Biotechnol. & Biotechnol. Equipment. 2018. Vol. 32. № 6. P. 1507–1513. <https://doi.org/10.1080/13102818.2018.1532816>
- Edgar R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST // Bioinformatics. 2010. Vol. 26. Iss. 19. P. 2460–2461. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>
- Edgar R.C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads // Nature Methods. 2013. Vol. 10. Iss. 10. P. 996–998. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2604>

- Falkowski P.G., Raven J.A.* Aquatic photosynthesis. USA: Princeton Univ. Press, 2007. 488 p.
- Gorlenko V.M., Vainstein M.B., Kachalkin V.I.* Microbiological characteristic of lake Mogilnoye // Arch. Hydrobiol. 1978. Vol. 81. № 4. P. 475–492.
- Gran-Stadniczeňko S., Egge E., Hostyeva V., Logares R., Eikrem W., Edvardsen B.* Protist Diversity and Seasonal Dynamics in Skagerrak Plankton Communities as Revealed by Metabarcoding and Microscopy // J. of Eukaryotic Microbiol. 2018. Vol. 66. Iss. 3. P. 494–513. <https://doi.org/10.1111/jeu.12700>
- Guillou L., Bachar D., Audic S. et al.* The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy // Nucleic Acids Res. 2013. Vol. 41. Iss. D1. P. D597–D604. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1160>
- Hakala A.* Meromixis as a part of lake evolution – observations and a revised classification of true meromictic lakes in Finland // Boreal Environ. Res. 2004. Vol. 9. P. 37–53.
- Inceoğlu Ö., Llorós M., Crowe S. A., García-Armisen T., Morana C., Darchambeau F., Borges A.V., Descy J.-P., Servais P.* Vertical Distribution of Functional Potential and Active Microbial Communities in Meromictic Lake Kivu // Microbial Ecol. 2015. Vol. 70. Iss. 3. P. 596–611. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0612-9>
- Jeunen G., Lamare M.D., Knapp M., Spencer H.G., Taylor H.R., Stat M., Bunce M., Gemmell N.J.* Water stratification in the marine biome restricts vertical environmental DNA (eDNA) signal dispersal // Environ. DNA. 2019. Vol. 2. Iss. 1. P. 99–111. <https://doi.org/10.1002/edn3.49>
- Krasnova E., Matorin D., Belevich T., Efimova L., Kharcheva A., Kokryatskaya N., Losyuk G., Todorenko D., Voronov D., Patsaeva S.* The characteristic pattern of multiple colored layers in coastal stratified lakes in the process of separation from the White Sea // Chinese J. of Oceanol. and Limnol. 2018. № 6. P. 1–16. <https://doi.org/10.1007/s00343-018-7323-2>
- Lauro F.M., DeMaere M.Z., Yau S., Brown M.V., Ng C., Wilkins D., Raftery M.J., Gibson J.A., Andrews-Pfannkoch C., Lewis M., Hoffman J.M., Thomas T., Cavicchioli R.* An integrative study of a meromictic lake ecosystem in Antarctica // The ISME J. 2010. № 5. P. 879–895. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.185>
- Lewis W.M., Jr.* A revised classification of lakes based on mixing // Canadian J. of Fisheries and Aquatic Sci. 1983. Vol. 40. № 10. P. 1779–1787. <https://doi.org/10.1139/f83-207>
- Lunina O.N., Savvichev A.S., Krasnova E.D., Kokryatskaya N.M., Veslopolova E.F., Kuznetsov B.B., Gorlenko V.M.* Succession processes in the anoxygenic phototrophic bacterial community in lake Kislo-Sladkoe (Kandalaksha Bay, White Sea) // Microbiology. 2016. Vol. 85. P. 531–544. <https://doi.org/10.1134/S0026261716050118>
- Matorin D., Antal T., Ostrowska M., Rubin A., Ficek D., Majchrowski R.* Chlorophyll fluorimetry as a method for studying light absorption by photosynthetic pigments in marine algae // Oceanol. 2004. Vol. 46. № 4. P. 519–531.
- Millette N.C., Pierson J.J., Aceves A., Stoecker D.K.* Mixotrophy in *Heterocapsa rotundata*: A mechanism for dominating the winter phytoplankton // Limnol. and Oceanogr. 2017. Vol. 62. Iss. 2. P. 836–845. <https://doi.org/10.1002/lno.10470>
- Orsi W., Song Y.C., Hallam S., Edgcomb V.* Effect of oxygen minimum zone formation on communities of marine protists // The ISME J. 2012. № 6. P. 1586–1601. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.7>
- Salmaso N.* Effects of Habitat Partitioning on the Distribution of Bacterioplankton in Deep Lakes // Frontiers in Microbiol. 2019. Vol. 10. 2257. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02257>
- Savvichev A.S., Babenko V.V., Lunina O.N., Letarova M.A., Boldyreva D.I., Veslopolova E.F., Demidenko N.A., Kokryatskaya N.M., Krasnova E.D., Gaisin V.A., Kostyukova E.S., Gorlenko V.M., Letarov A.V.* Sharp water column stratification with an extremely dense microbial population in a small meromictic lake, Trekhtzvetnoe // Environ. Microbiol. 2018. Vol. 20. Iss. 10. P. 3784–3797. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14384>
- Savvichev A.S., Kadnikov V.V., Rusanov I.I. et al.* Microbial processes and microbial communities in the water column of the polar meromictic lake Bol'shie Khruslomeny at the White Sea coast // Frontiers in Microbiol. 2020. Vol. 11. 1945. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01945>
- Schreiber U.* Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) Fluorometry and Saturation Pulse Method: An Overview // Chlorophyll A Fluorescence: A Signature of Photosynthesis / G. Govindjee and G. Papageorgiou (Eds.). Dordrecht: Springer, 2004. P. 279–319. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9>
- Selivanova E.A., Ignatenko M.E., Yatsenko-Stepanova T.N., Plotnikov A.O.* Diatom assemblages of the brackish Bolshaya Samoroda River (Russia) studied via light microscopy and DNA metabarcoding // Protistology. 2019. Vol. 13. Iss. 4. P. 215–235. <https://doi.org/10.21685/1680-0826-2019-13-4-5>
- Suggett D.J., Prašil O., Borowitzka M.A.* Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications. Dordrecht: Springer, 2011. 326 p. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-9268-7>
- Trefault N., De la Iglesia R., Moreno-Pino M., dos Santos A.L., Ribeiro C.G., Parada-Pozo G., Cristi A., Marie D., Vaulot D.* Annual phytoplankton dynamics in coastal waters from Fildes Bay, Western Antarctic Peninsula // Sci. Rep. 2021. Vol. 11. 1368. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80568-8>
- Yoshimura S.* Abnormal Thermal Stratifications of Inland Lakes // Proceedings of the Imperial Academy. 1937. Vol. 13. P. 316–319. <https://doi.org/10.2183/pjab1912.13.316>

Zhang J., Kobert K., Flouri T., Stamatakis A. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR //

Bioinformatics. 2014. Vol. 30. Iss. 5. P. 614–620. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt593>

Structure and Functioning of Plankton Communities of Phototrophic and Mixotrophic Protists in the Coastal Lagoon “Lake Kисло-Sladkoe” (White Sea, Karelian Coast)

A. O. Plotnikov¹, *, E. A. Selivanova¹, Yu. A. Khlopko¹, D. A. Voronov²,
D. N. Matorin³, D. A. Todorenko³, and E. D. Krasnova³

¹Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

²Kharkevich Institute for the Information Transmission Problems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³Moscow State University, Moscow, Russia

*e-mail: protoz@mail.ru

For the first time the taxonomic composition and vertical structure of phototrophic protist (PhP) communities were determined in a meromictic water body of the Russian coast of the Arctic, namely a lagoon Lake Kисло-Sladkoe, using DNA metabarcoding. Temperature, salinity, oxygen concentration, pH, Eh, illumination, and functional parameters of chlorophyll fluorescence were measured at different depths. 140 operational taxonomic units of PhP belonging to major taxa Dinoflagellata, Chlorophyta, Cryptophyta, Haptophyta, Ochrophyta, Cercozoa were identified. PP predominated over heterotrophic protists at depths of 0–1.0 and 2.5–3.5 m reaching a maximum in the chemocline, especially in the 3.0 m horizon, above the redox transition. The taxonomic composition of the PhP in different layers differed according to the hydrological and hydrochemical stratification. In addition to abiotic factors, the composition and distribution of PP was influenced by predatory protists such as the cercozoan flagellate *Ebria tripartita* and the dinoflagellate *Oxyrrhis marina*, which significantly reduced the abundance of PhP while their mass distribution. Five layers were identified with different sets of dominant PhP. The surface 0–0.5 m layer of freshened water was featured the dominance of cryptophytes *Teleaulax* sp. and *Hemiselmis cryptochromatica*. The photosynthesis activity here was lower compared to the underlying layers that may be determined by photoinhibition. In the 1.0–2.0 m layer of seawater below the pycnocline Chlorophyta dominated, which are typical for picoplankton of the northern seas, as well as representatives of Cryptophyta, Haptophyta, Pedinellida, and diatoms. The PhP community at the lower boundary of the oxycline (2.5 m) had a specific structure with the mass development of the mixotrophic dinoflagellate *Heterocapsa rotundata*, for which the most favorable conditions were formed here facilitating the transition from photosynthesis to phagotrophic consumption of bacteria. In the chemocline, a maximum of chlorophyll was recorded, which was formed by cryptophyte *Rhodomonas* sp., demonstrating high rates of photosynthesis efficiency, despite the presence of hydrogen sulfide and low illumination. In the deeper anaerobic zone, cysts and DNA of dead protists were preserved apparently, whereas the remains of the protist cells settled in the bottom layer.

Keywords: White Sea, coastal meromictic lakes, separating water bodies, phototrophic protists, phytoplankton, chlorophyll fluorescence, DNA metabarcoding, high-throughput sequencing

REFERENCES

- Abad D., Albaina A., Aguirre M., Laza-Martínez A., Uriarte I., Iriarte A., Villate F., Estonba A. Is metabarcoding suitable for estuarine plankton monitoring? A comparative study with microscopy. *Mar. Biol.*, 2016, vol. 163, no. 7, 149. <https://doi.org/10.1007/s00227-016-2920-0>
- Baatar B., Chiang P.-W., Rogozin D.Y., Wu Y.-T., Tseng C.-H., Yang C.-Y., Chiu H.-H., Oyuntsetseg B., Degermendzhy A.G., Tang S.-L. Bacterial communities of three saline meromictic lakes in Central Asia. *PLOS ONE*, 2016, vol. 11, no. 3, e0150847. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150847>
- Belevich T., Il'yash L. The seasonal dynamic of picophytoplankton primary production in the Kandalaksha Bay, the White Sea. In *Tr. 7 mezhdunar. nauchn.-prakt. konf. MARESEDU-2018* [Proc. 7 Int. Conf. MARESEDU-2018]. Tver': PoliPRESS, vol. 4, 2019, pp. 193–196. (In Russ.).
- Belevich T.A., Milyutina I.A. Species diversity of phototrophic picoplankton in the Kara and Laptev seas. *Microbiol.*, 2022, vol. 91, no. 1, pp. 67–76. <https://doi.org/10.1134/S0026261722010027>
- Bel'kova N.L. Molecular genetic methods for the analysis of microbial communities. In *Raznoobrazie mikrobnkykh soobshchestv vnutrennikh vodoemov Rossii: uchebno-metodicheskoe posobie* [Diversity of Microbial Communities of Inland Waters in Russia: Handbook]. Yaroslavl: Printhauz Publ., 2009, pp. 53–63. (In Russ.).
- Casamayor E.O., Schafer H., Baneras L., Pedros-Alio C., Muyzer G. Identification of and spatio-temporal differences between microbial assemblages from two neighboring sulfurous lakes: comparison by microscopy and denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, vol. 66, no. 2, pp. 499–508. <https://doi.org/10.1128/aem.66.2.499-508.2000>

- Chekanov K.A., Krasnova E.D. Characteristics of the photosynthetic apparatus of cryptophyte flagellates *Rhodomonas* sp. from the chemocline of a stratified lagoon at the cape Zeleny (White Sea, Kandalaksha Bay). In *Mater. 22 mezhdunar. nauchn. konf. (Shkoly) po morskoi geologii "Geologiya morei i okeanov"* [Geology of Seas and Oceans. Proc. 22 Int. Conf. on Marine Geology]. Moscow: Instit. of Oceanology of RAS, vol. 3, 2019, pp. 232–234. (In Russ.).
- Del Campo J., Pizzorno A., Djebali S., Bouley J., Haller M., Pérez-Vargas J., Lina B., Boivin G., Hamelin M.-E., Nicolas F., Le Vert F., Leverrier Y., Rosa-Calatrava M., Marvel J., Hill F. OVX836 a recombinant nucleoprotein vaccine inducing cellular responses and protective efficacy against multiple influenza A subtypes. *NPJ Vaccines*, 2019, vol. 4, no. 4. <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0098-4>
- Dzhembekova N., Moncheva S., Ivanova P., Slabakova N., Nagai S. Biodiversity of phytoplankton cyst assemblages in surface sediments of the Black Sea based on metabarcoding. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, 2018, vol. 32, no. 6, pp. 1507–1513. <https://doi.org/10.1080/13102818.2018.1532816>
- Edgar R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 2010, vol. 26, no. 19, pp. 2460–2461. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>
- Edgar R.C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat. Methods*, 2013, vol. 10, pp. 996–998. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2604>
- Falkowski P.G., Raven J.A. *Aquatic Photosynthesis*. USA: Princeton Univ. Press, 2007. 488 p.
- Gorlenko V.M., Vainstein M.B., Kachalkin V.I. Microbiological characteristic of lake Mogilnoye. *Arch. Hydrobiol.*, 1978, vol. 81, no 4, pp. 475–492.
- Gran-Stadniczeňko S., Egge E., Hostyeva V., Logares R., Eikrem W., Edvardsen B. Protist diversity and seasonal dynamics in Skagerrak plankton communities as revealed by metabarcoding and microscopy. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 2018, vol. 66, no. 3, pp. 494–513. <https://doi.org/10.1111/jeu.12700>
- Guillou L., Bachar D., Audic S. et al. The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy. *Nucleic Acids Res.*, 2013, vol. 41, no. D1, pp. D597–D604. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1160>
- Hakala A. Meromixis as a part of lake evolution – observations and a revised classification of true meromictic lakes in Finland. *Boreal Environ. Res.*, 2004, vol. 9, pp. 37–53.
- Ilyash L.V., Radchenko I.G., Kuznetsov L.L., Lisitzin A.P., Martynova D.M., Novigatsky A.N., Tchultsova A.L. Spatial variability of the species composition, abundance, and productivity of the phytoplankton in the White sea in the late summer period. *Oceanol.*, 2011, vol. 51, pp. 19–26. <https://doi.org/10.1134/S000143701101005X>
- Inceoğlu Ö., Llíros M., Crowe S.A. et al. Vertical distribution of functional potential and active microbial communities in meromictic lake Kivu. *Microb. Ecol.*, 2015, vol. 70, no. 3, pp. 596–611. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0612-9>
- Jeunen G., Lamare M.D., Knapp M. et al. Water stratification in the marine biome restricts vertical environmental DNA (eDNA) signal dispersal. *Environmental DNA*, 2019, vol. 2, pp. 99–111. <https://doi.org/10.1002/edn3.49>
- Krasnova E., Matorin D., Belevich T., Efimova L., Kharcheva A., Kokryatskaya N., Losyuk G., Todorenko D., Voronov D., Patsaeva S. The characteristic pattern of multiple colored layers in coastal stratified lakes in the process of separation from the White Sea. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 2018, no. 6, pp. 1–16. <https://doi.org/10.1007/s00343-018-7323-2>
- Krasnova E.D. Ecology of Meromictic Lakes of Russia. 1. Coastal marine waterbodies. *Water Resour.*, 2021, vol. 48, no. 3, pp. 427–438. <https://doi.org/10.1134/S009780782103009X>
- Krasnova E.D., Pantyulin A.N., Matorin D.N., Todorenko D.A., Belevich T.A., Milyutina I.A., Voronov D.A. Blooming of the cryptomonad alga *Rhodomonas* sp. (Cryptophyta, Pyrenomonadaceae) in the redox zone of the basins separating from the White sea. *Microbiol.*, 2014, vol. 83, pp. 270–277. <https://doi.org/10.1134/S0026261714030102>
- Krasnova E.D., Voronov D.A., Demidenko N.A., Kokryatskaya N.M., Pantyulin A.N., Rogatykh T.A., Samsonov T.E., Frolova N.L., Shaporenko S.I. For inventory of relict basins separated from the White Sea. In *Kompleksnyye issledovaniya Babiego morya, polu-izolirovannoi belomorskoj laguny: geologiya, gidrologiya, biota* [Integrated Research of the Babie More, Semi-Isolated White-Sea Lagoon: Geology, Hydrology, Biota]. Tr. Belomorskoj biostantsii MGU [Proc. White Sea Biol. Station of MSU], vol. 12. Moscow: KMK Publ., 2016, pp. 211–241. (In Russ.).
- Lauro F.M., DeMaere M.Z., Yau S., Brown M.V., Ng C., Wilkins D., Raftery M.J., Gibson J.A., Andrews-Pfannkoch C., Lewis M., Hoffman J.M., Thomas L., Cavicchioli R. An integrative study of a meromictic lake ecosystem in Antarctica. *ISME J.*, 2010, vol. 5, pp. 879–895. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.185>
- Lewis W.M., Jr. A revised classification of lakes Based on Mixing. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1983, vol. 40, pp. 1779–1787. <https://doi.org/10.1139/f83-207>
- Losyuk G.N., Kokryatskaya N.M., Krasnova E.D. Hydrogen sulfide contamination of coastal lakes at different stages of isolation from the White sea. *Oceanol.*, 2021, vol. 61, pp. 351–361. <https://doi.org/10.1134/S0001437021020120>
- Lunina O.N., Savvichev A.S., Krasnova E.D., Kokryatskaya N.M., Veslopolova E.F., Kuznetsov B.B., Gorlenko V.M. Succession processes in the anoxygenic phototrophic bacterial community in lake Kislo-Sladkoe (Kandalaksha Bay, White Sea). *Microbiol.*, 2016, vol. 85, pp. 531–544. <https://doi.org/10.1134/S0026261716050118>
- Matorin D., Antal T., Ostrowska M., Rubin A., Ficek D., Majchrowski R. Chlorophyll fluorimetry as a method for studying light absorption by photosynthetic pig-

- ments in marine algae. *Oceanol.*, 2004, vol. 46, no. 4, pp. 519–531.
- Matorin D.N., Rubin A.B. *Fluorescentsii khlorofilla vysshikh rastenii i vodoroslei* [Chlorophyll Fluorescence of Higher Plants and Algae]. Moscow, Izhevsk, 2012. (In Russ.).
- Millette N.C., Pierson J.J., Aceves A., Stoecker D.K. Mixotrophy in *Heterocapsa rotundata*: A mechanism for dominating the winter phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 2017, vol. 62, iss. 2, pp. 836–845. <https://doi.org/10.1002/lno.10470>
- Mordasova N.V. Indirect estimation of water productivity by the chlorophyll content. *Tr. VNIRO*, 2014, vol. 152, p. 41–56. (In Russ.).
- Netsvetaeva O.P., Makedonskaya I.Y., Korobov V.B., Zmetnaya M.I. Dependence of oxygen saturation on the “a” chlorophyll content in the surface layer of the White Sea. *Arktika: Ekol. Ekon.*, 2018, vol. 31, no. 3, pp. 31–41. (In Russ.). <https://doi.org/10.25283/2223-4594-2018-3-31-41>
- Orsi W., Song Y.C., Hallam S., Edgcomb V. Effect of oxygen minimum zone formation on communities of marine protists. *ISME J.*, 2012, vol. 6, pp. 1586–1601. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.7>
- Romanenko F.A., Shilova O.S. The postglacial uplift of the Karelian Coast of the White Sea according to radiocarbon and diatom analyses of lacustrine boggy deposits of Kindo Peninsula. *Dokl. Earth Sci.*, 2012, vol. 442, part 2, pp. 242–246. <https://doi.org/10.1134/S1028334X12020079>
- Salmaso N. Effects of habitat partitioning on the distribution of bacterioplankton in deep lakes. *Front. Microbiol.*, 2019, vol. 10, 2257. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02257>
- Savvichev A.S., Babenko V.V., Lunina O.N., Letarova M.A., Boldyreva D.I., Veslopolova E.F., Demidenko N.A., Kokryatskaya N.M., Krasnova E.D., Gaisin V.A., Kostryukova E.S., Gorlenko V.M., Letarov A.V. Sharp water column stratification with an extremely dense microbial population in a small meromictic lake, Trekhztvetnoe. *Environ. Microbiol.*, 2018, vol. 20, no. 10, pp. 3784–3797. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14384>
- Savvichev A.S., Kadnikov V.V., Rusanov I.I. et al. Microbial processes and microbial communities in the water column of the polar meromictic lake Bol'shie Khruslomeny at the White Sea coast. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 11, 01945. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01945>
- Savvichev A.S., Lunina O.N., Rusanov I.I., Zakharova E.E., Veslopolova E.F., Ivanov M.V. Microbiological and isotopic geochemical investigation of Lake Kislo-Sladkoe, a meromictic water body at the Kandalaksha Bay shore (White Sea). *Microbiol.*, 2014, vol. 83, pp. 56–66. <https://doi.org/10.1134/s0026261714010111>
- Schreiber U. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) Fluorimetry and Saturation Pulse Method: An Overview In *Chlorophyll A Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Govindjee G., Papageorgiou G., Eds. Dordrecht: Springer, 2004, pp. 279–319. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9>
- Selivanova E.A., Ignatenko M.E., Yatsenko-Stepanova T.N., Plotnikov A.O. Diatom assemblages of the brackish Bolshaya Samoroda River (Russia) studied via light microscopy and DNA metabarcoding. *Protistology*, 2019, vol. 13, no. 4, pp. 215–235. <https://doi.org/10.21685/1680-0826-2019-13-4-5>
- Shaporenko S.I., Koreneva G.A., Pantyulin A.N., Pertsova N.M. Characteristics of the Ecosystems of Water Bodies Separating from Kandalaksha Bay of the White Sea. *Water Resour.*, 2005, vol. 32, no. 5, pp. 469–483. <https://doi.org/10.1007/s11268-005-0060-x>
- Suggett D.J., Prašil O., Borowitzka M.A. *Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications*. Dordrecht: Springer, 2011. 326 p. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-9268-7>
- Todorenko D.A., Krasnova E.D., Matorin D.A. Study of the functional state of the photosynthetic apparatus of phytoplankton in the separated water bodies on the White Sea coast by using fluorescence methods. In *Tr. 7 Mezhdunar. nauchn.-prakt. konf. MARESEDU-2018* [Proc. 7 Int. Conf. MARESEDU-2018]. Tver': Polipress Publ., 2019, vol. 4, pp. 227–229. (In Russ.).
- Trefault N., De la Iglesia R., Moreno-Pino M. et al. Annual phytoplankton dynamics in coastal waters from Fildes Bay, Western Antarctic Peninsula. *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11, 1368. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80568-8>
- Yoshimura S. Abnormal Thermal Stratifications of Inland Lakes. *Proc. Imperial Acad.*, 1937, vol. 13, pp. 316–319. <https://doi.org/10.2183/pjab1912.13.316>
- Zhang J., Kobert K., Flouri T., Stamatakis A. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd merger. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, no. 5, pp. 614–620. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt593>