

# Microbial communities in the fluid migration zone in the sediments of the Krasny Yar methane seep (South Baikal)

Original Article

LIMNOLOGY  
FRESHWATER  
BIOLOGY

Zemskaya T.I.\*, Lomakina A.V., Pogodaeva T.V., Bukin S.V., Kolesnikov P.M., Shubenkova O.V., Khabuev A.V., Khlystov O.M.

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

**ABSTRACT.** The diversity and structure of microbial communities were investigated using 16S rRNA gene barcoding in the sediments of the Krasny Yar methane seep, in the zone of near-surface occurrence of gas hydrates and the presence of oxidized and restored channels. The diversity of both bacteria and archaea along the core depth was similar to the diversity found in sediments from other areas: methylotrophic methanogens and microorganisms involved in different stages of the organic matter fermentation were detected in the sediment strata of all depths investigated. Migration flows of oxygen-rich and aerobic bacteria-rich near-bottom water influenced greatly the diversity of microbial communities in oxidized channels. Fluids migrating from the deep zone to the bottom surface provided transport from anoxic sediments of anaerobic archaea involved in the AOM process. The data obtained are consistent with geochemical and geothermal indicators defining the zone of active migration of near-bottom waters.

**Keywords:** Lake Baikal, bottom sediments, fluid flows, microbial communities, 16S rRNA gene, diversity

**For citation:** Zemskaya T.I., Lomakina A.V., Pogodaeva T.V., Bukin S.V., Kolesnikov P.M., Shubenkova O.V., Khabuev A.V., Khlystov O.M. Microbial communities in the fluid migration zone in the sediments of the Krasny Yar methane seep (South Baikal) // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 1155-1179. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1155

## 1. Introduction

Lake Baikal, the oldest and deepest lake in the world, is characterized by thick bottom sediments, ranging in thickness from 7 to 9 kilometers in different basins (Logatchev, 1993; Scholz and Hutchinson, 2000). Long sedimentation histories and multi-kilometer deposits with high organic matter content (OM) contributed to the formation of large amounts of liquid and gaseous hydrocarbons in them (Kuzmin et al., 2001; Khlystov et al., 2013). Besides, accumulations of gas hydrates (GH), which are found in sediments of seas, oceans, and the permafrost of high latitudes, have been found in the Baikal sediments. In Lake Baikal, as in marine ecosystems (Milkov, 2005; Kopf, 2002), various geological structures (mud volcanoes, methane, and oil seeps) have been found in sites with fluid discharges to the lakebed (Khlystov et al., 2013). These geological formations tend to form in the zones where sediments are rapidly accumulating or in the areas of tectonic stress and/or hydrocarbon formation that create the overpressure necessary to discharge fluids (Hedberg, 1974; von Huene and Lee, 1983; Brown and Westbrook, 1988). The cold seepage systems in Lake

Baikal are comparable in size and frequency to the systems of oceanic high-productive continental margins but are characterized by special mechanisms of formation and peculiarities of circulation of gas-saturated fluid flows (Naudts et al., 2012; Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020). High gas saturation of the sedimentary strata, proximity to fractures or channels through which gases and fluids migrate in different directions and, in some cases, the presence of GH are indispensable conditions for their occurrence. For example, in the area of the Posolsky fault, gas emissions cause the clearing of the pore space in the bottom sediments under the GH stability zone, which is filled by water supplied from the water column through neighboring faults or channels in the bottom sediments. Water entering the sediment layers below the GH stability zone is heated, which in turn leads to the formation of an upward fluid flow and its outlet into the water column at the discharge point. This is confirmed by the presence of high positive values of warm flows adjacent to regions of abnormally low and negative values, allowing the formation of a convective “fluid loop” (Vanneste et al., 2011). Fluid inflow from significant depths (below the GH stability zone) was confirmed by

\*Corresponding author.

E-mail address: [tzema@lin.irk.ru](mailto:tzema@lin.irk.ru) (T.I. Zemskaya)

**Received:** July 23, 2024; **Accepted:** August 08, 2024;

**Available online:** August 30, 2024

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



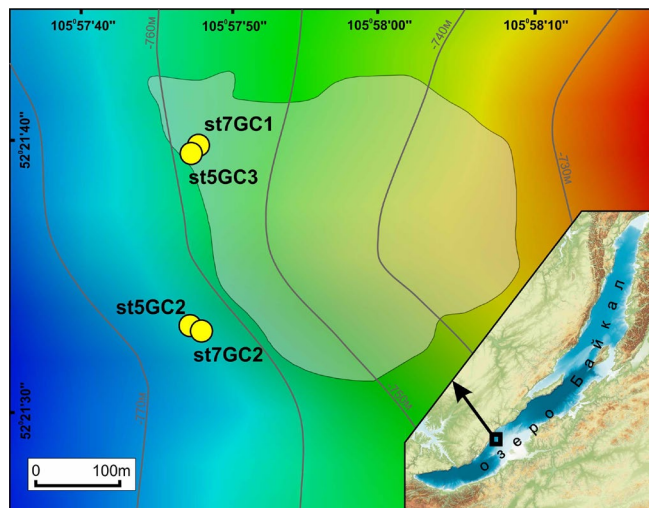
the presence of mantle helium in gas hydrate samples collected in this zone (Klerkx et al., 2006). According to Chernitsyna et al. (2016), microorganisms typical of deep recovered sedimentary strata enter the lakebed surface together with migrating deep fluids.

Migration of fluid flows with a different mechanism of their formation was also recorded in the sediments of another site of the Krasny Yar methane seep (Naudts et al., 2012; Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020). Based on geochemical and geothermal data, the heated mineralized gas-saturated fluid rises alongside the deep fault zone to the bottom surface, passing the zone of the lower boundary of GH stability, destabilizing them and enriching with a new composition of water and gas. Part of this gas in subsurface sediments forms GH again because of a temperature decrease, and another part of the gas is discharged into the water column in bubbles and dissolved form. Gas accumulating under the gas hydrate covers creates overpressure and causes cracking and changes in sediment permeability, allowing near-bottom waters to enter and mix with retaining and fluid waters. The subsurface microcirculation of water takes place in the 1.5 meter layer, where oxidized and restored fluid discharge channels are recorded (Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020). No data are available on the influence of migration flows on the distribution of individual microorganisms in the sediments of this geological structure. Therefore, the aim of this work was to study the diversity and taxonomic structure of microbial communities in the fluid flow zone of sediments of the Krasny Yar methane seep and to assess the influence of the latter on the distribution of individual taxa.

## 2. Materials and methods of the study

### 2.1. Study objects and sampling

Four cores were sampled from the R/V “G.Yu. Vereshchagin” using a corer in the zone of the Krasny Yar methane seep (Fig. 1), located on the western slope of the Selenga River delta in the southern basin of Lake Baikal. Cores were sampled from the bottom surface to a depth of 3 m in the central part, where GHs were previously recorded in the upper zone of the geological section (Khabuev et al., 2016), taking into account the presence of oxidized or restored channels in the sediments. Two cores (St7GC1, St7GC2) (N52° 3612; E105° 9638) meeting these criteria were collected in July 2016 and two cores (St5GC2, St5GC3; N52° 3592; E105° 9638) in July 2021. In the section of cores from the GH zone (St7GC1 and St5GC2), restored channels were observed (Fig. 2), and in the latter, an oxidized channel was recorded. Outside this zone, there was an oxidized channel in the St7GC2 core, and there were oxidized and restored channels in the St5GC3 core. Cores were opened after lifting them aboard the vessel, and the sediment samples were packed in sterile foil and placed in liquid nitrogen until they were analyzed in the laboratory. Pore waters were pressed immediately after sampling from core sediments, and chemical analysis was performed in the laboratory according to methods generally accepted in freshwater hydrochem-



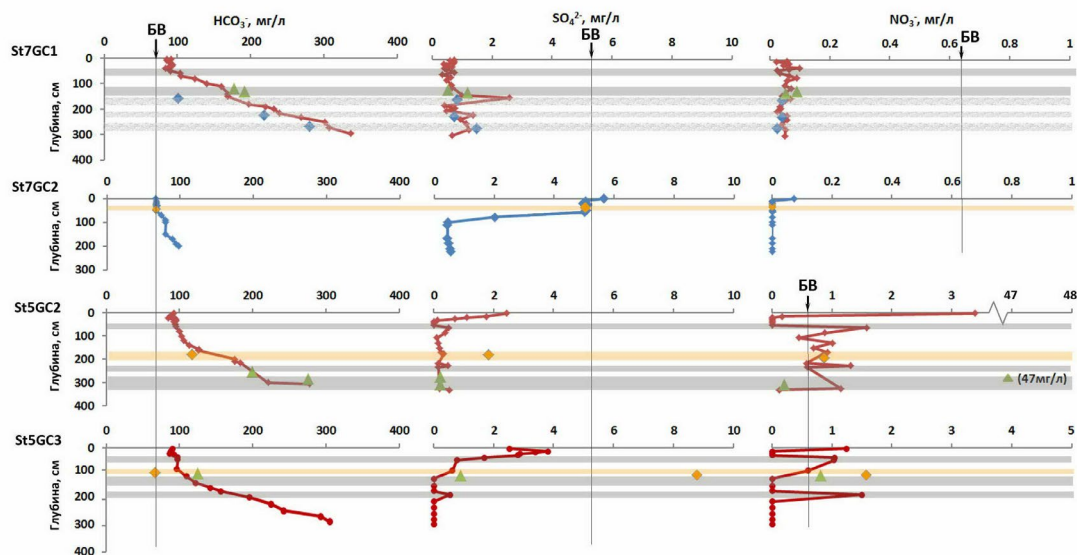
**Fig. 1.** Sampling sites in the area of the Krasny Yar methane seep. Yellow circles represent the core sampling site; a solid line shows the gas hydrate zone (Khabuev et al., 2016).

istry (Wetzel and Likens, 1991; Baram et al., 1999;), which we have described previously (Zemskaya et al., 2010). Concentrations of the following ions were analyzed: hydrogen carbonate, sulphate, chlorine, nitrates along the depth of the cores with the interval of 10-50 cm. Taking into account the lithological composition and the presence of channels in the collected cores, 22 DNA samples were isolated including the cores of 2016: St7GC1 (0-5, 15, 25, 150, 180, 216, 223, 250, 296 cm, restored channel - 50 cm) and St7GC2 (oxidized channel - 35-38 cm); in the cores of 2021: St5GC2 (0-5, 25, 30, 160, 185, 306, restored channel - 60 cm, oxidized channel - 200 cm) and St5GC3 (0-10 cm, oxidized channel - 110 cm and restored channel - 186 cm).

### 2.2. DNA isolation. Molecular microbiological methods

Total DNA from the bottom sediments was isolated by phenol-chloroform extraction method (Sambrook et al., 1987). The primers 16S\_BV2F (5'-AGTGGCGGACGGGTGAGTAA-3') and 16S\_BV3R (5'-CCGCGGCTGCTGGCAC-3') (Sahm et al., 2013) were used for PCR amplification of fragments of the 16S rRNA gene of bacteria, which include the V2-V3 variable region. The primers Arch-0787F (5'-ATTAGATACCCSBGTAGTCC-3') and Arch-1059R (5'-GCCATGCACCACCWCCTCT-3'), which include the V5-V6 variable region (Yu et al., 2005), were used for PCR amplification of fragments of the archaea 16S rRNA gene. Libraries were analyzed using Illumina MiSeq Standard Kit v.3 (Illumina) (CCU “Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology” in ARRIAM). The obtained forward and reverse sequencing reads were trimmed from the end to 270 bp using Trimmomatic version 0.39 (Bolger et al., 2014) to remove positions where more than 25% of the reads had bases with relative quality scores < 20, calculated using FastQC v. 0.11.9 (Andrews, 2020).

Further analysis was performed using the R v4.2.2 program in RStudio v2022.12.0. Libraries were processed using DADA2 v1.26. (Callahan et al., 2016a),



**Fig.2.** Chemical composition of pore waters of the bottom sediments in the Krasny Yar seep zone: St7GC1, St7GC2 – 2016, St5GC2, St5GC3 – 2021. Horizons of occurrence in the sediments of restored channels are highlighted in grey, and horizons of occurrence in the sediments of oxidized channels are highlighted in red, horizons of occurrence in the sediments of gas hydrates are highlighted in ripples. Red rhombs and curves indicate the distribution with depth of concentrations of hydrogen carbonate, sulphate and nitrate ions; blue rhombs represent the same in the presence of gas hydrates; green triangles represent the same in restored channels; red rhombs represent the same in oxidized channels. Thin black lines with arrows represent the concentration levels in Lake Baikal water.

according to the proposed protocol (Callahan et al., 2016b). The reads were filtered and united based on a minimum overlap of 12 bp. Chimeras were filtered out. Representative sequences were taxonomically classified using the 138\_1 database (<http://www.arb-silva.de>). ASV that were not taxonomically classified by phylum or were not assigned to bacterial or archaeal lineages, as well as ASV that were taxonomically assigned to mitochondria and chloroplasts, were excluded from further analysis. The results of raw 16S rRNA sequencing have been deposited in Sequence Read Archive under Bioproject PRJNA875570.

### 3. Results

#### 3.1. Sediment lithology and pore water chemistry

The lithological composition of the selected cores was similar; sediments are represented by dark grey sandy silty clay with numerous swellings, degassing cracks, gas filtration channels and lenses of GH located in the lower part of the cores. The surface layer was characterized by the presence of a brown, thin layer several millimeters thick. The pH values ranged from 6.7 in 2016 to 7.4 in 2021. The Eh values in core St5GC3\_21 at 15 cm depth were 96.2 mV, and at core depths of 88 - 306 cm, they were from - 306 mV to - 205 mV, respectively, indicating the presence of recovered conditions in the sediment sub-bottom layers. A distinctive feature of the cores examined was the presence of channels that differed in color from the sediments that contained them. In the St7GC1 core, lighter colored channels were marked at core depths of 50-75 cm, contrasting with black interlayers of hydrotroillite and dark grey silty clay. Lenses of gas hydrates were

present at a depth of 184 cm and deeper. The chemical composition of pore waters was characterized by a significant increase in concentrations of hydrogen carbonate ions with depth. The concentrations of sulphate and nitrate ions did not vary significantly along the depth of the cores and were lower than those observed in near-bottom water, their profiles near GH lenses had a saw-toothed character (Fig. 2). In the core of St7GC2, at a depth of 30-45 cm, there was an oxidized reddish channel with a diameter of 1 cm and a depth of 2-3 cm. The concentrations of hydrocarbonate and sulphate ions in the oxidized channel corresponded to those observed in the sediment-water-boundary zone (Fig. 2). In the deeper core layers, the sulphate ion concentration decreased to 0.3 mg/L, and the hydrocarbonate ion concentration increased slightly.

In the St 5 cores sampled in 2021, an increase in pore water salinity with depth was also observed; below 150 cm, the concentration gradient of pore waters increased, and the values were comparable to those in the St7GC1 core. In the St5GC2 core, restored channels with sand inclusion were noted at depths of 56-62 cm and deeper at depths ranging from 150 cm to 306 cm. In the St5GC2 core, oxidized channels were of small size and were observed at a depth of 185 cm, and in the St5GC3 core at a depth of 110 cm. In the latter core, several restored channels were also recorded at depths of 60-130 cm, 170-180 cm, and 186 cm. Analysis of the concentration profiles of the sulphate ion revealed higher levels of this ion in oxidized channels compared to restored channels. Chlorine ion concentrations exceeding values in background sediments are most likely related to the GH formation/dissolution process (Ginzburg and Solov'ev, 1994), and its profiles confirm the occurrence of this process in sediments up to a depth of more than 3 meters. We should also note



the unusually high nitrate ion values in the 2021 cores, with a maximum concentration of 47.3 mg/L in the surface layer of St5GC2.

### 3.2. Beta diversity of the microbial community

There were identified 1342087 fragments of the 16S rRNA gene characterizing the composition of microbial communities. The bacterial community of the studied cores is represented by 11 phyla: *Chloroflexota*, *Atribacterota* (previous *Caldatribacteriota*), *Actinobacteriota*, *Pseudomonadota* (previous *Proteobacteria*), *Acidobacteriota*, *Nitrospirota*, *Desulfobacterota*, *Sva0485*, *Patescibacteria*, *Caldisericota*, *Elusimicrobiota*, *Spirochaetota*, MBNT15, and *Bacteroidota* made a minor contribution (no more than 3%) to the communities in 2016, and *Caldisericota*, *Desulfobacterota*, and *Spirochaetota* (no more than 6%) in 2021. Representatives of such taxa as *Alphaproteobacteria*, *Sva0485*, and *Patescibacteria*, *Elusimicrobiota* constituted a higher percentage only in

the communities of some sediments layers. All communities were dominated by members of the five phyla (*Chloroflexota*, *Caldatribacteriota*, *Actinobacteriota*, *Acidobacteriota*, *Nitrospirota*) and of the class *Gammaproteobacteria*. At the same time, the contribution of these taxa to the communities of different core layers in the studied years was not equal, with the most significant differences in bacterial community structure observed between oxidized surface sediments and lower-lying restored sediments (Figs. 3 and 4), as confirmed by community analysis based on Bray-Curtis dissimilarity. The studied communities were divided into two clusters (Fig. 4). The first included bacterial populations from the surface sediments of St7 (2016), and the second cluster contained the samples from the anoxic zone, divided into numerous subclusters. At the same time, communities from oxidized (St7GC2\_35-38) and restored (St5GC2\_60) channels were included in the same subcluster, which could be a consequence of the compensation of environmental conditions after GH dissolution, ensuring the development of metabolically diverse taxa.

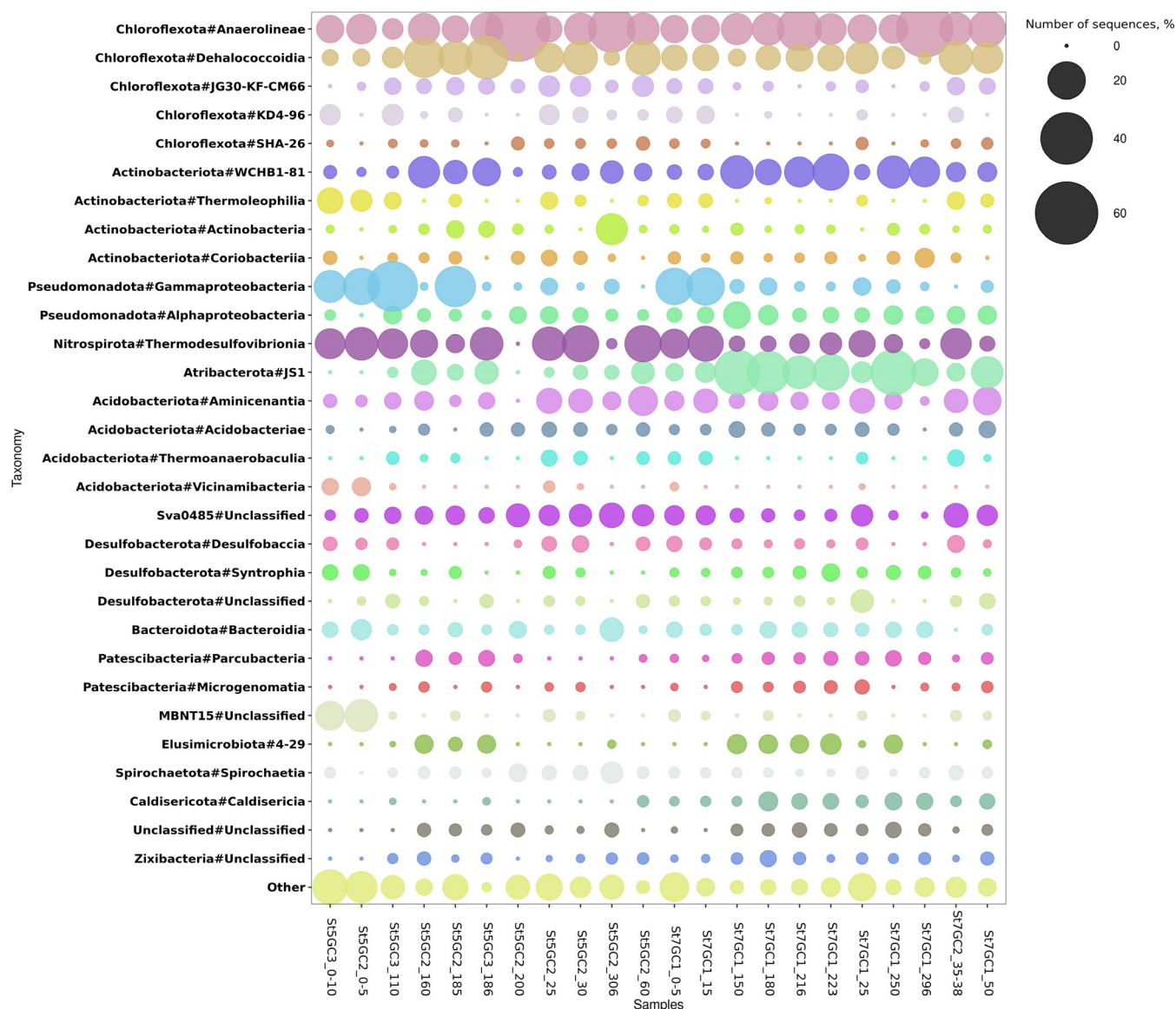
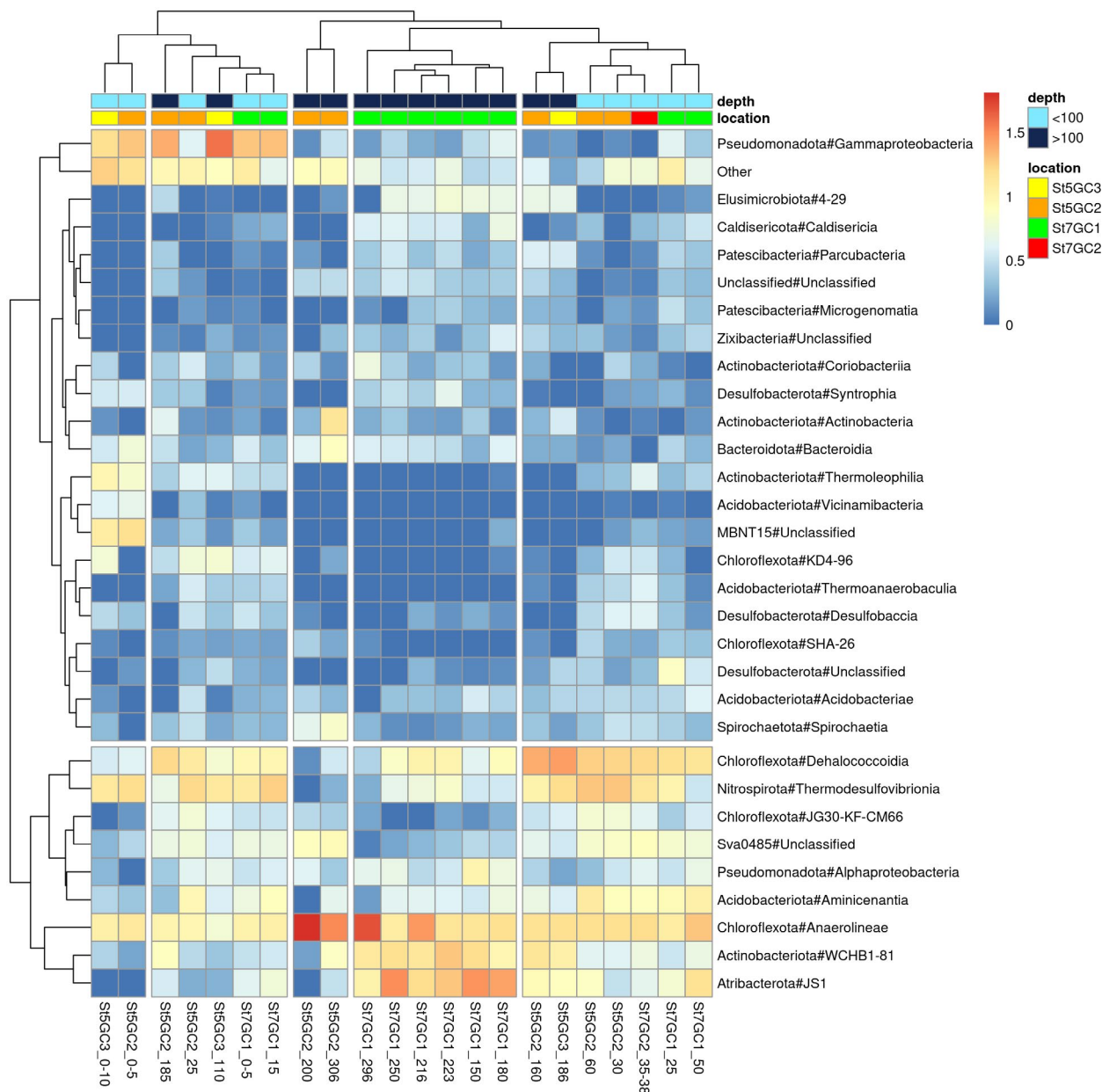


Fig.3. The average relative abundance (16S rRNA) of key bacterial taxa in communities from different sediment layers of the Krasny Yar methane seep.



**Fig.4.** Heat map showing differences in relative abundance of bacterial classes in different core layers based on Bray-Curtis distances. Colors show normalized relative abundance of taxa in different core layers.

The communities of all cores were dominated by *Chloroflexota*; their contribution in St7 cores ranged from 17.3% to 51%, and in St5 cores from 15.6 to 68.7%. These organoheterotrophic bacteria made a significant contribution to the microbial communities of the bottom sediments in other areas of Lake Baikal, including the zones of discharge of gas-containing mineralized fluids (Zemskaya et al., 2021; Lomakina et al., 2023). In the studied cores, the sequences of this phylum belonged mainly to the families *Anaerolineaceae* and *Dehalococcoidaceae*, and only a small percentage of them belonged to uncultivated *Chloroflexota* from different clusters (KD4-96, JG30-KF-CM66 and SHA-26) (Fig. 3). The maximum relative abundance of the first family was observed in sediment communities below 200 cm and of the second family at various depths, including communities of restored channels. Bacteria of the class *Anaerolineae* are obligate anaerobes and secondary fermenters, whereas members of the class *Dehalococcoidia* are organotrophic homoacetogens (Fincker et al., 2020;

Vuillemin et al., 2020). Some of them use oxygen as the final electron acceptor in respiration, participating in the fermentation of sugars and amino acids under anaerobic conditions (Hug et al., 2013).

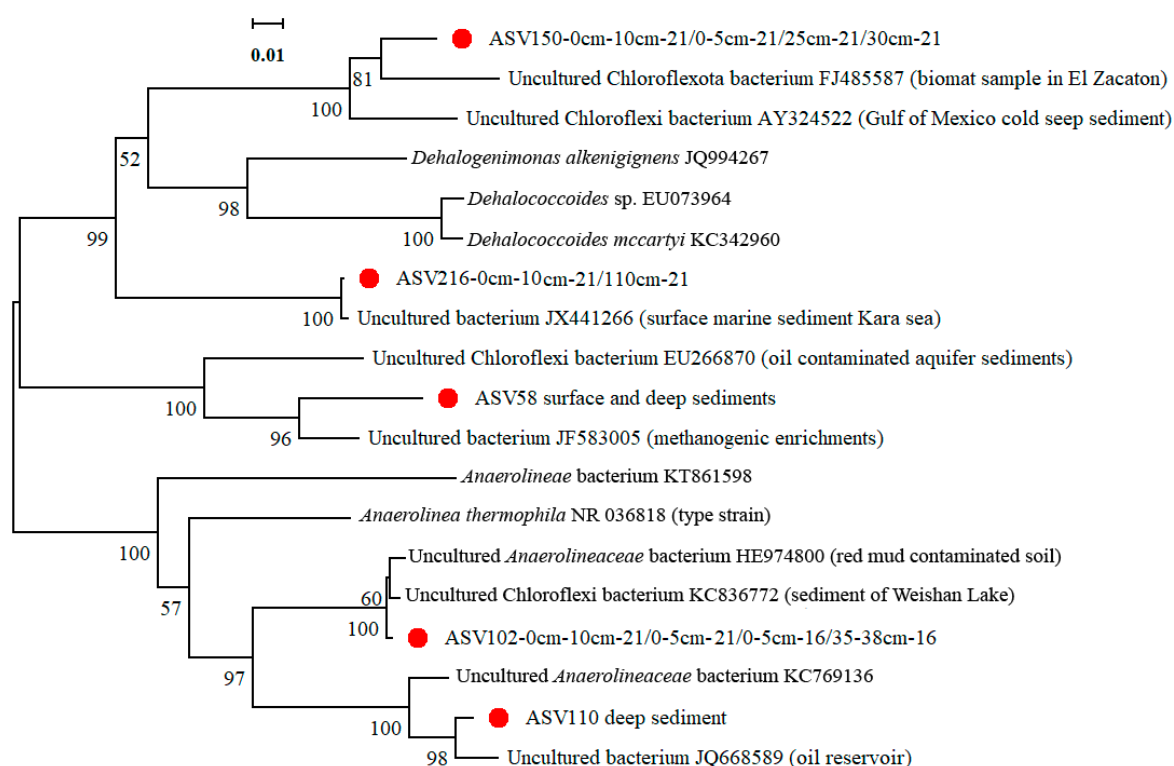
The communities of surface samples St7GC1 and to a depth of 15 cm, as well as in the oxidized channel (St7GC2\_35-38), also showed a high relative abundance of *Nitrospirota* representatives (12.7, 18.5, and 12.7%, respectively), whose contribution in the underlying sediments did not exceed 5.2%. The communities of these layers of sediments differed from each other by the contribution of *Gammaproteobacteria*, whose percentage was less than 1% in the oxidized channel and about 20% in the surface sediments, which may be determined by the presence of energy sources, particularly oxygen, in this zone. The sequences of this class belonged to the orders *Burkholderiales* and *Methylococcales*. Representatives of the last order, aerobic methanotrophs are mainly found in surface sediments, where their contribution reached 1.5 and 8.3% in St5 cores and 10.6-16.8% in St7 cores.

The oxidized (St7GC2\_35-38) and restored (St7GC1\_50) channel communities were also characterized by higher sequence contributions of *Caldatibacteriota* (13.7 and 3.7%) and *Nitrospirota* (12.7 and 2.7%) (Fig. 4) consistent with their metabolic capabilities. The chemoorganotrophic *Caldatibacteriota* are involved in the oxidation of peptides, amino acids, fatty acids, and simple sugars through aerobic and anaerobic respiration (Mori et al., 2009; Carr et al., 2015; Nobu et al., 2016). They were therefore predominant in anoxygenic sediments, where their contribution ranged from 5.3 to 30% of the total sequences, with a minor contribution in surface sediments (up to 3.4%). Among *Nitrospirota*, sequences of *Thermodesulfovibrionia* class are the most abundant and have been shown to be involved in hydrogen oxidation, sulphate and nitrate reduction, and sulfur disproportionation (Umezawa et al., 2022), allowing them to survive in a wide range of environmental conditions. The communities of the underlying sediments had a similar structure, with only sample St7GC1\_25 showing a high percentage of *Patescibacteria* (33.3%), which was less than 4.6% in other sediments.

The community structure in the surface layers of St5 cores differed from that observed in St7 communities due to the presence of representatives of the candidate phylum MBNT15 (14 and 11.3%, respectively). In addition, the relative abundance of sequences of *Caldatibacteriota* (0-7.8%), and *Desulfobacterota* (0-0.7%) in the communities of the studied St5 cores is significantly lower with their higher values in the oxidized channels of St5GC2\_185 and St5GC3\_110 (1.6-3.5%). The latter communities were dominated by *Gammaproteobacteria* (24 and 37%), and their relative abundance was higher than in the surface sed-

iments (14-19%). The oxidized channel communities (St5GC3\_110 and St5GC2\_185) were dominated by sequences of the order *Methylococcales* (24.5 and 13.5%, respectively), the percentage of which exceeded the values observed in the surface and deep sediments of this core, as well as in the restored channels (0.3-1.8%). In the deep layer of St5GC2\_200, where higher concentrations of hydrogen carbonate and nitrate ions were recorded, the structure of the bacterial community differed from others by the predominance (70%) of *Anaerolineaceae* (*Chloroflexota*) sequences and the minor contribution of taxa dominant in the upper-laying sediments (Fig. 3). The presence of taxonomically diverse representatives of this phylum in different ecotopes is confirmed by phylogenetic analysis. The *Chloroflexota* sequences in the studied cores formed 5 clusters on the phylogenetic tree (Fig. 5) with unclassifiable sequences. Two of them combined the sequences from either deep and GH-associated or surface sediment layers. Some sequences from surface sediments and oxidized channels formed two more clusters: one was represented by sequences from the surface and oxidized channel St5GC3\_110, and the other by sequences from the surface and oxidized channel St7GC2\_35-38. Another cluster was formed by sequences found in all ecotopes.

Common bacterial amplicon sequences (ASV) in communities from different ecotopes were determined using the Venn diagrams. The number of common ASV in the St7 core communities was 4%, including GIF9 sequences (family *Dehalococcoidia*), MSB-5B2 (*Anaerolineae*), *Cutibacterium* (*Actinobacteriota*), *Thermodesulfovibrionia* (*Nitrospirota*), JS1 (*Caldatibacteriota*), *Spirochaetota*,



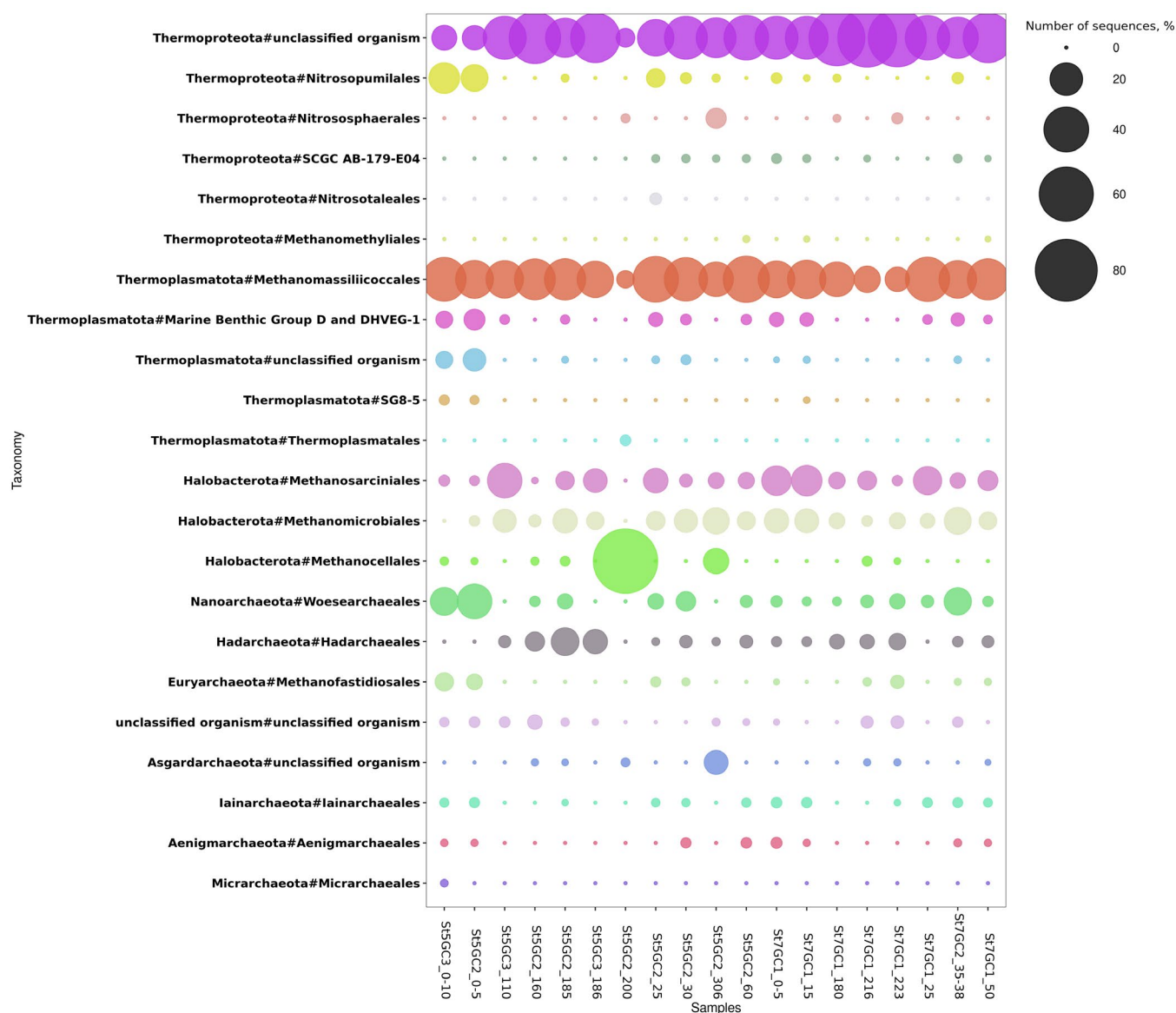
**Fig.5.** Phylogenetic tree of representatives of the phylum *Chloroflexota* based on 16S rRNA gene sequence analysis indicating the position of bacteria from different layers of the bottom sediments. The obtained sequences are highlighted by triangles on the phylogenetic tree. The scale bar shows the evolutionary distance corresponding to one nucleotide sequence per 100 nucleotides.



Sva0485, and *Zixibacteria*. Total ASV in the St5 core communities were less significant (<1%), and they also belonged to GIF9 (*Dehalococcoidia*), Sva0485, *Thermodesulfovibrionia* (*Nitrospirota*). The diversity of common ASV in the oxidized and restored channel communities in both years of the study was 4%, with GIF9 and *Thermodesulfovibrionia* sequences identified, as well as *Cutibacterium*, WCHB1-8 (*Actinobacteriota*), MSB-5B2 (*Anaerolineae*) and *Spirochaetota* found in certain ecotopes.

In 16S rRNA gene libraries of archaea, sequences of 9 phyla were detected in the studied cores, among which the most represented sequences are the following *Thermoproteota* (42%) (previous *Crenarchaeota*), *Thermoplasmata* (31%), and *Halobacteriota* (18%). Representatives of *Nanoarchaeota* (4%), *Hadarchaeota* (3%), *Iainarchaeota* (0.5%), *Euryarchaeota* (0.8%), *Aenigmarchaeota* (0.3%), and *Asgardarchaeota* (0.6%) constituted a minor part of the communities (Fig. 6). Among *Thermoproteota*, *Bathyarchaeia* dominated in all studied communities (5.5 to 70.5% of all sequences), mostly belonging to the unclassified communities. *Bathyarchaeia* play a significant role in the global car-

bon cycle and are the most abundant group of microorganisms in anaerobic ecosystems (Feng et al., 2019). In the Baikal sediments, these archaea were usually found in the deep sediment layers, while in the cores of the investigated site their contribution was also significant in the surface layers (up to 37%). The aerobic archaea *Nitrososphaeria* (*Thermoproteota*) dominating in the surface sediments of other sites are represented in a greater degree by ammonium-oxidizing members of the family *Nitrosopumiliaceae* and in a lesser degree by sequences of the family *Nitrosopumiliaceae* (Lomakina et al., 2018; Zemskaya et al., 2018). Sequences of the first family accounted for about 13% in the surface layers of the St7 cores and in the deep layer of St5GC2\_306. In other samples from the studied site, they belonged to the minor component of the archaea communities (0.4-3.5%). Archaea involved in methane production are typical of Lake Baikal sediments. Among methanogenic archaea, the largest contribution was made by sequences of the order *Methanomassiliicoccales* (*Thermoplasmata*), consuming uncompetitive C<sub>1</sub>-methylated compounds. The relative abundance of this order varied in the St7 core communities from 12 to 38% and in the St5 cores



**Fig.6.** Taxonomic composition of archaeal communities from the bottom sediments of the Krasny Yar methane seep. Based on 16S rRNA gene analysis and classification from the SILVA database with a confidence threshold of 80%.

from 5 to 41%. In addition, acetoclastic and hydrogenotrophic archaea of the orders *Methanomicrobiales* (mainly of the genus *Methanoregula*, 1.2-12.4%) and *Methanosarcinales* (mainly of the genus *Methanosaeta*, 0.3-4.5%) were observed in the communities of the studied cores at different depths). The relative abundance of *Methanoperedens* (order *Methanosarcinales*) involved in anaerobic methane oxidation was high at depths from the surface and up to 25 cm (up to 12.8%), and in the oxidized and restored channels of St5GC3\_110 and 186 cm (9.7-20.7%, respectively). As we mentioned above, a high percentage of aerobic methanotrophs were observed in the same samples, confirming the diverse environmental conditions in the channels that support the development of both aerobic and anaerobic microorganisms. Marine Benthic Group D archaea (now *Thermopfundales*) are mixotrophic  $H_2$ -producers found in the sediments of this site, among other taxa widespread in the deep sediments (Zhou et al., 2019; Zhang et al., 2022). Representatives of this taxon and DHVEG-1 contributed little (no more than 2%) to archaea communities. The percentage of common archaeal ASV in the St7 communities was 7%, among which *Bathyarchaeia* (*Thermoproteota*) and *Methanomassiliicoccales* (*Thermoplasmata*) sequences were identified, whereas in the St5 communities, the common ASV were those of the last phylum (3%). Communities from oxidized and restored channels were characterized by the presence of ASV in the aforementioned two phyla and representatives of *Methanoregula* (*Halobacteriota*).

A heat map showing clustering (Bray-Curtis similarity) of the studied samples based on the relative abundance of key archaea families (Fig. 7) indicates a different community structure in different sediment

layers in both years of the study. The presence of strict anaerobic methanogens and anaerobic methanotrophic archaea *Methanoperedens* in the surface sediments and aerobic ammonio-oxidising *Nitrosopumilaceae* in the deep reduced sediments may be a consequence of the migration of multidirectional fluid flows supporting the development of a wide range of taxa. In addition, the development of archaea may also be influenced by differences in physicochemical conditions. Archaea belonging to the same phylum correlated differently (positively or negatively) with chemical parameters of the habitat (Spearman correlation) (Fig. 8). They formed two clusters with a small number of significant correlations between individual taxa of archaea and ion concentration in pore water and sediment depth. Positive correlations were observed between depth,  $HCO_3^-$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  concentrations and the archaea *Methanocella* (*Halobacteriota*), *Hadarchaeia* (*Hadarchaeota*) and *Asgardarchaeota*. A wider range of taxa was negatively correlated with these parameters because sediment substrates are depleted in deep restored sediments and this may have limited the development of many species (Fincker et al., 2020; Vuillemin et al., 2020).

#### 4. Discussion

The bottom sediments in the methane seep zone are visually similar to the previous description: they are gas saturated, characterized (Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020) by fractures, the presence of oxidized and restored channels, and lens-shaped accumulations of gas hydrates. The profiles of major ion concentrations are also consistent with previously obtained data (Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al.,

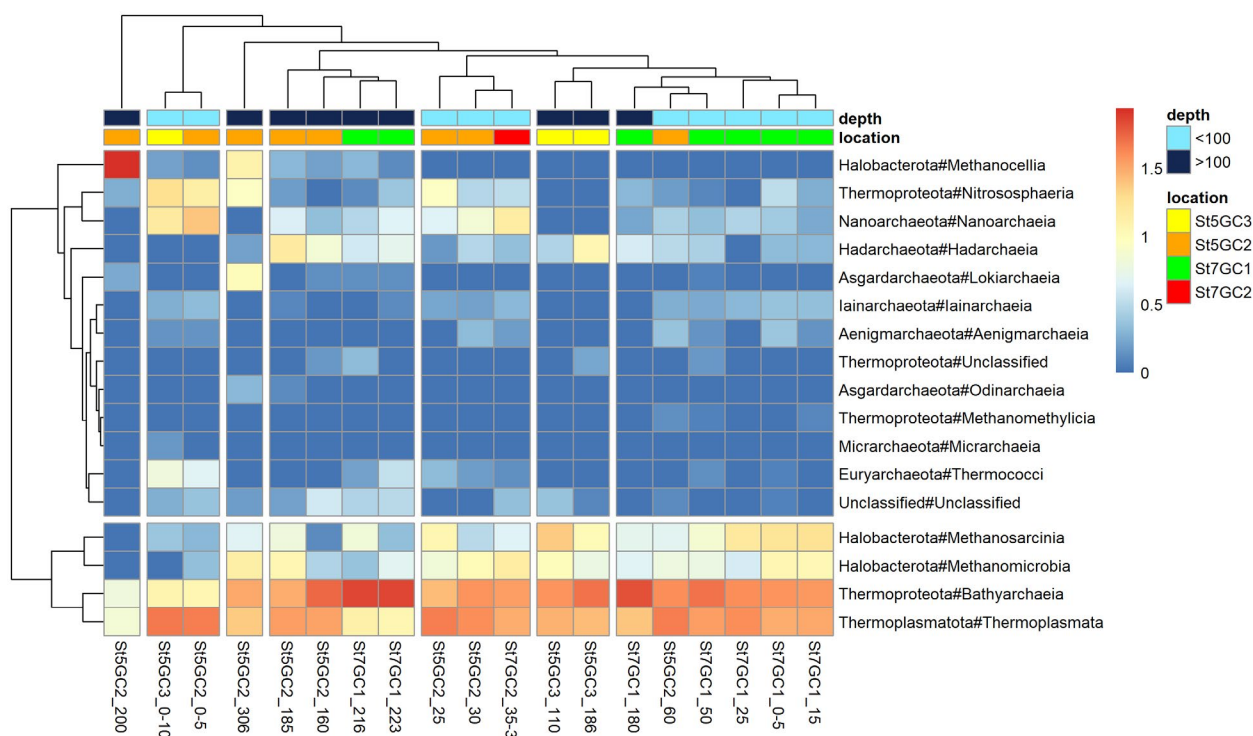
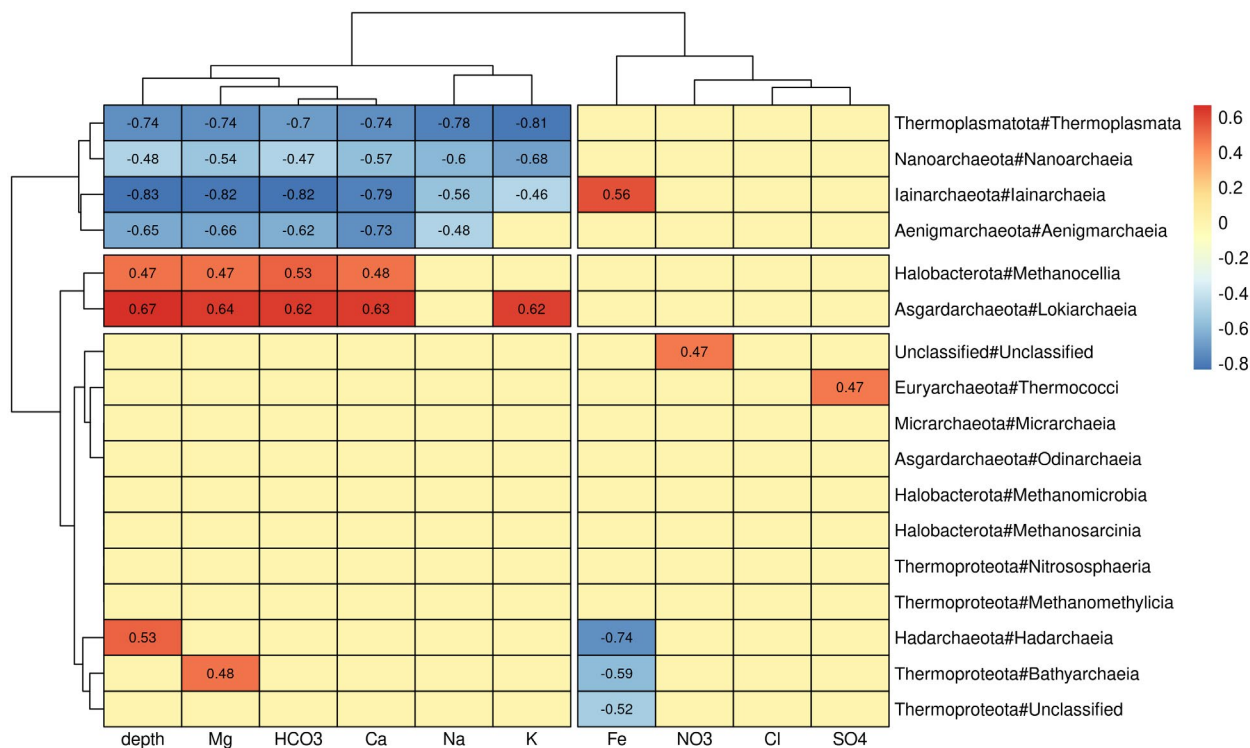


Fig.7. Heat map shows differences in the relative abundance of archaea (at the order level) in different core layers based on Bray-Curtis distances. Colors indicate the normalized relative abundance of taxa in different core layers.





**Fig.8.** Heat map of correlation relationships (Spearman correlation) between archaeal taxa and the concentration of individual ions in the pore water of the investigated sediments. Different colors indicate correlation coefficients based on the color scale to the right of the heat map. The coefficients  $p_v < 0.05$  are shown.

2020), which indicate both the presence of fluid advection from the bottom (St7 GC1) and the inflow of the near-bottom lake water into the sedimentary strata of the studied cores (St7 GC1 and St5 GC2).  $\text{HCO}_3^-$  trends in the upper few meters of the anaerobic zone of the Baikal sediments are also preserved, which are determined by submarine weathering processes occurring in deeper sediments (Lomonosov, 1974). The pore waters of 2021 were characterized by high concentrations of  $\text{NO}_3^-$ , which is an energetically advantageous oxidant and is used by microorganisms in the diagenesis of organic matter. Its significant concentrations were registered in certain years only in some regions of discharges; it was associated with the inflow of more mineralized hydrothermal and deep pore waters (Granina, 2008). We observed high concentrations of this ion in the surface sediments of St5 and a decrease with sediment depth (Figs. 2, 3, 4), which may be related to a more active consumption of this ion in the anoxic zone compared to oxygenated surface sediments, which was consistent with the taxonomic composition of microbial communities. Using nitrate as an electron acceptor during anaerobic methane oxidation, the archaea of *Methanoperedens* contributed significantly to the subsurface sediments, where a decrease in concentrations of this ion was observed.

The bottom sediments of the Krasny Yar methane seep are home to complex microbial communities involved in the transformation of various compounds and are common to freshwater lakes (Newton et al., 2011; Winters et al., 2014; Zhang et al., 2015; Vuillemin et al., 2016; Vuillemin et al., 2018; Han et al., 2020). The dominance of *Chloroflexota* representatives in communities is quite reasonable since they participate in the decomposition of vegetative compounds, which is

confirmed by the presence of cellulose, starch, long-chain sugars, and pyrogallol degradation pathways in their genomes (Hug et al., 2013). The development of organoheterotrophic bacteria in Lake Baikal sediments is favored by the presence of labile sources of organic matter, vegetated diatom algae, which are developed in Lake Baikal in spring and autumn (Votintsev et al., 1975). However, the difference in relative abundance and taxonomic affiliation of these bacteria does not indicate an increasing importance of anaerobic metabolism with increasing depth. As in other lakes, this may be a consequence of heterogeneity in organic carbon content, or differences in the intensity of migration flows and their component composition (Hug et al., 2013). The wide range of phylogenetic diverse ASV suggests that *Chloroflexota* are adapted to changing redox habitat conditions, and the broad plasticity of species in this phylum allows them to dominate at all sediment depths we studied under energy resource limits. The presence of other taxa, although less represented in the cores studied, provides further degradation that produces substrates used by other microorganisms. Thus, the anaerobic bacteria *Desulfobacterota*, present in the communities, are able to provide oxidation of short-chain fatty acids (*Syntrophaceae*, *Smithellaceae*) or acetate (*Desulfobaccaceae*) in syntrophic interaction with methanogenic archaea (Galushko and Kuever, 2019). Representatives of the chemoorgano-getrotrophic *Atribacterota* and *Caldisericota* participate in the oxidation of peptides, amino acids, fatty acids, and simple sugars in the processes of aerobic and anaerobic respiration (Mori et al., 2009; Carr et al., 2015; Nobu et al., 2016).

We did not find any special changes in the structure of methanogenic archaea communities; their tax-

onomic composition and diversity corresponded to those observed in sediments from other regions of the lake. Among the participants in anaerobic methane oxidation, archaea of the family *Methanoperedenaceae* using nitrate as electron acceptor were mainly detected (Raghoebarsing et al., 2006), while bacteria of the order *Methylospirales* (*Methylospirabiota*) using nitrite as electron acceptor were a minor component of the communities. Distinct differences were observed between oxidized and restored channel communities, as well as when compared to communities from other core layers. The oxidized channel communities (St5GC2\_110 and 185 cm) were characterized by the presence of a significant number of sequences of aerobic methanotrophic bacteria of the families *Methylophilaceae* and *Methylomonadaceae*. Its high relative abundance at depths below 1 m may be explained by the entry of oxygenated and cell-containing methanotrophs from the near-bottom water into the anoxygenic zone. The gradual depletion of oxygen in the presence of nitrate ions may also have contributed to the development of anaerobes that oxidize methane via a nitrate-dependent pathway of *Methanoperedenaceae* in the underlying sediments (Lomakina et al., 2020). In addition, the community structure in the sediments of the studied seep may be influenced by the dissolution of GH during fluid migration leading to pore water freshening. This could explain the reducing contribution of aerobic ammonium-oxidizing archaea of the family *Nitrosopumiliaceae* (*Thermoproteota*) in the surface sediments, while in deep sediments it explains the reducing contribution of bacteria of the phylum *Caldatibacteriota*.

## 5. Conclusions

Microbial communities in the deep lake sediments are known to be structured according to the principle of energy-conserving enzymatic metabolism with gradual depletion of electron acceptors in pore water (Berg et al., 2022) and labile OM (Glombitza et al., 2013). In the sediments of the Krasny Yar methane seep, changes in the structure of the microbial communities were recorded in the zone of fluid flow migration, mainly in oxidized channels, while outside them the diversity of both bacteria and archaea was similar to that observed in the sediments from other regions: at all sediment depths studied, methylotrophic methanogens and microorganisms involved in different stages of OM fermentation were identified. The similarity of community structure in anoxic sediments and restored channels differed little, most likely due to the presence of electron acceptors in these ecotopes at the time of the study. It is also clear that the gradual depletion of energy sources and compensation of chemical conditions will, over time, lead to the disappearance of aerobic microorganisms in the channels and the dominance of taxa common to the anoxygenic zone. Our studies have shown that the presence of aerobic bacteria has been observed in the sediments down to a depth of 2 m, which coincides with geochemical and geothermal indicators that define the zone of active migration of near-bottom waters (Pogodaeva et al., 2020). The struc-

ture of microbial communities and chemical parameters in the sediments of the Krasny Yar methane seep also differs from that observed in the Posolskaya Banka upwelling region by a more active influence of the near-bottom waters on the structure in the anoxygenic zone, whereas in the fluid loop zone a greater influence of deep migration currents transporting anaerobic bacteria to the lake bottom surface was observed. It is also evident that migration flows contribute to the degradation of buried organic matter by supplying substrates that promote the development of aerobic and anaerobic microorganisms in the subsurface sediments.

## Acknowledgements

The research was carried out within the State Assignment of LIN SB RAS No. 0279-2021-0006. This study was carried out using the equipment of the Core Centrum “Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology” in ARRIAM. The authors would like to thank Irkutsk Supercomputer Center SB RAS for providing access to HPCcluster “Akademik V.M. Matrosova”.

## Compliance with ethical standards

The present paper does not contain the results of studies using humans or animals as subjects.

## Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

## References

- Aloisi G., Pogodaeva T.V., Poort J. et al. 2019. Biogeochemical processes at the Krasny Yar seepage area (Lake Baikal) and a comparison with oceanic seeps. *Geo-Marine Letters* 39(1): 59–75. DOI: [10.1007/s00367-019-00560-8](https://doi.org/10.1007/s00367-019-00560-8)
- Andrews S. 2020. FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data. available online: URL: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc> (accessed on 1 February 2022)
- Baram G.I., Vereshchagin A.L., Golobokova L.P. 1999. Microcolumn high performance liquid chromatography with UV detect in for the determination of anion in environmental materials. *Journal of Analytical Chemistry* 54: 854–857.
- Berg J.S., Lepine M., Laymand E. et al. 2022. Ancient and modern geochemical signatures in the 13,500-year sedimentary record of Lake Cadagno. *Frontiers in Earth Science* 9. DOI: [10.3389/feart.2021.754888](https://doi.org/10.3389/feart.2021.754888)
- Brown K., Westbrook G.K. 1988. Mud diapirism and subcretion in the Barbados Ridge accretionary complex – the role of fluids in accretionary processes. *Tectonics* 7: 613–640.
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. et al. 2014. Flexible trimmer for Illumina sequence data *Bioinformatics* 30: 2114–2120.
- Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J. et al. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13: 581–583.
- Callahan B.J., Sankaran K., Fukuyama J.A. et al. 2016. Bioconductor workflow for microbiome data analysis: From raw reads to community analyses. *F1000 Research* 5: 1492.
- Carr S.A., Orcutt B.N., Mandernac K.W. et al. 2015. Abundant Atribacteria in deep marine sediment from the Adélie Basin, Antarctica. *Frontiers in microbiology* 6: 872.

Advance online publication. DOI: [10.3389/fmicb.2015.00872](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00872)

Chernitsyna S.M., Mamaeva E.V., Lomakina A.V. et al. 2016. Phylogenetic diversity of microbial communities of the Posolsk Bank bottom sediments, Lake Baikal. *Microbiology* 85(6): 672–680 (in Russian) DOI: [10.1134/s0026261716060060](https://doi.org/10.1134/s0026261716060060)

Feng X., Wang Y., Zubin R. et al. 2019. Core metabolic features and hot origin of *Bathyarchaeota*. *Engineering* 5(3): 498–504. DOI: [10.1016/j.eng.2019.01.011](https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.01.011)

Fincker M., Huber J.A., Orphan V.J. et al. 2020. Metabolic strategies of marine subsea floor Chloroflexi inferred from genome reconstructions. *Environment Microbiology* 22(8): 3188–3204. DOI: [10.1111/1462-2920.15061](https://doi.org/10.1111/1462-2920.15061)

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

Ginzburg G.D., Solov'ev V.A. 1994. Submarine gas hydrates. St-Petersburg: VNI Okeanologiya Press. (in Russian)

Glombitza C., Stockhecke M., Schubert C. et al. 2013. Sulfate reduction controlled by organic matter availability in deep sediment cores from the saline, alkaline Lake Van (Eastern Anatolia, Turkey). *Frontiers in Microbiology* 4. DOI: [10.3389/fmicb.2013.00209](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00209)

Granina L.Z. 2008. Early diagenesis of bottom sediments in Lake Baikal. Academicl Publish House “Geo”. (in Russian)

Han X., Schubert C.J., Fiskal A. et al. 2020. Eutrophication as a driver of microbial community structure in lake sediments. *Environmental Microbiology* 22(8): 3446–3462. DOI: [10.1111/1462-2920.15115](https://doi.org/10.1111/1462-2920.15115)

Hedberg H.D. 1974. Relation of methane generation to under compacted shales, shale diapirs, and mud volcanoes. *AAPG Bulletin* 58: 661–673.

Hug L.A., Castelle C.J., Wrighton K.C. et al. 2013. Community genomic analyses constrain the distribution of metabolic traits across the Chloroflexi phylum and indicate roles in sediment carbon cycling. *Microbiome* 1(1): 22. DOI: [10.1186/2049-2618-1-22](https://doi.org/10.1186/2049-2618-1-22)

Khabuev A.V., Chensky D.A., Solovieva M.A. et al. 2016. Gas hydrate resources estimation by geophysical methods in the zone of underwater gas discharge at the seep “Krasny Yar” of Lake Baikal. *Proceedings of the Siberian Branch of the Earth Sciences Section of the Russian Academy of Natural Sciences*. 1: 67–74. (in Russian)

Khlystov O., De Batist M., Shoji H. et al. 2013. Gas hydrate of Lake Baikal: Discovery and varieties. *Journal of Asian Earth Sciences* 62(1): 162–166 DOI: [10.1016/j.jseaes.2012.03.009](https://doi.org/10.1016/j.jseaes.2012.03.009)

Klerx J., De Batist M., Poort J. et al. 2006. Tectonically controlled methane escape in Lake Baikal. *Advances in the geological storage of carbon dioxide*. NATO Science Series, IV. Earth and Environmental Sciences. Netherlands: IOS PRESS Springer. 65: 203–219. DOI: [10.1007/1-4020-4471-2\\_17](https://doi.org/10.1007/1-4020-4471-2_17)

Kopf A. 2002. Significance of mud volcanism. *Reviews of Geophysics* 40(2): 2–52 DOI: [10.1029/2000RG000093](https://doi.org/10.1029/2000RG000093)

Kuzmin M.I., Karabanov E.B., Kawai T. et al. 2001. Deep drilling on Lake Baikal: main results. *Russian Geology and Geophysics* 42: 8–34.

Logatchev N.A. 1993. History and geodynamics of the Lake Baikal rift in the context of the Eastern Siberia rift system: a review. *Bulletin des centres de recherches exploration-production Elf-Aquitaine* 17(2): 353–370.

Lomakina A.V., Mamaeva E.V., Pogodaeva T.V. et al. 2018. Anaerobic methane oxidation in enrichment cultures from deep sediments of a mud volcano Peschanka (South Baikal). *Microbiology* 87(3): 317–325. (In Russian). DOI: [10.1134/s0026261718030049](https://doi.org/10.1134/s0026261718030049)

Lomakina A., Pogodaeva T., Kalmychkov G. et al. 2020. Diversity of NC10 Bacteria and ANME-2d Archaea in sedi-

ments of fault zones at Lake Baikal. *Diversity* 12(1): 1–19. DOI: [10.3390/d12010010](https://doi.org/10.3390/d12010010)

Lomakina A., Bukin S., Shubenkova O. et al. 2023. Microbial communities in ferromanganese sediments from the northern basin of Lake Baikal (Russia). *Microorganisms* 11(7): 1865. DOI: [10.3390/microorganisms11071865](https://doi.org/10.3390/microorganisms11071865)

Lomonosov I.S. 1974. *Geochemistry and formation of modern hydrotherms in the Baikal rift*. Novosibirsk: Nauka (in Russian).

Milkov A.V. 2005. Molecular and stable isotope compositions of natural gas hydrates: A revised global dataset and basic interpretations in the context of geological settings. *Organic Geochemistry* 36 (5): 681–702. DOI: [10.1016/j.orggeochem.2005.01.010](https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.01.010)

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

Naudts L., Khlystov O., Granin N. et al. 2012. Stratigraphic and structural control on the distribution of gas hydrates and active gas seeps on the Posolsky Bank, Lake Baikal. *Geo-Marine Letters* 32(5): 395–406. DOI: [10.1007/s00367-012-0286-y](https://doi.org/10.1007/s00367-012-0286-y)

Newton R.J., Jones S.E., Eiler A. et al. 2011. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 75(1): 14–49. DOI: [10.1128/mmr.00028-10](https://doi.org/10.1128/mmr.00028-10)

Nobu M.K., Dodsworth J.A., Murugapiran S.K. et al. 2016. Phylogeny and physiology of candidate phylum ‘Atribacteria’ (OP9/JS1) inferred from cultivation-independent genomics. *International Society for Microbial Ecology* 10(2): 273–286. DOI: [10.1038/ismej.2015.97](https://doi.org/10.1038/ismej.2015.97)

Pogodaeva T.V., Poort J., Aloisi G. et al. 2020. Fluid migrations at the Krasny Yar methane seep of Lake Baikal according to geochemical data. *Journal of Great Lakes Research* 46(1): 123–131. DOI: [10.1016/j.jglr.2019.08.003](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.08.003)

Raghoebarsing A.A., Arjan P.K., van de Pas-Schoonen T. et al. 2006. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature* 440(7086): 918–921. DOI: [10.1038/nature0461](https://doi.org/10.1038/nature0461)

Sahm K., John P., Nacke H. et al. 2013. High abundance of heterotrophic prokaryote in hydrothermal springs of the Azores as revealed by a network of 16S rRNA gene-based methods. *Extremophiles* 7: 649–662. DOI: [10.1007/s00792-013-0548-2](https://doi.org/10.1007/s00792-013-0548-2)

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. 1987. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Scholz C.A., Hutchinson D.R. 2000. Stratigraphic and structural evolution of the Selenga delta accommodation zone, Lake Baikal rift, Siberia. *International Journal of Earth Sciences* 89(2): 212–228. DOI: [10.1007/s005310000095](https://doi.org/10.1007/s005310000095)

Umezawa K., Kojima H., Kato Y. et al. 2022. Corrigendum to “*Dissulfurispira thermophila* gen. nov., sp. nov., a thermophilic chemolithoautotroph growing by sulfur disproportionation, and proposal of novel taxa in the phylum *Nitrospirota* to reclassify the genus *Thermodesulfovibrio*”. *Systematic and Applied Microbiology* 45(6): 126323. Advance online publication. DOI: [10.1016/j.syapm.2022.126323](https://doi.org/10.1016/j.syapm.2022.126323)

Vanneste H., Kelly-Gerreyn B.A., Connelly D.P. et al. 2011. Spatial variation in fluid flow and geochemical fluxes across the sediment–seawater interface at the Carlos Ribeiro mud volcano (Gulf of Cadiz). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 75: 1124–1144. DOI: [10.1016/j.gca.2010.11.017](https://doi.org/10.1016/j.gca.2010.11.017)

Votintsev K.K., Meshcheryakova A.I., Popovskaya G.I.



1975. Cycle of organic matter in Lake Baikal. Novosibirsk: Nauka.

Vuillemin A., Friese A., Alawi M. et al. 2016. Geomicrobiological features of ferruginous sediments from Lake Towuti, Indonesia. *Frontiers in Microbiology* 7. Advance online publication. DOI: [10.3389/fmicb.2016.01007](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01007)

Vuillemin A., Ariztegui D., Horn F. et al. 2018. Microbial community composition along a 50 000-year lacustrine sediment sequence. *FEMS Microbiology Ecology* 94(4): Advance online publication. DOI: [10.1093/femsec/fiy029](https://doi.org/10.1093/femsec/fiy029)

Vuillemin A., Kerrigan Z., D'Hondt S. et al. 2020. Exploring the abundance, metabolic potential and gene expression of subsurface Chloroflexi in million-year-old oxic and anoxic abyssal clay. *FEMS Microbiology Ecology* 96(12) DOI: [10.1093/femsec/fiaa223](https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa223)

Von Huene R., Lee H.J. 1983. The possible significance of pore fluid pressures in subduction zones. *The American Association of Petroleum Geologists Members* 34: 781–791.

Wetzel R.G., Likens G.E. 1991. *Limnological Analyses*. New York: Springer.

Winters A.D., Marsh T.L., Brenden T. et al. 2014. Molecular characterization of bacterial communities associated with sediments in the Laurentian Great Lakes. *Journal of Great Lakes Research* 40(3): 640–645. DOI: [10.1016/j.jglr.2014.04.008](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2014.04.008)

Yu Y., Lee C., Kim J. et al. 2005. Group-specific primer and probe sets to detect methanogenic communities using quantitative real-time polymerase chain reaction. *Biotechnology and Bioengineering* 89: 670–679. DOI: [10.1002/bit.20347](https://doi.org/10.1002/bit.20347)

Zemskaya T.I., Pogodaeva T.V., Shubenkova O.V. et al. 2010. Geochemical and microbiological characteristics of sediments near the Malenky mud volcano (Lake Baikal, Russia), with evidence of Archaea intermediate between the marine anaerobic methanotrophs ANME-2 and ANME-3. *Geo-Marine Letters* 30(3–4): 411–425. DOI: [10.1007/s00367-010-0199-6](https://doi.org/10.1007/s00367-010-0199-6)

Zemskaya T.I., Lomakina A.V., Mamaeva E.V. et al. 2018. Composition of microbial communities in sediments from Southern Baikal containing Fe/Mn concretions. *Microbiology* 87(3): 291–302. DOI: [10.7868/S0026365618030072](https://doi.org/10.7868/S0026365618030072)

Zemskaya T.I., Bukin S.V., Lomakina A.V. et al. 2021. Microorganisms in the sediments of Lake Baikal, the deepest and oldest lake in the world. *Microbiology* 90(3): 298–313. DOI: [10.1134/S0026261721030140](https://doi.org/10.1134/S0026261721030140)

Zhang J., Yang Y., Zhao L. et al. 2015. Distribution of sediment bacterial and archaeal communities in plateau freshwater lakes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99(7): 3291–3302. DOI: [10.1007/s00253-014-6262-x](https://doi.org/10.1007/s00253-014-6262-x)

Zhang X., Huang Y., Liu Y. et al. 2022. An ancient respiratory system in the widespread sedimentary archaea *Thermopfundales*. *Molecular Biology and Evolution* 39(10): msac213. DOI: [10.1093/molbev/msac213](https://doi.org/10.1093/molbev/msac213)

Zhou Z., Liu Y., Lloyd K.G. et al. 2019. Genomic and transcriptomic insights into the ecology and metabolism of benthic archaeal cosmopolitan, *Thermopfundales* (MBG-D archaea) *The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 13(4): 885–901. DOI: [10.1038/s41396-018-0321-8](https://doi.org/10.1038/s41396-018-0321-8)

# Микробные сообщества в зоне миграции флюидопотоков в донных отложениях метанового сипа Красный Яр (Южный Байкал)



Земская Т.И.\*, Ломакина А.В., Погодаева Т.В., Букин С.В., Колесников П.М., Шубенкова О.В., Хабуев А.В., Хлыстов О.М.

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

**АННОТАЦИЯ.** В осадках метанового сипа Красный Яр, в зоне приповерхностного залегания газовых гидратов и наличия окисленных и восстановленных каналов, исследовано разнообразие и структура микробных сообществ методом баркодирования гена 16S рРНК. Разнообразие как бактерий, так и архей по глубине кернов было сходно с таковыми в осадках других районов: на всех исследованных глубинах осадочной толщи выявлялись метилотрофные метаногены и микроорганизмы, участвующие в разных этапах ферментации органического вещества. Существенное влияние на разнообразие микробных сообществ из окисленных каналов оказывали миграционные потоки придонной воды, обогащенной кислородом и аэробными бактериями. Флюиды, мигрирующие из глубинной зоны к поверхности дна, обеспечивали перемещение из аноксигенных осадков анаэробных архей, участвующих в процессе АОМ. Полученные данные согласуются с геохимическими и геотермическими показателями, определяющими зону активной миграции придонных вод.

**Ключевые слова:** озеро Байкал, донные отложения, флюидопотоки, микробные сообщества, ген 16S рРНК, разнообразие

Для цитирования: Земская Т.И., Ломакина А.В., Погодаева Т.В., Букин С.В., Колесников П.М., Шубенкова О.В., Хабуев А.В., Хлыстов О.М. Микробные сообщества в зоне миграции флюидопотоков в донных отложениях метанового сипа Красный Яр (Южный Байкал) // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 1155-1179. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1155

## 1. Введение

Озеро Байкал самое древнее и глубокое озеро мира характеризуется мощными донными отложениями, толщина которых в разных котловинах составляет от 7 до 9 километров (Logatchev, 1993; Scholz and Hutchinson, 2000). Длительная история седиментации и многокилометровые отложения с высоким содержанием органического вещества (ОВ) способствовали образованию в них больших количеств жидких, газообразных углеводородов (Kuzmin et al., 2001; Khlystov et al., 2013). Кроме того, в осадках Байкала обнаружены скопления газовых гидратов (ГГ), которые встречаются в донных осадках морей, океанов и в вечной мерзлоте высоких широт. Как и в морских экосистемах (Milkov, 2005; Kopf, 2002), в Байкале на участках с выходом флюидов на дно озера обнаружены различные типы геологических структур (грязевые вулканы, метановые и нефтяные сипы) (Khlystov et al., 2013). Такие геологические образования имеют тенденцию образыв-

ваться в тех районах, где осадки быстро накапливаются или в зонах, подверженных тектоническому напряжению и/или образованию углеводородов, создающих избыточное давление, необходимое для выброса флюидов (Hedberg, 1974; von Hueene and Lee, 1983; Brown and Westbrook, 1988). Системы холодного просачивания в Байкале по размеру и частоте сравнимы с системами океанических высокопродуктивных континентальных окраин, но характеризуются особыми механизмами образования и особенностями движения газонасыщенных флюидопотоков (Naudts et al., 2012; Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020). Непременными условиями для их протекания является высокая газонасыщенность осадочной толщи, близость к разломам или каналам, по которым в разных направлениях мигрируют газы и жидкости, и в некоторых случаях, наличие ГГ. Например, в районе Посольского разлома выход газа обуславливает освобождение порового пространства в донных отложениях под зоной стабильности ГГ, которое заполняется водой,

\*Автор для переписки.

Адрес e-mail: [tzema@lin.irk.ru](mailto:tzema@lin.irk.ru) (Т.И. Земская)

Поступила: 23 июля 2024; Принята: 08 августа 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

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



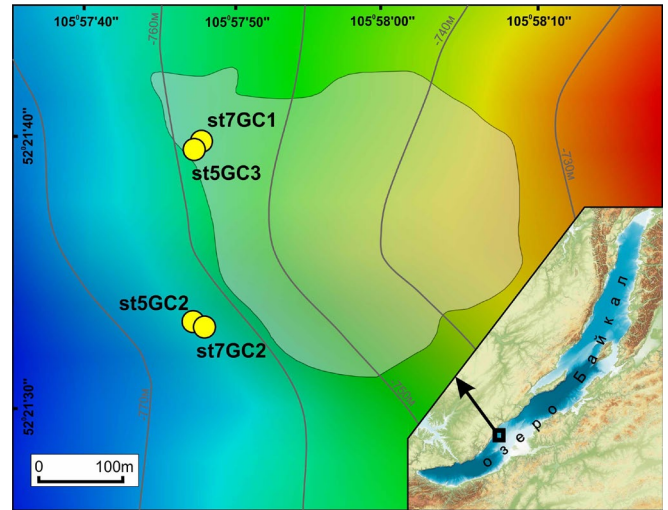
всасывающейся из водной толщи по соседним разломам или через каналы в донных отложениях. Вода, попадая в слои осадка под зоной стабильности ГГ, нагревается, что вновь приводит к формированию восходящего потока жидкости и его выходу в водную толщу в месте разгрузки. Это подтверждено наличием высоких положительных значений тепловых потоков, соседствующих с областями аномально низких и отрицательных, обеспечивающих формирование конвективной «флюидной петли» (Vanneste et al., 2011). Поступлению флюидов со значительных глубин (ниже зоны стабильности ГГ) подтверждалось присутствием мантийного гелия в образцах газовых гидратов, отобранных в данном районе (Klerkx et al., 2006). Как было показано Chernitsyna et al. (2016) вместе с мигрирующими глубинными флюидами на поверхность дна поступают и микроорганизмы, характерные для глубоководных восстановленных осадочных толщ.

В осадках другого района, метанового сипа Красный Яр также зафиксирована миграция флюидопотоков с иным механизмом их формирования (Naudts et al., 2012; Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020). Согласно геохимическим и геотермическим данным разогретый минерализованный газонасыщенный флюид поднимается вдоль зоны глубинного разлома к поверхности дна, и проходя зону нижней границы стабильности ГГ, дестабилизирует их, обогащаясь новой по составу водой и газом. Часть этого газа в подповерхностных осадках из-за снижения температуры вновь образует ГГ, а часть разгружается в водную толщу в пузырьковой и растворенной форме. Газ, скапливаясь под газогидратными крышками, создает избыточное давление и вызывает растрескивание и изменение проницаемости осадка, обеспечивая поступление придонных вод и их смешение с вмещающими водами и водами флюида. Приповерхностная микроциркуляция вод осуществляется в 1.5 метровом слое, где фиксируются окисленные и восстановленные каналы разгрузки флюидов (Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020). Данных о влиянии миграционных потоков на распределение отдельных микроорганизмов в донных отложениях этой геологической структуры не имеется. Поэтому целью настоящей работы являлось исследование разнообразия и таксономической структуры микробных сообществ в зоне флюидопотоков осадков метанового сипа Красный Яр и оценке влияния последних на распределение отдельных таксонов.

## 2. Материалы и методы

### 2.1. Объекты исследования и отбор образцов

С помощью гравитационных труб с борта НИС «Т.Ю. Верещагин» отобрано 4 керны, в районе метанового сипа Красный Яр (Рис. 1), расположенного на западном склоне дельты реки Селенги в южной котловине озера Байкал. Керны отбирались в центральной зоне, где в верхней части геологического разреза - от поверхности дна и до глубины 3 м,



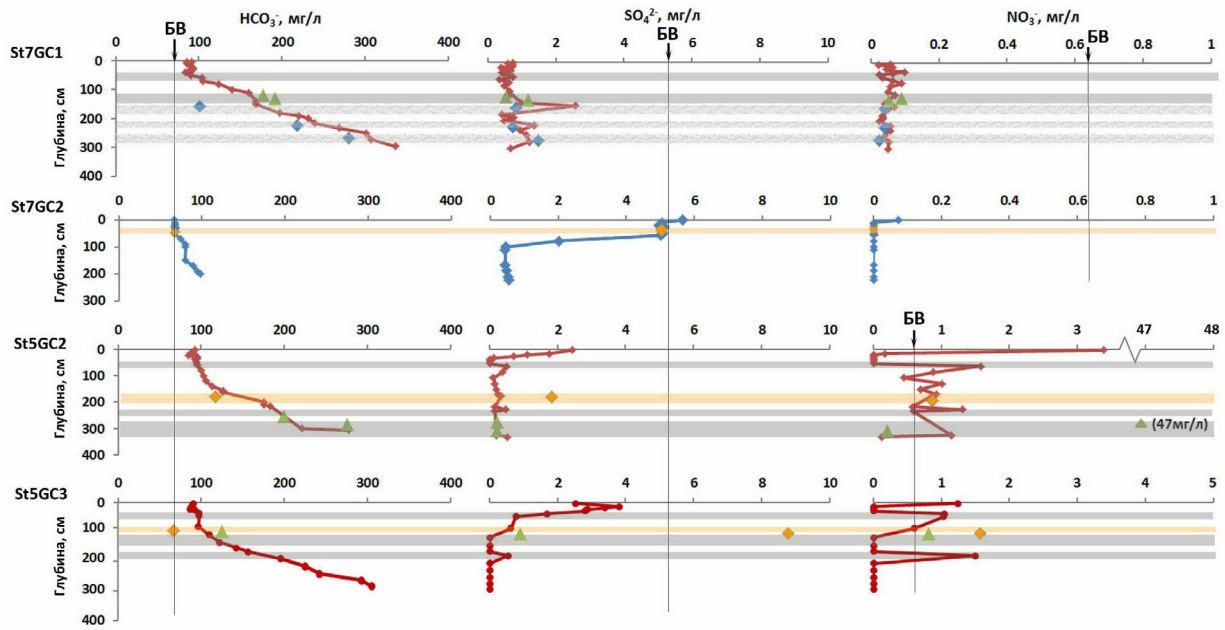
**Рис.1.** Места отбора проб в районе метанового сипа Красный Яр. Желтые круги – место отбора кернов, сплошной линией показана газогидратная зона (Khabuev et al., 2016).

ранее регистрировались ГГ (Khabuev et al., 2016), а также с учетом наличия в осадках окисленных или восстановленных каналов. Соответствующие этим критериям два керны (St7GC1, St7GC2) получены в июле 2016 г. (N52° 3612; E105° 9638) и два (St5GC2, St5GC3) в июле 2021 г. (N52° 3592; E105° 9638). В разрезе кернов из ГГ зоны (St7GC1 и St5GC2) отмечались восстановленные каналы (Рис.2), а в последнем - и окисленный. Вне этой зоны, в керне St7GC2, наблюдался окисленный канал, а керне St5GC3 окисленные и восстановленные каналы. Керны после поднятия на борт судна вскрывали, образцы донных отложений упаковывали в стерильную фольгу и помещали в жидкий азот до момента их анализа в лаборатории. Поровые воды отжимали непосредственно после отбора проб из донных отложений керны, химический анализ проводили в лаборатории в соответствии с общепринятыми в гидрохимии пресных вод методами (Wetzel and Likens, 1991; Baram et al., 1999), которые описаны нами ранее (Zemskaya et al., 2010). Анализировались концентрации следующих ионов: гидрокарбоната, сульфата, хлора, нитратов по глубине кернов с интервалом 10-50 см. С учетом литологического состава и наличия каналов в отобранных кернах было выделено 22 образца ДНК, в том числе в 2016 г. в кернах St7GC1 (0-5, 15, 25, 150, 180, 216, 223, 250, 296 см, восстановленный канал - 50 см) и St7GC2 (окисленный канал - 35-38 см); в 2021 г. в кернах St5GC2 (0-5, 25, 30, 160, 185, 306, восстановленный канал - 60 см, окисленный канал - 200 см) и St5GC3 (0-10 см, окисленный канал - 110 см и восстановленный канал - 186 см).

### 2.2. Выделение ДНК. Молекулярно-микробиологические методы

Суммарную ДНК из донных осадков выделяли методом фенол-хлороформной экстракции (Sambrook et al., 1987). Для ПЦР-амплификации





**Рис.2.** Химический состав поровых вод донных отложений в районе сипа Красный Яр: St7GC1, St7GC2 – 2016 г., St5GC2, St5GC3 – 2021 г. Серым цветом выделены горизонты присутствия в отложениях восстановленных каналов, рыжим цветом выделены горизонты присутствия в отложениях окисленных каналов, рябью выделены горизонты присутствия в отложениях газовых гидратов. Красные ромбы и кривые – распределение с глубиной концентраций ионов гидрокарбоната, сульфата и нитрата; синие ромбы – то же в присутствии газовых гидратов; зеленые треугольники – то же в восстановленных каналах; рыжие ромбы – то же в окисленных каналах. Тонкие черные линии со стрелкой – уровень концентраций в воде оз. Байкал.

фрагментов гена 16S рРНК бактерий, включающего вариабельный участок V2-V3, использовали праймеры 16S\_BV2F (5'-AGTGGCGGACGGGTGAGTAA-3') и 16S\_BV3R (5'-CCGCGGCTGCTGGCAC-3') (Sahm et al., 2013). Для ПЦР-амплификации фрагментов гена 16S рРНК архей использовали праймеры Arch-0787F (5'-ATTAGATACCCSBGTAGTCC-3') and Arch-1059R (5'-GCCATGCACCWCCTCT-3'), включающего вариабельный участок V5-V6 (Yu et al., 2005). Библиотеки анализировали с использованием стандартного набора Illumina MiSeq Standard Kit v.3 (Illumina) (ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология», ВНИИАМ). Полученные чтения прямого и обратного секвенирования были обрезаны с конца до 270 п.н. с использованием Trimmomatic версии 0.39 (Bolger et al., 2014), для удаления позиций, в которых более 25% чтений имели основания с относительными показателями качества < 20, рассчитанными с использованием FastQC v. 0.11.9 (Andrews, 2020).

Дальнейший анализ проводился с использованием программы R v4.2.2 в RStudio v2022.12.0. Библиотеки обрабатывались с использованием DADA2 v1.26. (Callahan et al., 2016a) в соответствии с предложенным протоколом (Callahan et al., 2016b). Считывания были отфильтрованы и объединены на основе минимального перекрытия 12 п.н. Репрезентативные последовательности были таксономически классифицированы, используя базу 138\_1 (<http://www.arb-silva.de>). ASV, которые не были таксономически классифицированы по филуму или не были отнесены к бактериальным

или архейным линиям, а так же ASV, которые были таксономически отнесены к митохондриям и хлоропластам, были исключены из дальнейшего анализа. Результаты необработанного секвенирования 16S рРНК были депонированы в Sequence Read Archive Биопроект PRJNA875570.

### 3. Результаты

#### 3.1. Литология осадков и химический состав поровых вод

Литологический состав отобранных кернов был сходным, осадки представлены темно-серой песчанистой алевритистой глиной с многочисленными вспучиваниями, трещинами дегазации, газовыми каналами фильтрации и линзами ГТ, расположенных в нижней части кернов. Поверхностный слой характеризовался наличием коричневого тонкого слоя толщиной несколько миллиметров. Значения pH варьировали от 6.7 в 2016 г. и до 7.4 в 2021 г. Значения Eh составляли в керне St5GC3\_21, на глубине 15 см –96,2 mV, и на глубине керна 88 – 300 см от – 306 mV до – 205 mV соответственно, что свидетельствует о наличии восстановленных условиях в поддонных слоях осадков. Характерной чертой исследованных кернов являлось наличие каналов, отличающихся по цвету от вмещающего их осадка. В керне St7GC1, более светлые по цвету каналы отмечались на глубине керна 50-75 см, выделяясь на фоне черных прослоев гидротроиллита и темно-серой алевритистой глины. На глубине 184 см и ниже присутствовали линзы газовых гидра-

тов. Химический состав поровых вод характеризовался значительным увеличением концентраций гидрокарбонат ионов с глубиной. Концентрации сульфат и нитрат ионов по глубине кернов изменялись не значительно и были ниже отмечаемых в придонной воде, их профили вблизи линз ГТ имели пилообразный характер (Рис. 2). В керне St7GC2 на глубине 30-45 см присутствовал окисленный канал рыжего цвета диаметром 1 см и глубиной 2-3 см. Концентрации гидрокарбонат- и сульфат ионов в окисленном канале соответствовали отмечаемым в придонной области (Рис. 2), в нижерасположенных слоях керна концентрация сульфат иона уменьшалась до 0.3 мг/л, а гидрокарбонат иона несколько увеличивалась.

В кернах St 5, отобранных в 2021 г. также наблюдалось увеличение минерализации поровых вод с глубиной, ниже 150 см концентрационный градиент поровых вод возрастал и по значениям был сопоставим с таковым в керне St7GC1. В керне St5GC2 восстановленные каналы с включением песка отмечались на глубине 56-62 см, и ниже на глубинах от 150 см до 306 см. В керне St5GC2 окисленные каналы имели небольшие размеры и отмечались на глубине 185 см, а в керне St5GC3 на 110 см. В последнем также наблюдалось несколько восстановленных каналов на глубинах 60-130 см, 170-180 см и 186 см. Анализ профилей концентраций сульфат иона свидетельствовал о более высоких значениях этого иона в окисленных каналах по сравнению с восстановленными. Концентрации ионов хлора, превышающие значения в фоновых осадках, скорее всего обусловлены процессом образования/растворения ГТ (Ginzburg and Solov'ev, 1994), а его профили подтверждают протекание этого процесса в осадке до глубины более 3 м. Следует отметить также необычайно высокие значения нитрат иона в кернах 2021 г., с максимальной концентрацией 47,3 мг/л в поверхностном слое St5GC2.

### 3.2. Бета разнообразие микробного сообщества

Идентифицировано 1342087 фрагментов гена 16S рРНК, характеризующих состав микробных сообществ. Бактериальное сообщество исследованных кернов представлено 11 филумами: *Chloroflexota*, *Atribacterota* (ранее *Caldatibacteriota*), *Actinobacteriota*, *Pseudomonadota* (ранее *Proteobacteria*), *Acidobacteriota*, *Nitrospirota*, *Desulfobacterota*, *Sva0485*, *Patescibacteria*, *Caldisericota*, *Elusimicrobiota*. В 2016 г. минорный вклад (не более 3%) в сообществах составляли представители *Spirochaetota*, MBNT15 и *Bacteroidota*, а в 2021 г. *Caldisericota*, *Desulfobacterota* и *Spirochaetota* (не более 6%). Представители таких таксонов как *Alphaproteobacteria*, *Sva0485*, *Patescibacteria*, *Elusimicrobiota* составляли более высокий процент лишь в сообществах некоторых слоев осадка. Во всех сообществах доминировали представители 5 филумов (*Chloroflexota*, *Caldatibacteriota*, *Actinobacteriota*, *Acidobacteriota*, *Nitrospirota*) и класса *Gammaproteobacteria*. Вместе с тем, вклад этих так-

сонов в сообщества разных слоев кернов в исследуемые годы не был одинаковым, наиболее значимые отличия в структуре бактериальных сообществ наблюдались между окисленными поверхностными и нижерасположенными восстановленными осадками (Рис. 3 и Рис. 4), что подтверждалось анализом сообществ на основе Bray–Curtis dissimilarity. Исследованные сообщества разделялись на два кластера (Рис. 4). В первый входили бактериальные популяции из поверхностных осадков St7 (2016 г.), во второй, образцы из аноксигенной зоны, разделяющиеся на многочисленные подкластеры. При этом, в один подкластер входили сообщества из окисленного (St7GC2\_35-38) и восстановленного (St5GC2\_60) каналов, что могло быть следствием выравнивания условий среды после растворения ГТ, обеспечивающей развитие метаболически разнообразных таксонов.

В сообществах всех кернов доминировали *Chloroflexota*, их вклад в кернах St7 варьировал от 17.3 % до 51%, а в кернах St5 от 15.6 до 68.7%. Эти органогетеротрофные бактерии вносили значимый вклад в микробные сообщества донных осадков и в других районах озера Байкал, включая зоны разгрузок газосодержащих минерализованных флюидов (Zemskaya et al., 2021; Lomakina et al., 2023). В исследованных кернах последовательности этого филума принадлежали в основном семействам *Anaerolineaceae* и *Dehalococcoidaceae*, и лишь небольшой их процент некультивируемым *Chloroflexota* из разных кластеров (KD4-96, JG30-KF-CM66 и SHA-26) (Рис. 3). При этом максимальная относительная численность первого семейства наблюдалась в сообществах осадков ниже 200 см, а второго на разных глубинах, включая сообщества восстановленных каналов. Бактерии класса *Anaerolineae* являются облигатными анаэробами и вторичными ферментерами, тогда как представители класса *Dehalococcoidia* органотрофными гомоацетогенами (Fincker et al., 2020; Vuillemin et al., 2020). Часть из них, в процессе дыхания используют кислород в качестве конечного акцептора электронов, участвуя в ферментации сахаров и аминокислот в анаэробных условиях (Hug et al., 2013).

В сообществах поверхностных образцов St7GC1 и до глубины 15 см, а также в окисленном канале (St7GC2\_35-38) наблюдалась также высокая относительная численность представителей *Nitrospirota* (12.7, 18.5 и 12.7% соответственно), вклад которых в нижерасположенных осадках не превышал 5,2%. Сообщества этих слоев осадка различались между собой вкладом *Gammaproteobacteria*, процент которых в окисленном канале был менее 1%, и около 20% в поверхностных осадках, что может определяется наличием в этой зоне источников энергии, в частности кислорода. Последовательности этого класса принадлежали порядкам *Burkholderiales* и *Methylococcales*. Представители последнего порядка, аэробные метанотрофы в основном характерны для поверхностных осадков, где их вклад в кернах St5 достигал 1.5 и 8.3%, а в кернах St7 10.6-16.8%. Сообщества окисленного (St7GC2\_35-38) и восста-

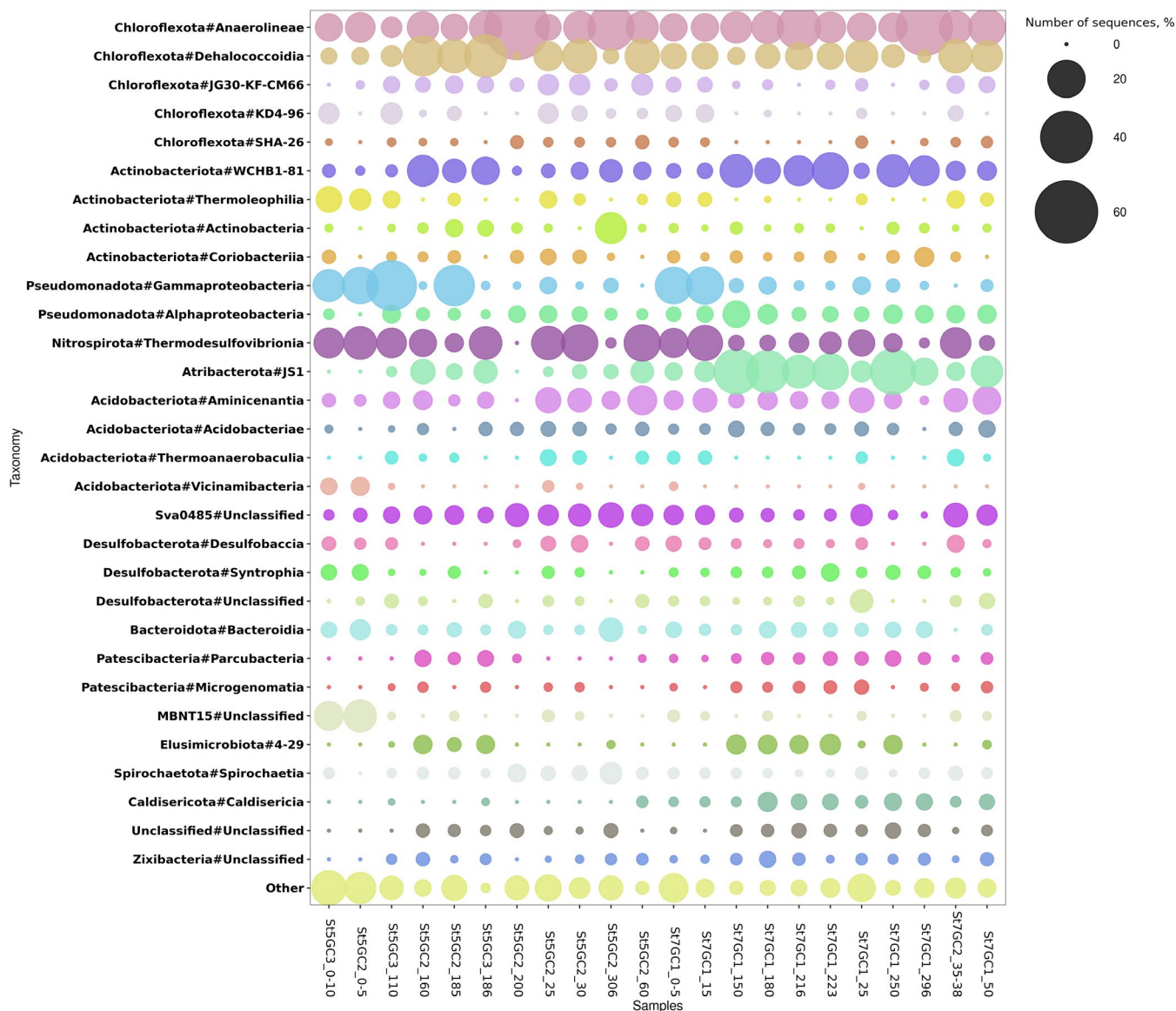


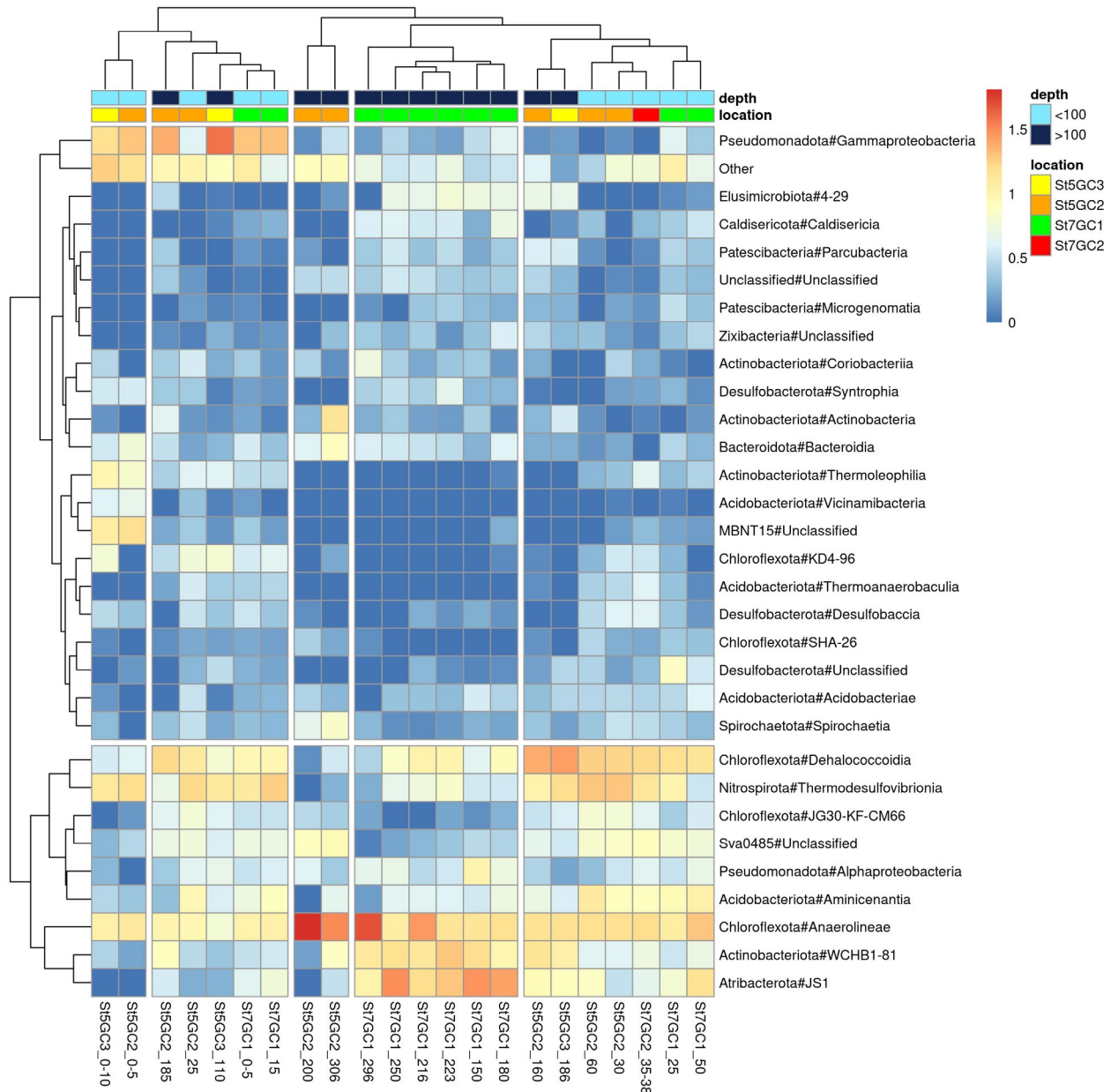
Рис.3. Средняя относительная численность (16S rRNA) ключевых бактериальных таксонов в сообществах из разных слоев донных осадков метанового сипа Красный Яр.

новленного (St7GC1\_50) каналов также характеризовались более высоким вкладом последовательностей *Caldatribacteriota* (13.7 и 3.7%) и *Nitrospirota* (12.7 и 2.7%) (Рис. 4), что согласуется с их метаболическими возможностями. Хемоорганогетротрофные *Caldatribacteriota* участвуют в окислении пептидов, аминокислот, жирных кислот и простых сахаров посредством аэробного и анаэробного дыхания (Mori et al., 2009; Carr et al., 2015; Nobu et al., 2016). Поэтому они преобладали в аноксигенных осадках, где их вклад варьировал от 5.3 до 30% от общего количества последовательностей, при минорном вкладе в поверхностных (до 3.4%). Среди *Nitrospirota* наиболее многочисленны последовательности класса *Thermodesulfovibrionia*, для которых показано участие в процессах окисления водорода, восстановления сульфатов, нитратов и диспропорционирования серы (Umezawa et al., 2022), что позволяет им выживать в широком диапазоне условий среды. Сообщества нижерасположенных слоев осадка имели сходную структуру, лишь в образце St7GC1\_25 регистрировался высокий процент представителей *Patescibacteria* (33.3%), составляющих в

других слоях не более 4.6%.

Структура сообществ в поверхностных слоях кернов St5 отличалась от наблюдаемой в сообществах St7 наличием представителей кандидатного филума MBNT15 (14 и 11.3% соответственно). Кроме того, в сообществах исследованных кернов St5 значительно меньше относительная численность последовательностей *Caldatribacteriota* (0 - 7.8%), и в глубинных слоях *Desulfobacterota* (0–0.7%) при более высоких их значениях в окисленных каналах St5GC2\_185 и St5GC3\_110 (1.6–3.5%). В последних сообществах доминировали *Gammaproteobacteria* (24 и 37%), причем их относительная численность превышала таковую в поверхностных осадках (14–19%). В сообществах окисленных каналов (St5GC3\_110 и St5GC2\_185) преобладали последовательности порядка *Methylococcales* (24.5 и 13.5%, соответственно), процент которых превышал отмечаемые значения в поверхностных и глубинных осадках этого керна, а также и в восстановленных каналах (0.3–1.8%). В глубинном слое St5GC2\_200, где регистрировались повышенные концентрации гидрокарбонат и нитрат ионов, структура бактери-



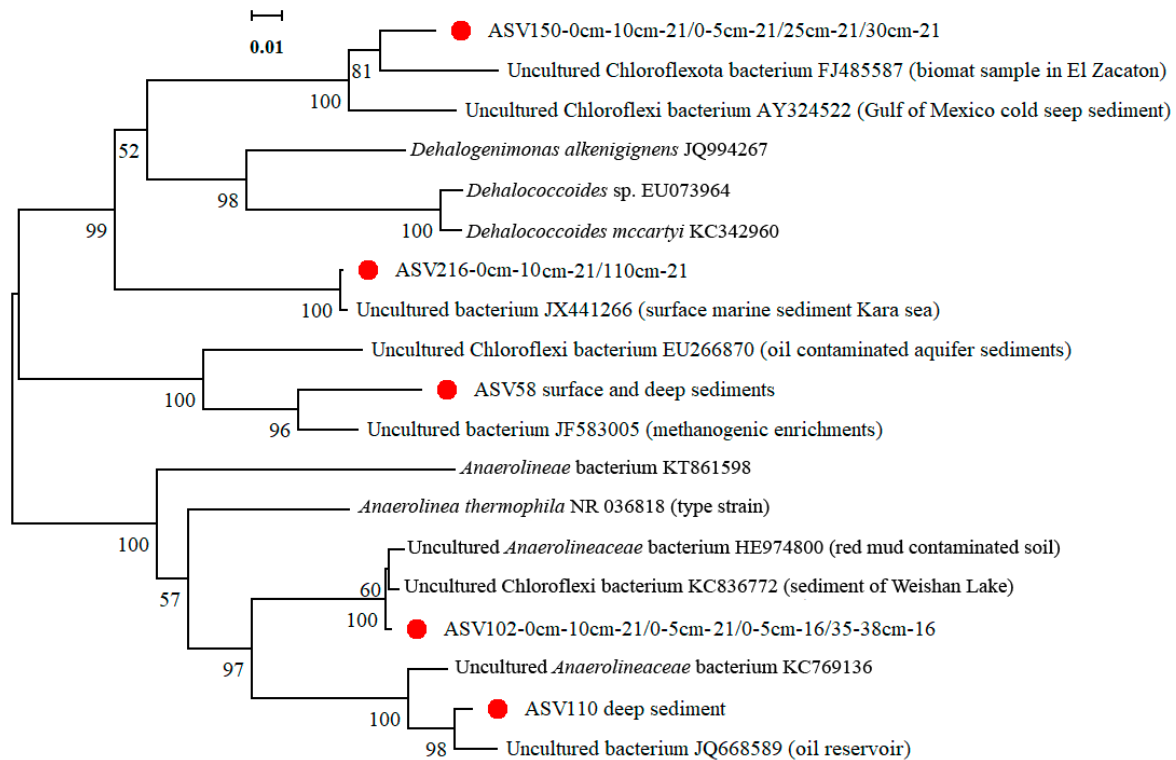


**Рис.4.** Тепловая карта, показывающая различия в относительном обилии бактериальных классов в разных слоях кернов на основе расстояний Брея-Кертиса. Цветами показано нормализованное относительное обилие таксонов в разных слоях кернов.

ального сообщества отличалась от других преобладанием (70%) последовательностей *Anaerolineaceae* (*Chloroflexota*) и минорном вкладе таксонов, доминирующих в вышерасположенных осадках (Рис. 3). Присутствие таксономически разнообразных представителей этого филума в разных экотопах подтверждается филогенетическим анализом. Последовательности *Chloroflexota* в исследованных ядрах формировали на филогенетическом древе 5 кластеров (Рис. 5) с неклассифицируемыми последовательностями. Два из них объединяли последовательности либо из глубинных и ассоциированных с ГГ, либо из поверхностных слоев осадков. Часть последовательностей из поверхностных осадков и окисленных каналов формировали еще два кластера: один представлен последовательностями из поверхностных и окисленного канала St5GC3\_110, второй из поверхностных и окисленного канала

St7GC2\_35-38. Еще один кластер был сформирован последовательностями, встречающимися во всех экотопах.

С помощью диаграмм Венна определены общие бактериальные последовательности ампликонов (ASV) в сообществах из разных экотопов. Количество общих ASV в сообществах кернов St7 составляло 4%, среди них отмечались последовательности GIF9 (сем. *Dehalococcoidia*), MSB-5B2 (*Anaerolineae*), *Cutibacterium* (*Actinobacteriota*), *Thermodesulfovibrionia* (*Nitrospirota*), JS1 (*Caldatribacteriota*), *Spirochaetota*, Sva0485, *Zixibacteria*. Общие ASV в сообществах кернов St5 было менее значительным (<1%), они принадлежали также GIF9 (*Dehalococcoidia*), Sva0485, *Thermodesulfovibrionia* (*Nitrospirota*). Разнообразие общих ASV в сообществах окисленных и восстановленных каналов в оба года исследований составляло 4%, среди них идентифицированы последователь-



**Рис.5.** Филогенетическое дерево представителей филума *Chloroflexota* на основе анализа последовательностей генов 16S рРНК, указывающее на положение бактерий из разных слоев донных отложений. Масштабная линейка показывает эволюционное расстояние, соответствующее одной нуклеотидной последовательности на 100 нуклеотидов.

ности GIF9 и *Thermodesulfovibrionia*, а также встречающиеся в определенных экотопах *Cutibacterium*, WCHB1-8 (*Actinobacteriota*), MSB-5B2 (*Anaerolineae*) и *Spirochaetota*.

В библиотеках генов 16S рРНК архей в исследованных кернах выявлены последовательности 9 филумов, среди которых наиболее представлены последовательности *Thermoproteota* (42%) (ранее *Crenarchaeota*), *Thermoplasmata* (31%), *Halobacteriota* (18%). Представители *Nanoarchaeota* (4%), *Nadarchaeota* (3%), *Iainarchaeota* (0.5%), *Euryarchaeota* (0.8%), *Aenigmarchaeota* (0.3%), *Asgardarchaeota* (0.6%) составляли минорную часть сообществ (Рис. 6). Среди *Thermoproteota* во всех исследуемых сообществах доминировали *Bathyarchaeia* (от 5.5 до 70.5% от всех последовательностей), в основном относящиеся к неклассифицированным. *Bathyarchaeia* играют значительную роль в глобальном цикле углерода и являются наиболее распространенной группой микроорганизмов в анаэробных экосистемах (Feng et al., 2019). Обычно в байкальских осадках эти археи выявлялись в глубинных слоях осадка, тогда как в кернах исследованного района их вклад был значительным и в поверхностных (до 37%). Доминирующие в поверхностных осадках других районов аэробные археи *Nitrososphaeria* (*Thermoproteota*) представлены в большей степени аммоний-окисляющими представителями сем. *Nitrosopumiliaceae*, и менее, последовательностями сем. *Nitrososphaeraceae* (Lomakina et al., 2018; Zemskaya et al., 2018). Последовательности первого семейства составляли около 13% в поверхностных слоях кернов St7 и в глубинном слое St5GC2\_306. В других образцах исследованного района они отно-

сились к минорной компоненте сообществ архей (0.4–3.5%). Археи, участвующие в продуцировании метана характерны для осадков озера Байкал. Среди метаногенных архей наибольший вклад составляли последовательности порядка *Methanomassiliicoccales* (*Thermoplasmata*), потребляющие неконкурентные C1-метилированные соединения. Относительная численность этого порядка варьировала в сообществах кернов St7 от 12 до 38%, и в кернах St5 от 5 до 41%. Кроме того, в сообществах исследованных кернов на разных глубинах отмечены ацетокластические и гидрогенотрофные археи порядков *Methanomicrobiales* (в основном рода *Methanoregula*, 1.2–12.4%) и *Methanosarcinales* (в основном рода *Methanosaeta*, 0.3–4.5%). Относительная численность участвующих в анаэробном окислении метана *Methanoperedens* (порядок *Methanosarcinales*) была высокой на глубинах от поверхности и до 25 см (до 12.8%), а также в окисленном и восстановленном каналах St5GC3\_110 и 186 см (9.7–20.7% соответственно). Как мы отмечали выше, в этих же образцах наблюдался высокий процент аэробных метанотрофов, что подтверждает наличие разнообразных экологических условий в каналах, позволяющих развиваться как аэробным, так и анаэробным микроорганизмам.

В осадочных отложениях этого района среди других таксонов, широко распространенных в глубинных осадках, обнаружены археи Marine Benthic Group D (сейчас *Thermoprofundales*) - миксотрофные продуцирующие  $H_2$  (Zhou et al., 2019; Zhang et al., 2022). Представители этого таксона и DHVEG-1 вносили небольшой вклад (не более 2%) в сообщества архей. Процент общих архейных ASV в сообществах

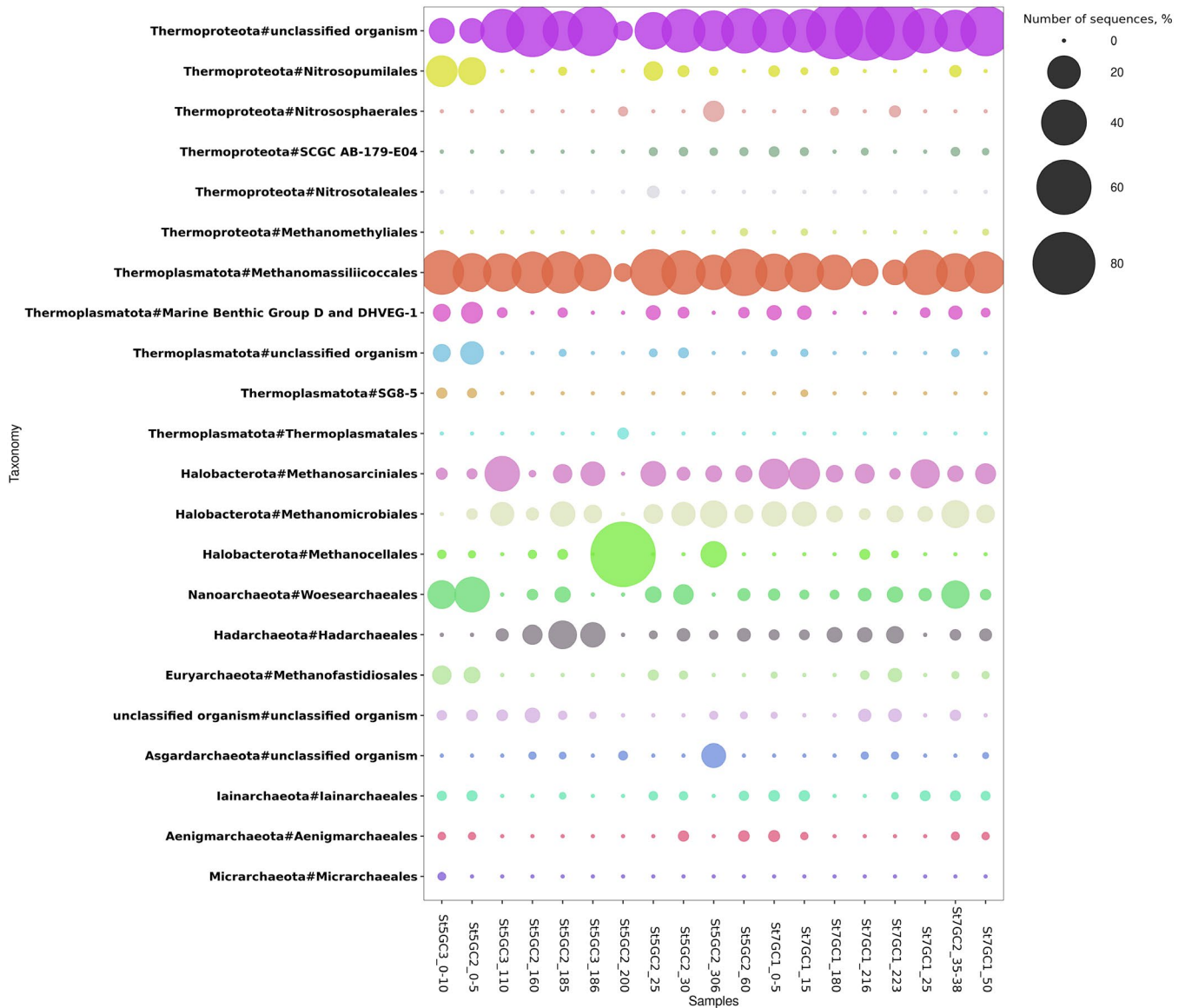


Рис.6. Таксономический состав архейных сообществ из донных отложений метанового сипа Красный Яр. На основе анализа гена 16S рPHK и классификации из базы данных SILVA с порогом достоверности 80 %.

St7 составил 7%, среди которых идентифицированы последовательности *Bathyarchaeia* (*Thermoproteota*) и *Methanomassiliicoccales* (*Thermoplasmatota*), тогда как для сообществ St5, общими были ASV последнего филума (3%). Сообщества из окисленных и восстановленных каналов характеризовались присутствием ASV двух вышеуказанных филумов и представителей *Methanoregula* (*Halobacteriota*).

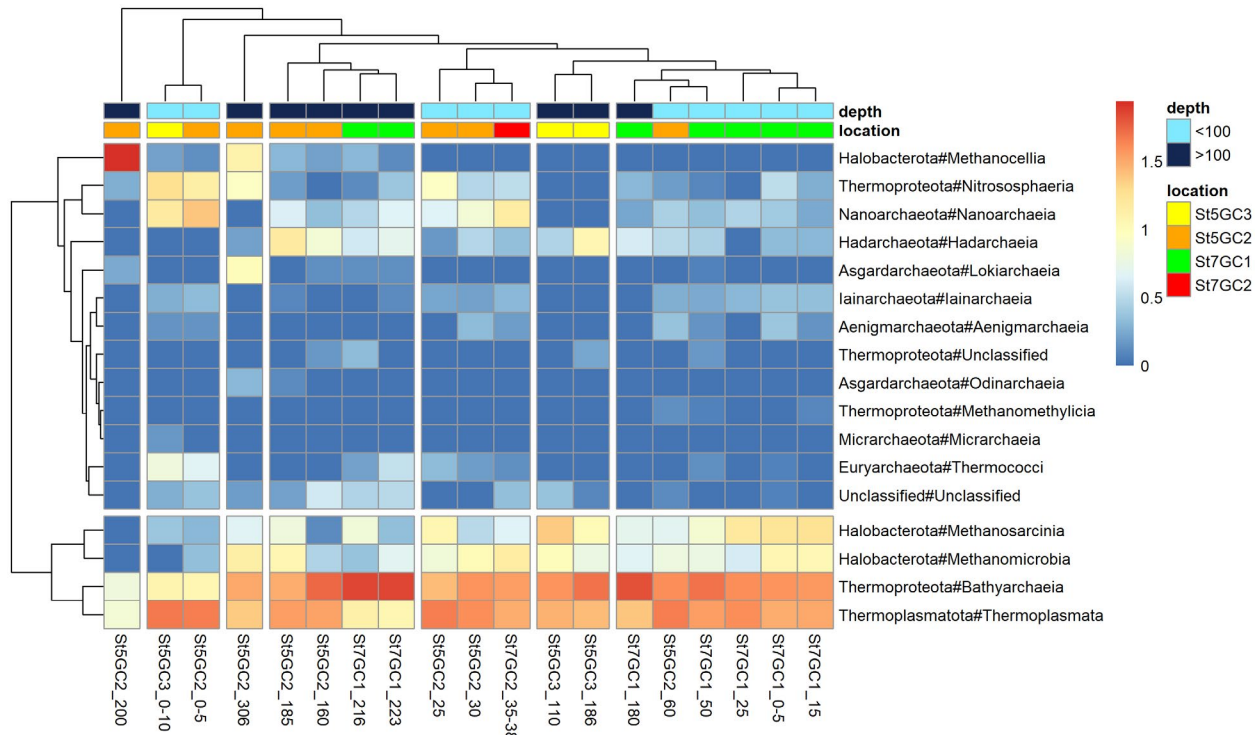
Тепловая карта, демонстрирующая кластеризацию (сходство Брея – Кертиса) изученных образцов на основе относительной численности ключевых семейств архей (Рис. 7) свидетельствует о различии структуры сообществ в разных слоях осадочной толщи в оба года исследований. Присутствие в поверхностных осадках строгих анаэробных метаногенов и анаэробных метанотрофных архей *Methanoperedens*, а в глубинных восстановленных осадках аэробных аммоний-окисляющих Nitrosopumilaceae может быть следствием миграции разнонаправленных флюидопотоков, поддерживающих развитие широкого спектра таксонов. Кроме того, на развитие архей может вли-

ять и различие физико-химических условий. Археи, принадлежащие одному филуму, по-разному коррелировали (положительно или отрицательно) с химическими параметрами среды обитания (корреляция Спирмена) (Рис. 8). Они формировали два кластера с небольшим числом значимых корреляций между отдельными таксонами архей и концентрацией ионов в поровой воде и глубиной осадочной толщи. Положительная корреляция отмечалась между глубиной, концентрацией  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и археями *Methanocella* (*Halobacteriota*), *Hadarchaeia* (*Hadarchaeota*) и *Asgardarchaeota*. Более широкий спектр таксонов был отрицательно взаимосвязан с этими параметрами, поскольку в глубоких восстановленных отложениях осадочные субстраты обеднены и это могло ограничить развитие многих видов (Fincker et al., 2020; Vuillemin et al., 2020).

#### 4. Обсуждение

Донные отложения в районе метанового сипа визуально сходны с ранее приведенным описанием,



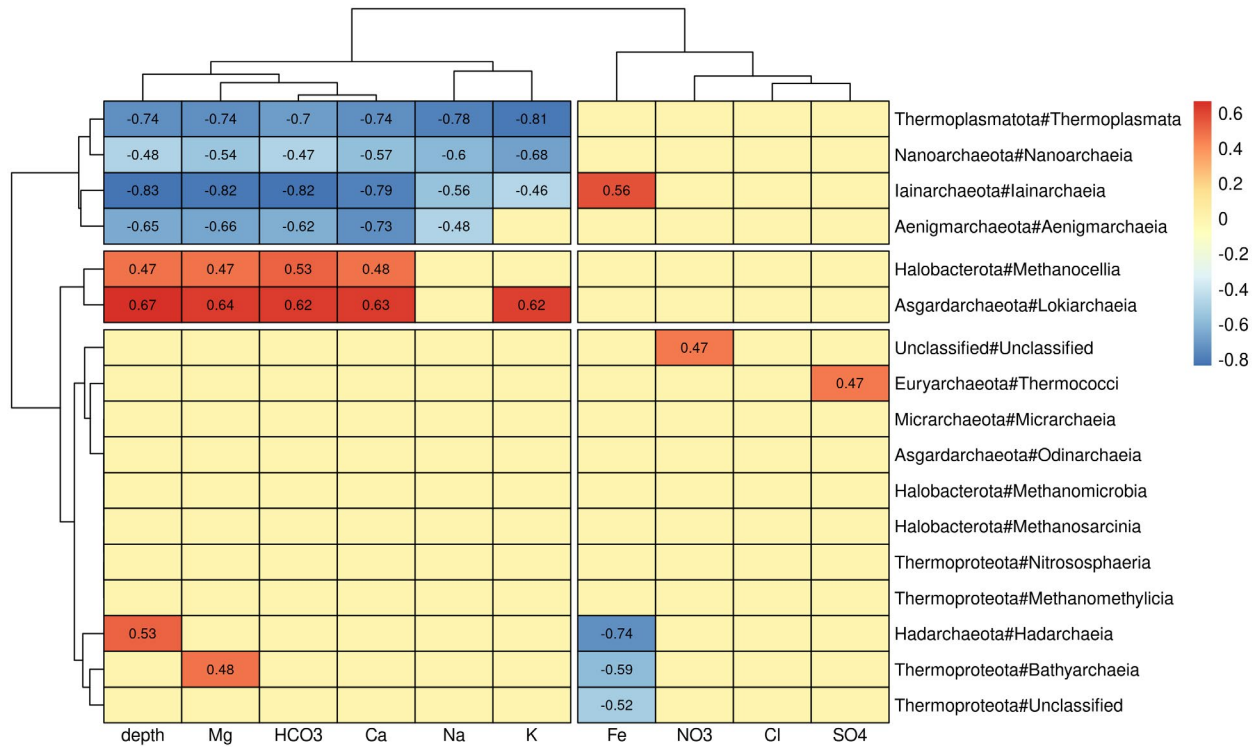


**Рис.7.** Тепловая карта, показывающая различие относительного обилия архей (на уровне порядков) в разных слоях кернов на основе расстояний Брея-Кертиса. Цветами показано нормализованное относительное обилие таксонов в разных слоях кернов.

они газонасыщены, характеризуются (Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020) трещинноватостью, присутствием окисленных и восстановленных каналов, а также линзовидными скоплениями газогидратов. Профили концентраций основных ионов также согласуются с ранее полученными данными (Aloisi et al., 2019; Pogodaeva et al., 2020), которые свидетельствуют как о наличии адвекции флюидов снизу (St7 GC1), так и о поступлении придонных озерных вод в осадочные породы исследованных кернов (St7 GC1 и St5 GC2). Также сохраняются тренды  $\text{HCO}_3^-$  в верхних нескольких метрах анаэробной зоны байкальских отложений, которые обусловлены процессами подводного выветривания, происходящими в более глубоких отложениях (Lomonosov, 1974). Поровые воды 2021 г. отличались высокими концентрациями  $\text{NO}_3^-$ , который является энергетически выгодным окислителем и используется микроорганизмами в диагенезе органического вещества. Его значительные концентрации регистрировались в отдельные годы лишь в некоторых районах разгрузок, что связывалось с поступлением более минерализованных гидротермальных, а также глубинных поровых вод (Granina, 2008). Наблюдаемые нами высокие концентрации этого иона в поверхностных осадках St5 и уменьшение с глубиной осадка могут быть обусловлены более активным потреблением этого иона в аноксигенной зоне по сравнению с насыщенными кислородом поверхностными осадками, что согласуется с таксономическим составом микробных сообществ. Использующие нитрат в качестве акцепторов электронов в процессе анаэробного окисления метана, археи *Methanoperedens* составляли достаточно высокий вклад в подповерх-

ностных слоях осадка, где наблюдалось уменьшение концентраций этого иона.

В донных отложениях метанового сипа Красный Яр обитают сложные микробные сообщества, участвующие в трансформации различных соединений и характерные для пресноводных озер (Newton et al., 2011; Winters et al., 2014; Zhang et al., 2015; Vuillemin et al., 2016; Vuillemin et al., 2018; Han et al., 2020). Доминирование в сообществах представителей *Chloroflexota* вполне объяснимо, поскольку они участвуют в разложении растительных соединений, что подтверждено наличием в их геномах путей разложения целлюлозы, крахмала, длинноцепочечных сахаров и пирогаллола (Hug et al., 2013). Развитию органогетеротрофных бактерий в осадках озера Байкал способствует наличие лабильных источников ОВ – отцветавших диатомовых водорослей, в массе развивающихся в озере Байкал в весенний и осенний периоды (Votintsev et al., 1975). Вместе с тем, различие относительной численности и таксономической принадлежности этих бактерий не указывает на возрастающее значение анаэробного метаболизма с увеличением глубины. Как и в других озерах, это может быть следствием гетерогенности содержания органического углерода или разной интенсивности миграционных потоков и их компонентного состава (Hug et al., 2013). Широкий спектр филогенетических разнообразных ASV позволяют предполагать, что *Chloroflexota* адаптированы к изменяющимся окислительно-восстановительным условиям среды обитания, а широкая пластичность видов этого филума позволяет им занимать доминирующее положение на всех исследованных нами глубинах осадочной толщи при лимите энергетиче-



**Рис.8.** Тепловая карта корреляционных связей (корреляция Спирмена) между таксонами архей и концентрацией отдельных ионов в поровой воде исследованных отложений. Справа от тепловой карты разными цветами обозначены значения коэффициентов корреляции. Показаны коэффициенты  $p_v < 0.05$ .

ских ресурсов. Присутствие других таксонов, хотя и менее представленных в исследованных кернах, обеспечивает дальнейшую деструкцию, в результате которой образуются субстраты, используемые другими микроорганизмами. Так, присутствующие в сообществах анаэробные бактерии *Desulfobacterota*, способны обеспечивать окисление короткоцепочечных жирных кислот (*Syntrophaceae*, *Smithellaceae*), либо ацетата (*Desulfobaccaceae*) в синтрофном взаимодействии с метаногенными археями (Galushko and Kuever, 2019). А представители хемоорганотрофных *Atribacterota* и *Caldisericota*, участвуют в окислении пептидов, аминокислот, жирных кислот и простых сахаров в процессах аэробного и анаэробного дыхания (Mori et al., 2009; Carr et al., 2015; Nobu et al., 2016).

Мы не наблюдали особых изменений в структуре сообществ метаногенных архей, их таксономический состав и разнообразие соответствовали отмечаемым в осадках других районов озера. Среди участников анаэробного окисления метана в основном детектировались археи сем. *Methanoperedenaceae*, использующие нитраты в качестве акцептора электронов (Raghoebarsing et al., 2006), тогда как бактерии порядка *Methylomirabiliales* (*Methylomirabiota*), использующие в качестве акцептора электронов нитрит, относились к минорной компоненте сообществ. Явные различия наблюдались между сообществами окисленных и восстановленных каналов, а также при сравнении с сообществами из других слоев кернов. Сообщества окисленных каналов (St5GC2\_110 и 185 см) характеризовались присутствием значительного количества последовательностей аэробных метанотрофных бактерий сем.

*Methylophilaceae* и *Methylomonadaceae*. Их высокая относительная численность на глубине ниже 1 м может быть обусловлена поступлением в аноксигенную зону придонных вод, насыщенных кислородом и содержащих клетки метанотрофов. Постепенное истощение кислорода при наличии ионов нитрата могли также способствовать в поддонных осадках развитию анаэробных, окисляющих метан по нитразависимому пути *Methanoperedenaceae* (Lomakina et al., 2020). Кроме того, на структуру сообществ в осадках исследованного сипа может влиять растворение ГГ при миграции флюидов, которое приводит к распреснению поровых вод. Этим можно объяснить уменьшение вклада аэробных аммоний окисляющих архей семейства *Nitrosopumiliaceae* (*Thermoproteota*) в поверхностных осадках, а в глубинных – бактерий филума *Caldatribacteriota*.

## 5. Выводы

Известно, что микробные сообщества в глубоких озерных отложениях структурируются по принципу энергосберегающего ферментативного метаболизма с постепенным истощением акцепторов электронов в поровой воде (Berg et al., 2022) и лабильного ОВ (Glombitza et al., 2013). В осадках метанового сипа Красный Яр, в зоне миграции флюидопотоков зафиксированы изменения в структуре микробных сообществ, в основном в окисленных каналах, тогда как вне их, разнообразие как бактерий, так и архей было сходно с отмечаемым в осадках других районов: на всех исследованных глубинах осадочной толщи выявлялись метилотрофные метаногены и микроорганизмы, участвующие

в разных этапах ферментации ОВ. Сходство структуры сообществ в аноксигенных осадках и восстановленных каналах мало различалось что, скорее всего, определялось наличием акцепторов электронов на момент исследования в этих экотопах. Также очевидно, что постепенное истощение источников энергии и выравнивание химических условий, будет приводить с течением времени к исчезновению аэробных микроорганизмов в каналах и доминированию таксонов, характерных для аноксигенной зоны. Как показали наши исследования, наличие аэробных бактерий в осадках отмечалось до глубины 2 м, что совпадает с геохимическими и геотермическими показателями, определяющими зону активной миграции придонных вод (Pogodaeva et al., 2020). Структура микробных сообществ и химических параметров в осадках метанового сипа Красный Яр отличается также от наблюдаемой в районе поднятия Посольская Банка более активным влиянием придонных вод на структуру в аноксигенной зоне, тогда как в зоне флюидной петли отмечалось большее влияние глубинных миграционных потоков, перемещающих на поверхность дна озера анаэробных бактерий. Также очевидно, что миграционные потоки способствуют деструкции захороненного органического вещества, поставляя субстраты, способствующие развитию аэробных и анаэробных микроорганизмов в подповерхностных осадках.

## Благодарности

Исследования выполнены в рамках государственного задания ЛИН СО РАН 0279-2021-0006, а также с использованием оборудования Core Centrum «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» в ARRIAM. Авторы выражают благодарность Иркутскому суперкомпьютерному центру СО РАН за предоставление доступа к НРС-кластеру «Академик В.М. Матросов».

## Соблюдение этических стандартов

Настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались люди или животные.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют отсутствие конфликта интересов.

## Список литературы

Aloisi G., Pogodaeva T.V., Poort J. et al. 2019. Biogeochemical processes at the Krasny Yar seepage area (Lake Baikal) and a comparison with oceanic seeps. *Geo-Marine Letters* 39(1): 59–75. DOI: [10.1007/s00367-019-00560-8](https://doi.org/10.1007/s00367-019-00560-8)

Andrews S. 2020. FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data. available online: URL: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc> (accessed on 1 February 2022)

Baram G.I., Vereshchagin A.L., Golobokova L.P. 1999. Microcolumn high performance liquid chromatography with UV detect in for the determination of anion in environmental materials. *Journal of Analytical Chemistry* 54: 854–857.

Berg J.S., Lepine M., Laymand E. et al. 2022. Ancient and modern geochemical signatures in the 13,500-year sedimentary record of Lake Cadagno. *Frontiers in Earth Science* 9. DOI: [10.3389/feart.2021.754888](https://doi.org/10.3389/feart.2021.754888)

Brown K., Westbrook G.K. 1988. Mud diapirism and subcretion in the Barbados Ridge accretionary complex – the role of fluids in accretionary processes. *Tectonics* 7: 613–640.

Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. et al. 2014. Flexible trimmer for Illumina sequence data *Bioinformatics* 30: 2114–2120.

Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J. et al. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13: 581–583.

Callahan B.J., Sankaran K., Fukuyama J.A. et al. 2016. Bioconductor workflow for microbiome data analysis: From raw reads to community analyses. *F1000 Research* 5: 1492.

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

Chernitsyna S.M., Mamaeva E.V., Lomakina A.V. et al. 2016. Phylogenetic diversity of microbial communities of the Posolsk Bank bottom sediments, Lake Baikal. *Microbiology* 85(6): 672–680 (in Russian) DOI: [10.1134/s0026261716060060](https://doi.org/10.1134/s0026261716060060)

Feng X., Wang Y., Zubin R. et al. 2019. Core metabolic features and hot origin of *Bathyarchaeota*. *Engineering* 5(3): 498–504. DOI: [10.1016/j.eng.2019.01.011](https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.01.011)

Fincker M., Huber J.A., Orphan V.J. et al. 2020. Metabolic strategies of marine subsea floor Chloroflexi inferred from genome reconstructions. *Environmental Microbiology* 22(8): 3188–3204. DOI: [10.1111/1462-2920.15061](https://doi.org/10.1111/1462-2920.15061)

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

Ginzburg G.D., Solov'ev V.A. 1994. Submarine gas hydrates. St-Petersburg: VNII Okeanologiya Press. (in Russian)

Glombitza C., Stockhecke M., Schubert C. et al. 2013. Sulfate reduction controlled by organic matter availability in deep sediment cores from the saline, alkaline Lake Van (Eastern Anatolia, Turkey). *Frontiers in Microbiology* 4. DOI: [10.3389/fmicb.2013.00209](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00209)

Granina L.Z. 2008. Early diagenesis of bottom sediments in Lake Baikal. Academic Publish House “Geo”. (in Russian)

Han X., Schubert C.J., Fiskal A. et al. 2020. Eutrophication as a driver of microbial community structure in lake sediments. *Environmental Microbiology* 22(8): 3446–3462. DOI: [10.1111/1462-2920.15115](https://doi.org/10.1111/1462-2920.15115)

Hedberg H.D. 1974. Relation of methane generation to under compacted shales, shale diapirs, and mud volcanoes. *AAPG Bulletin* 58: 661–673.

Hug L.A., Castelle C.J., Wrighton K.C. et al. 2013. Community genomic analyses constrain the distribution of metabolic traits across the Chloroflexi phylum and indicate roles in sediment carbon cycling. *Microbiome* 1(1): 22. DOI: [10.1186/2049-2618-1-22](https://doi.org/10.1186/2049-2618-1-22)

Khabuev A.V., Chensky D.A., Solovieva M.A. et al. 2016. Gas hydrate resources estimation by geophysical methods in the zone of underwater gas discharge at the seep “Krasny Yar” of Lake Baikal. *Proceedings of the Siberian Branch of the Earth Sciences Section of the Russian Academy of Natural Sciences*. 1: 67–74. (in Russian)



- Khlystov O., De Batist M., Shoji H. et al. 2013. Gas hydrate of Lake Baikal: Discovery and varieties. *Journal of Asian Earth Sciences* 62(1): 162-166 DOI: [10.1016/j.jseaes.2012.03.009](https://doi.org/10.1016/j.jseaes.2012.03.009)
- Klerkx J., De Batist M., Poort J. et al. 2006. Tectonically controlled methane escape in Lake Baikal. *Advances in the geological storage of carbon dioxide*. NATO Science Series, IV. Earth and Environmental Sciences. Netherlands: IOS PRESS Springer. 65: 203-219. DOI: [10.1007/1-4020-4471-2\\_17](https://doi.org/10.1007/1-4020-4471-2_17)
- Kopf A. 2002. Significance of mud volcanism. *Reviews of Geophysics* 40(2): 2-52 DOI: [10.1029/2000RG000093](https://doi.org/10.1029/2000RG000093)
- Kuzmin M.I., Karabanov E.B., Kawai T. et al. 2001. Deep drilling on Lake Baikal: main results. *Russian Geology and Geophysics* 42: 8–34.
- Logatchev N.A. 1993. History and geodynamics of the Lake Baikal rift in the context of the Eastern Siberia rift system: a review. *Bulletin des centres de recherches exploration-production Elf-Aquitaine* 17(2): 353-370.
- Lomakina A.V., Mamaeva E.V., Pogodaeva T.V. et al. 2018. Anaerobic methane oxidation in enrichment cultures from deep sediments of a mud volcano Peschanka (South Baikal). *Microbiology* 87(3): 317–325. (In Russian). DOI: [10.1134/s0026261718030049](https://doi.org/10.1134/s0026261718030049)
- Lomakina A., Pogodaeva T., Kalmychkov G. et al. 2020. Diversity of NC10 Bacteria and ANME-2d Archaea in sediments of fault zones at Lake Baikal. *Diversity* 12(1): 1-19. DOI: [10.3390/d12010010](https://doi.org/10.3390/d12010010)
- Lomakina A., Bukin S., Shubenkova O. et al. 2023. Microbial communities in ferromanganese sediments from the northern basin of Lake Baikal (Russia). *Microorganisms* 11(7): 1865. DOI: [10.3390/microorganisms11071865](https://doi.org/10.3390/microorganisms11071865)
- Lomonosov I.S. 1974. *Geochemistry and formation of modern hydrotherms in the Baikal rift*. Novosibirsk: Nauka (in Russian).
- Milkov A.V. 2005. Molecular and stable isotope compositions of natural gas hydrates: A revised global dataset and basic interpretations in the context of geological settings. *Organic Geochemistry* 36 (5): 681–702. DOI: [10.1016/j.orggeochem.2005.01.010](https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.01.010)
- Mori K., Yamaguchi K., Sakiyama Y. et al. 2009. *Caldisericum* exile gen. nov., sp. nov., an anaerobic, thermophilic, filamentous bacterium of a novel bacterial phylum, *Caldiserica* phyl. nov., originally called the candidate phylum OP5, and description of *Caldiseriaceae* fam. nov., *Caldisericales* ord. nov. and *Caldisericia* classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59(11): 2894–2898 DOI: [10.1099/ijs.0.010033-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.010033-0)
- Naudts L., Khlystov O., Granin N. et al. 2012. Stratigraphic and structural control on the distribution of gas hydrates and active gas seeps on the Posolsky Bank, Lake Baikal. *Geo-Marine Letters* 32(5): 395-406. DOI: [10.1007/s00367-012-0286-y](https://doi.org/10.1007/s00367-012-0286-y)
- Newton R.J., Jones S.E., Eiler A. et al. 2011. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 75(1): 14–49. DOI: [10.1128/mmr.00028-10](https://doi.org/10.1128/mmr.00028-10)
- Nobu M.K., Dodsworth J.A., Murugapiran S.K. et al. 2016. Phylogeny and physiology of candidate phylum ‘Atribacteria’ (OP9/JS1) inferred from cultivation-independent genomics. *International Society for Microbial Ecology* 10(2): 273–286. DOI: [10.1038/ismej.2015.97](https://doi.org/10.1038/ismej.2015.97)
- Pogodaeva T.V., Poort J., Aloisi G. et al. 2020. Fluid migrations at the Krasny Yar methane seep of Lake Baikal according to geochemical data. *Journal of Great Lakes Research* 46(1): 123–131. DOI: [10.1016/j.jglr.2019.08.003](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.08.003)
- Raghoebarsing A.A., Arjan P.K., van de Pas-Schoonen T. et al. 2006. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature* 13, 440(7086): 918-921. DOI: [10.1038/nature0461](https://doi.org/10.1038/nature0461)
- Sahm K., John P., Nacke H. et al. 2013. High abundance of heterotrophic prokaryote in hydrothermal springs of the Azores as revealed by a network of 16S rRNA gene-based methods. *Extremophiles* 7: 649–662. DOI: [10.1007/s00792-013-0548-2](https://doi.org/10.1007/s00792-013-0548-2)
- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. 1987. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Scholz C.A., Hutchinson D.R. 2000. Stratigraphic and structural evolution of the Selenga delta accommodation zone, Lake Baikal rift, Siberia. *International Journal of Earth Sciences* 89(2): 212-228. DOI: [10.1007/s005310000095](https://doi.org/10.1007/s005310000095)
- Umezawa K., Kojima H., Kato Y. et al. 2022. Corrigendum to “*Dissulfurispira thermophila* gen. nov., sp. nov., a thermophilic chemolithoautotroph growing by sulfur disproportionation, and proposal of novel taxa in the phylum *Nitrospirota* to reclassify the genus *Thermodesulfovibrio*”. *Systematic and Applied Microbiology* 45(6): 126323. Advance online publication. DOI: [10.1016/j.syapm.2022.126323](https://doi.org/10.1016/j.syapm.2022.126323)
- Vanneste H., Kelly-Gerreyn B.A., Connelly D.P. et al. 2011. Spatial variation in fluid flow and geochemical fluxes across the sediment–seawater interface at the Carlos Ribeiro mud volcano (Gulf of Cadiz). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 75: 1124–1144. DOI: [10.1016/j.gca.2010.11.017](https://doi.org/10.1016/j.gca.2010.11.017)
- Votintsev K.K., Meshcheryakova A.I., Popovskaya G.I. 1975. *Cycle of organic matter in Lake Baikal*. Novosibirsk: Nauka.
- Vuillemin A., Friese A., Alawi M. et al. 2016. Geomicrobiological features of ferruginous sediments from Lake Towuti, Indonesia. *Frontiers in Microbiology* 7. Advance online publication. DOI: [10.3389/fmicb.2016.01007](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01007)
- Vuillemin A., Ariztegui D., Horn F. et al. 2018. Microbial community composition along a 50 000-year lacustrine sediment sequence. *FEMS Microbiology Ecology* 94(4): Advance online publication. DOI: [10.1093/femsec/fiy029](https://doi.org/10.1093/femsec/fiy029)
- Vuillemin A., Kerrigan Z., D’Hondt S. et al. 2020. Exploring the abundance, metabolic potential and gene expression of subsurface Chloroflexi in million-year-old oxic and anoxic abyssal clay. *FEMS Microbiology Ecology* 96(12). DOI: [10.1093/femsec/fiaa223](https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa223)
- Von Huene R., Lee H.J. 1983. The possible significance of pore fluid pressures in subduction zones. *The American Association of Petroleum Geologists Members* 34: 781–791.
- Wetzel R.G., Likens G.E. 1991. *Limnological Analyses*. New York: Springer.
- Winters A.D., Marsh T.L., Brenden T. et al. 2014. Molecular characterization of bacterial communities associated with sediments in the Laurentian Great Lakes. *Journal of Great Lakes Research* 40(3): 640–645. DOI: [10.1016/j.jglr.2014.04.008](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2014.04.008)
- Yu Y., Lee C., Kim J. et al. 2005. Group-specific primer and probe sets to detect methanogenic communities using quantitative real-time polymerase chain reaction. *Biotechnology and Bioengineering* 89: 670–679. DOI: [10.1002/bit.20347](https://doi.org/10.1002/bit.20347)
- Zemskaya T.I., Pogodaeva T.V., Shubenkova O.V. et al. 2010. Geochemical and microbiological characteristics of sediments near the Malenky mud volcano (Lake Baikal, Russia), with evidence of Archaea intermediate between the marine anaerobic methanotrophs ANME-2 and ANME-3. *Geo-Marine Letters* 30(3–4): 411–425. DOI: [10.1007/s00367-010-0199-6](https://doi.org/10.1007/s00367-010-0199-6)
- Zemskaya T.I., Lomakina A.V., Mamaeva E.V. et al. 2018. Composition of microbial communities in sediments from Southern Baikal containing Fe/Mn concretions. *Microbiology* 87(3): 291-302. DOI: [10.7868/S0026365618030072](https://doi.org/10.7868/S0026365618030072)
- Zemskaya T.I., Bukin S.V., Lomakina A.V. et al. 2021. Microorganisms in the sediments of Lake Baikal, the deepest and oldest lake in the world. *Microbiology* 90(3): 298–313. DOI: [10.1134/S0026261721030140](https://doi.org/10.1134/S0026261721030140)
- Zhang J., Yang Y., Zhao L. et al. 2015. Distribution of sediment bacterial and archaeal communities in plateau

freshwater lakes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99(7): 3291–3302. DOI: [10.1007/s00253-014-6262-x](https://doi.org/10.1007/s00253-014-6262-x)

Zhang X., Huang Y., Liu Y. et al. 2022. An ancient respiratory system in the widespread sedimentary archaea *Thermopfundales*. *Molecular Biology and Evolution* 39(10): msac213. DOI: [10.1093/molbev/msac213](https://doi.org/10.1093/molbev/msac213)

Zhou Z., Liu Y., Lloyd K.G. et al. 2019. Genomic and transcriptomic insights into the ecology and metabolism of benthic archaeal cosmopolitan, *Thermopfundales* (MBG-D archaea) *The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 13(4): 885–901. DOI: [10.1038/s41396-018-0321-8](https://doi.org/10.1038/s41396-018-0321-8)