Фотофизические свойства бактериохлорофилла *d* зеленых серобактерий и распределение его содержания по глубине в озере Трехцветное (Кандалакшский залив Белого моря)

© Ю.Г. Соколовская [1], Е.Д. Краснова [2], Д.А. Воронов [3], С.А. Буриков [1], Т.А. Доленко [1], С.В. Пацаева [1¶]

[1] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия
[2] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия
[3] Институт проблем передачи информации имени А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия
¶ e-mail: spatsaeva@mail.ru

Поступила в редакцию 02.12.2025 г.
В окончательной редакции 26.02.2026 г.
Принята к публикации 27.03.2026 г.

Оптические методы широко используются для мониторинга концентрации хлорофилла фитопланктона в водных экосистемах, однако для детектирования бактериохлорофилла аноксигенных фототрофов применяются очень ограниченно. В работе применены два метода количественного анализа бактериохлорофилла *d* (основного фотосинтетического пигмента зеленоокрашенной формы зеленых серных бактерий (Chlorobiaceae)) из разных горизонтов оз. Трехцветное — прибрежного меромиктического водоема в Кандалакшском заливе Белого моря. Для оценки содержания бактериохлорофилла в разных слоях водоема зарегистрированы спектры поглощения света пробами природной воды с фототрофными бактериями. Также измерены спектры поглощения ацетон-этаноловых экстрактов, приготовленных из образцов природной воды. Двумя способами (по спектрам поглощения природной воды и экстрактов пигментов) оценена концентрация бактериохлорофилла *d* в разных слоях воды и рассчитана его суммарная концентрация в хемоклине и количество пигмента, приходящееся на $1\,m^2$ площади озера в разные сезоны. Количественные показатели возрастали от конца зимнего сезона, когда озеро покрыто льдом и снегом ($5700\,mg/m^3$ и $29\,g/m^2$), к концу летнего сезона ($13700\,mg/m^3$ и $67\,g/m^2$). Впервые измерены кинетика флуоресценции и определены времена жизни флуоресценции бактериохлорофилла *d* при лазерном возбуждении в экстрактах из клеток зеленых серобактерий из различных слоев оз. Трехцветное. Времена жизни флуоресценции данного фотосинтетического пигмента (6.65 ns) в ацетон-этаноловых экстрактах схожи на разных горизонтах, что говорит о сходстве пигментного состава фотосинтетической антенны зеленых серных бактерий в хемоклине оз. Трехцветное.

Ключевые слова: бактериохлорофилл, экстракты пигментов, спектроскопия поглощения, кинетика флуоресценции, время жизни флуоресценции.

DOI: 10.61011/OS.2026.06.63408.71-25

Введение

Отличительной чертой многих морских лагун и прибрежных озер Беломорского региона является устойчивая вертикальная стратификация воды, возникающая из-за разницы плотности ее слоев, — меромиксия. В таких водоемах можно выделить поверхностный пресный слой воды, насыщенный кислородом, и придонный соленый с высокой концентрацией сероводорода. В переходном слое, или хемоклине, при отсутствии кислорода и достаточном солнечном освещении может наблюдаться массовое развитие аноксигенных фототрофных бактерий, чаще всего зеленых серных бактерий (ЗСБ, Chlorobiaceae), которые образуют так называемую „бактериальную пластину“ [1–3]. Присутствие ЗСБ в водоемах напрямую зависит от внешних условий — освещенности, солености, концентрации сероводорода и др. Для фотосинтеза ЗСБ используют бактериохлорофиллы (Бхл), а также каротиноиды алициклического типа. В особых фотосинтетических антенных комплексах ЗСБ (хлоросомах) локализованы так называемые хлоросомные Бхл, к которым относят Бхл *c, d, e, f* [4–7]. Это позволяет использовать оценку содержания молекул хлоросомных Бхл в природной воде в качестве одного из индикаторов состояния водоема. Распределение хлоросомных Бхл по глубине может дать представление о наличии аноксийной зоны и микробных биогеохимических циклах серы и углерода в водоеме.

Спектрально-люминесцентные свойства фотосинтетического пигмента хлорофилла (Хл) довольно хорошо изучены [8,9], поэтому оптические методы широко используются для мониторинга концентрации фитопланктона и цианобактерий в водных экосистемах по поглощению или флуоресценции Хл. Однако в мониторинге численности аноксигенных фототрофов в природной воде, основным фотосинтетическим пигментом которых

является Бхл, оптические методы пока применяются очень ограниченно. Это связано с трудностью отбора и анализа проб воды с анаэробными фототрофными бактериями и выделения их фотосинтетических пигментов.

На разных стадиях гидрологической эволюции прибрежных водоемов при их изоляции от моря различается положение хемоклина, световые условия в нем, концентрация сероводорода. При этом доминируют разные группы аноксигенных фототрофов с разной плотностью популяций, поэтому распределение по глубине фототрофных бактерий и его изменения в разные сезоны, а также соответствующее распределение Бхл как основных фотосинтетических пигментов служат важной характеристикой водоема. До недавнего времени для подсчета суммарной концентрации хлоросомных Бхл применялся метод концентрирования биомассы микроорганизмов на фильтре, экстрагирования пигментов ацетоном или смесью ацетона и метанола, измерение спектров поглощения экстрактов и расчет по эмпирической формуле [10], в которой использовались величины оптической плотности при длинах волны 651 и 663 nm для ацетон-метаноловых экстрактов. Однако упомянутая формула разрабатывалась на образцах воды, содержащих (помимо Бхл) большую концентрацию Хл *a*, что не характерно для хемоклина беломорских меромиктических озер. Кроме того, желательно заменить метанол в растворителе менее токсичным этанолом.

В настоящей работе мы измеряем спектральные и кинетические характеристики Бхл *d* и применяем иные подходы для оценки содержания Бхл *d* в пробах воды одного из меромиктических водоемов в разные сезоны 2024 г. Задача мониторинга прибрежных водоемов, постепенно отделяющихся от Белого моря из-за продолжающегося послеледникового поднятия берега и проходящих через меромиктическую стадию развития, является актуальной, так как позволяет реконструировать ход их гидрологической и экологической эволюции и делать прогнозы для искусственно создаваемых меромиктических водных резервуаров [11,12].

Объекты исследования, спектральные и кинетические измерения

Образцы природной воды с фототрофными бактериями отбирали из зоны хемоклина и более глубоких слоев воды в меромиктическом оз. Трехцветное (66°35′33″ N, 32°58′43″E) в разные сезоны 2024 г. Даты отбора проб: 3 апреля (конец зимнего сезона, озеро покрыто льдом и снегом), 29 июня и 29 августа (летний сезон, открытая вода, высокая освещенность поверхностного слоя воды) и 3 октября (осенний сезон, период осенней циркуляции в поверхностном слое воды, не затрагивающей нижний соленый сероводородный слой). В 2024 г. сероводородная зона в оз. Трехцветное начиналась на глубине 1.9 – 2.0 m. В марте пробы отбирали со льда, летом и осенью — с надувной лодки в одной и той же локации. В диапазоне глубин 1.7–6.0 m пробы объемом 200 ml отбирали в пластиковые бутыли с помощью погружного насоса с предварительным измерением физико-химических характеристик воды каждого слоя. Точность позиционирования по глубине при таком отборе составляла 2 cm. А из градиентной зоны (хемоклина) в диапазоне глубин 1.7–2.3 m многошприцевым батометром отбирали одновременно 23 образца объемом 5 ml с шагом по глубине 2.5 cm.

В оз. Трехцветное в теплое время года в хемоклине и ниже среди аноксигенных фототрофных бактерий преобладают зеленоокрашенные формы ЗСБ, содержащие Бхл *d* в хлоросомах. Развитие коричневоокрашенных форм ЗСБ, содержащих Бхл *e*, в летние сезоны оказывается сильно подавленным в этом озере из-за избытка освещения в верхней части хемоклина, конкурентного вытеснения со стороны быстро растущих зеленоокрашенных клеток внутри бактериальной пластины, полного отсутствия света под высокоплотным слоем ЗСБ. [13]. В работе [14] показано, что в озере на глубинах 1.9 и 2.0 m преобладающими были зеленоокрашенные формы Chlorobium, которые составляли 94% микробного сообщества. Метагеномный анализ подтвердил, что в хемоклине озера абсолютно доминирует зеленоокрашенная форма ЗСБ, при этом коричневоокрашенные формы практически отсутствуют.

При отборе проб методом многошприцевого батометра объем каждого образца был ограничен 5 ml, при этом концентрация клеток ЗСБ в хемоклине была высокой, поэтому метод концентрирования биомассы на фильтрах не применялся. Вместо этого мы использовали метод экстрагирования, применявшийся ранее для определения Хл *a* в пробах фитопланктона, заменив чистый ацетон смесью ацетона и этанола. Для получения экстрактов к 1 ml пробы природной воды с ЗСБ добавляли 4 ml смеси ацетона с этанолом в пропорции 7 : 2, пробирки заворачивали в фольгу и выдерживали в холодильнике не менее 24 h.

Спектры оптической плотности регистрировали на спектрофотометре Solar PB2201 в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 или 2 cm. Спектры поглощения проб природной воды регистрировали по отношению к дистиллированной воде, спектры поглощения экстрактов — по отношению к растворителю. В дальнейшем все спектры поглощения приводили к оптической плотности для пути 1 cm.

Измерения кинетики флуоресценции Бхл *d* в экстрактах проведены на установке на базе спектрофлуориметра OmniFluo-900 (Zolix Instruments, Китай). Возбуждение осуществлялось с помощью импульсного пикосекундного лазера CNI Laser SSP-MD-PSL-375.55-30-2 (длина волны 373 nm, мощность 139.9 μW, длительность импульса 200–1000 ps), регистрация проводилась с помощью ФЭУ PMT R13456, работающего в режиме счета фотонов. Установка позволяла получать кривые затухания флуоресценции в режиме время-коррелированного счета фотонов (TCSPC — time-correlated single photon

counting), блок сбора данных DCS900PC. В качестве аппаратной функции прибора (IRF — instrument response function) выступала кинетическая кривая, полученная для сигнала упругого рассеяния света дистиллированной водой на длине волны возбуждения 373 nm. Обработка кинетических кривых осуществлялась с использованием программного пакета Omni-Win v. 1.2.37 и представляла собой деконволюцию кривой затухания флуоресценции исследуемого образца и аппаратной функции прибора.

Результаты и обсуждение

Спектры поглощения света пигментами ЗСБ в воде и в экстрактах

Спектры поглощения света в образцах воды с ЗСБ с разных горизонтов оз. Трехцветное и приготовленных из них экстрактов пигментов приведены на рис. 1. Для проб воды с горизонтов выше хемоклина (от 1.7 до 1.8 m) спектры поглощения имеют вид полосы с монотонно уменьшающейся при возрастании длины волны оптической плотностью — типичные спектры поглощения света растворенным органическим веществом (РОВ) природной воды [15,16]. Начиная с горизонта 1.9 m, в воде присутствуют зеленоокрашенные клетки ЗСБ с основным фотосинтетическим пигментом Бхл *d*, поглощение которого в максимуме длинноволновой полосы возрастает и достигает своего максимального значения на горизонтах около 2 m, а в более глубоких слоях воды в нижней части хемоклина наблюдается спад концентрации Бхл из-за уменьшения концентрации клеток ЗСБ.

В работе [17] описан метод, позволяющий вычислить концентрацию Бхл с помощью спектров оптической плотности клеток ЗСБ непосредственно в воде, без пробоподготовки, по измеренной площади длинноволновой полосы поглощения хлоросомных Бхл в суспензии клеток бактерий. До этого использовали спектры поглощения экстрактов в органических растворителях [10]. Способ определения концентрации Бхл по спектрам оптической плотности исходных проб воды привел к сокращению затрачиваемого на измерения времени и устранению работы с токсичным метанолом.

Рассмотрим подробнее данный метод. Интегральная по спектру оптическая плотность ΣD рассчитывается в диапазоне 600–800 nm как площадь под спектральной кривой. Для учета светорассеяния клетками бактерий используется линейное приближение зависимости светорассеяния от длины волны в этом же спектральном диапазоне. Интегральная величина светорассеяния вычитается из суммарной полосы оптической плотности. Исходя из пропорциональной зависимости между площадью длинноволновой полосы поглощения (с вычтенным фоном светорассеяния) и концентрацией Бхл по серии образцов с различной концентрацией Бхл был определен коэффициент пропорциональности A_{w} [mg/(nm·m^3)], позволяющий записать формулу для расчета концентрации Бхл в воде (mg/m^3) следующим образом:

$$C_{\mathrm{w}}(\text{Бхл } d) = A_{\mathrm{w}}\Sigma D,$$

где ΣD — площадь длинноволновой полосы поглощения Бхл в пробах воды с вычтенным фоном рассеяния, $A_{\mathrm{w}} = 336 \pm 9\,\mathrm{mg/(nm{\cdot}m^3)}$ — эмпирический коэффициент пропорциональности [17].

Данный способ (назовем его способ 1) удобен тем, что не требует никакой предварительной пробоподготовки, концентрирования клеток бактерий или экстрагирования пигментов органическими растворителями. Однако он может быть применен только на свежих пробах, и его применимость ограничена пробами с высокой концентрацией хлоросомных Бхл и не слишком высоким светорассеянием. Именно такой случай реализуется в пробах природной воды из хемоклина оз. Трехцветное при массовом развитии ЗСБ. Глубина с максимальной концентрацией Бхл *d* и его концентрация на этом горизонте, полученная способом 1, для оз. Трехцветное в разные сезоны 2024 г. приведены в табл. 1.

В спектрах поглощения ацетон-этаноловых экстрактов, приготовленных из образцов с клетками ЗСБ (рис. 1, *b*), наблюдается сужение длинноволновой полосы поглощения Бхл *d* и сдвиг ее в коротковолновую область спектра примерно на 70 nm по сравнению с полосами поглощения клеток ЗСБ в исходной природной воде. Данное явление связано с тем, что при экстрагировании происходит разрушение плотно упакованных хлоросом, внутри которых располагаются фотосинтетические пигменты, вследствие чего Бхл переходит из высоко агрегированной формы, в которой он находился в хлоросомах, к мономерной. Как видно из рис. 1, *b*, полосы поглощения света ацетон-этаноловыми экстрактами пигментов имеют главные максимумы в коротковолновой (поглощение света молекулами Бхл и каротиноидами) и длинноволновой областях спектра (где поглощают свет только молекулы Бхл). Максимумы коротковолновых полос поглощения проб воды, содержащих клетки зеленоокрашенного типа ЗСБ, приходятся на длины волн 427 и 450 nm, а длинноволновой — на 726–729 nm, что соответствует поглощению света Бхл *d*.

С помощью полученного в работе [18] коэффициента экстинкции для смеси ацетон-этанол $\varepsilon = (82.5 \pm 0.8)\,\mathrm{l/(g{\cdot}cm)}$ в растворителе ацетон : этанол в пропорции 7 : 2 и значений оптической плотности в максимуме длинноволновой полосы поглощения были произведены расчеты концентрации Бхл *d* в слоях природной воды из оз. Трехцветное в 2024 г. (способ 2). Использовали следующую формулу для расчета концентрации Бхл *d* в экстракте при наличии только одного типа Бхл в растворе в кювете с длиной оптического пути 1 cm:

$$C_{\mathrm{ex}}(\text{Бхл } d) = A_{\mathrm{ex}}D_{\max},$$

где $D_{\max}$ — оптическая плотность в максимуме полосы поглощения в кювете с длиной оптического пути 1 cm,

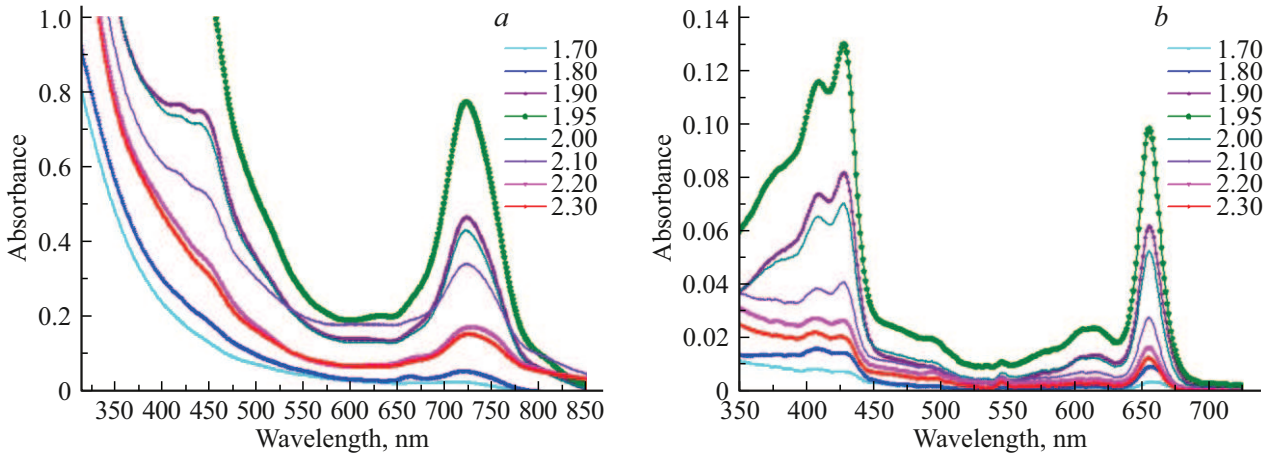

Рис. 1. Спектры поглощения света пигментами ЗСБ в воде из различных горизонтов оз. Трехцветное (*a*) и приготовленных из них ацетон-этаноловых экстрактов (*b*). Отбор проб 29.08.2024.

Таблица 1. Измеренная двумя способами концентрация Бхл *d* в слое с максимальной его концентрацией и суммарное количество Бхл *d* в толще воды оз. Трехцветное в разные сезоны 2024 г.

Дата отбора проб	Горизонт с макс. конц. Бхл *d*, m	Концентрация Бхл *d*, mg/m^3 (способ 1)	Концентрация Бхл *d*, mg/m^3 (способ 2)	Суммарное количество Бхл *d* в толще хемоклина выше 2.3 m, g/m^2
03.04.2024	2.050	5 600 ± 300	5 700 ± 200	29.4
29.06.2024	2.025	6 300 ± 300	6 800 ± 200	53.0
29.08.2024	1.950	13 300 ± 500	13 700 ± 400	67.0
03.10.2024	1.900	н/о	11 700*	46.2

* Концентрация Бхл на горизонте 1.9 m может быть завышена из-за отсутствия учета в спектре поглощения пигментов Хл-содержащих микроорганизмов.

$A_{ex} = 1/(0.4343\varepsilon) = 27.9$ (mg·cm)/l — коэффициент пропорциональности, рассчитанный через коэффициент экстинкции Бхл *d* в соответствующем растворителе [18]. Полученная по данной формуле концентрация Бхл в экстракте выражена в mg на 1 l растворителя. Умножив на 5, мы получим концентрацию C_w в исходной пробе воды для Бхл *d* в клетках ЗСБ с учетом соотношения объемов экстракта и использованного объема пробы (5 : 1).

В табл. 1 приведены характеристики слоев оз. Трехцветное с максимальной концентрацией Бхл *d*, полученной по спектрам поглощения экстрактов, а на рис. 2 показаны распределения концентрации Бхл *d*, определенной этим способом, в зависимости от глубины в разные сезоны 2024 г.

По распределениям рис. 2 и данным табл. 1 можно проследить, как трансформировалась бактериальная пластина в хемоклине оз. Трехцветное с апреля по октябрь 2024 г. и как менялась максимальная концентрация Бхл *d*. В конце зимнего периода подо льдом распределение ЗСБ было более широким по глубине. Максимальная концентрация Бхл приходилась на глубину 2.050 m и составляла менее 6000 mg/m^3. К концу июня произошло массовое развитие ЗСБ в более верхних горизонтах, максимальная концентрация Бхл возросла до 6800 mg/m^3 на горизонте 2.025 m. К концу августа максимум численности ЗСБ сместился вверх к горизонту 1.95 m, и в слоях 1.85–2.00 m концентрация Бхл *d* увеличилась почти до 14000 mg/m^3. Оценки концентрации Бхл *d*, сделанные для горизонтов 2.2–2.3 m (в пробах из многошприцевого батометра) и от 2.3 до 6.0 m (при отборе проб погружным насосом), показывают, что концентрация Бхл *d* и соответственно численность ЗСБ практически не изменились по сравнению с концом зимнего сезона — это неактивные слои ЗСБ в темновых условиях.

Если мы сравним концентрации Бхл, полученные в начале октября, с предыдущими распределениями 2024 г., то заметим явное отличие осеннего сезона: распределение Бхл *d* по глубине становится очень резким: концентрация Бхл *d* скачком увеличивается более чем на порядок (от 1100 до 11700 mg/m^3) на протяжении 2.5 cm. Уменьшение концентрации бактериохлорофилла над горизонтом 1.9 m отражает снижение численности ЗСБ в верхней части хемоклина, что может быть связано с осенним усилением циркуляции из-за понижения температуры и усиления ветров. По данным гидрологических измерений миксолимнион (зона вертикального перемешивания) в октябре 2024 г. охватывал слой от

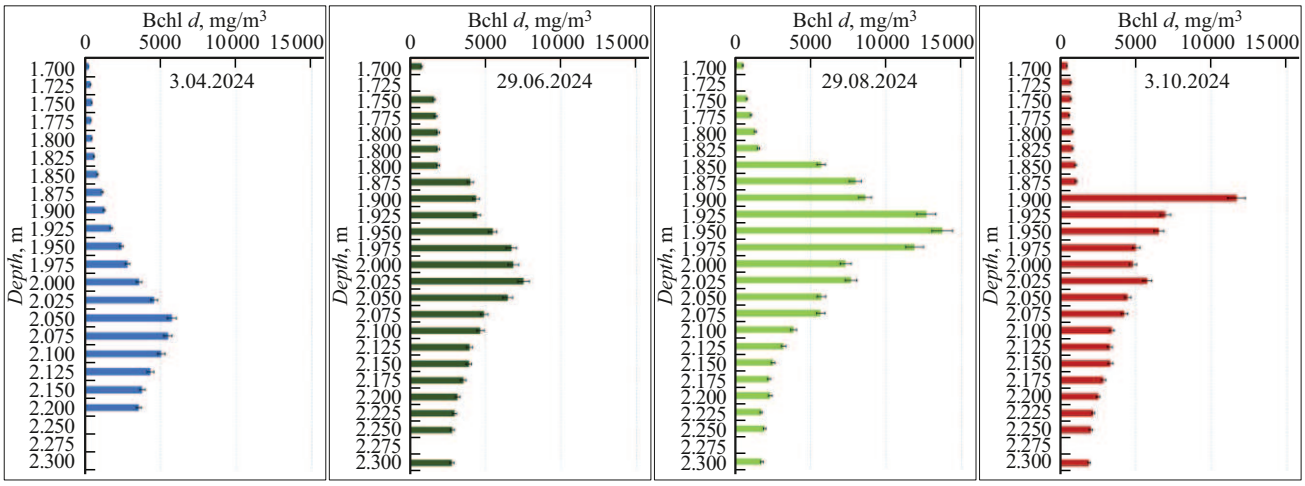

Рис. 2. Вертикальное распределение концентрации Бхл *d* в оз. Трехцветное в разные сезоны 2024 г. Даты отбора проб указаны на рисунке.

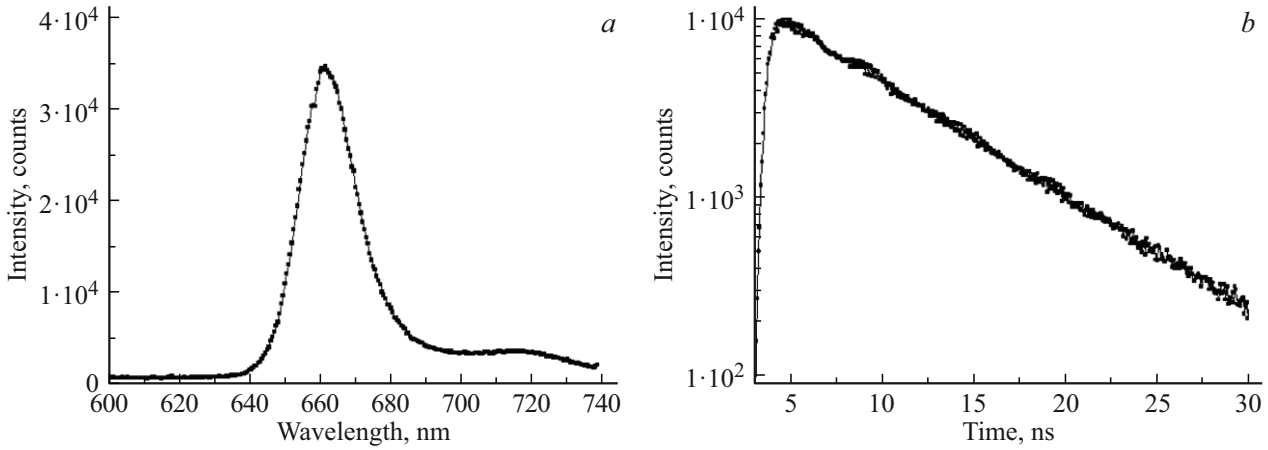

Рис. 3. (*a*) Спектр флуоресценции и (*b*) кинетика затухания флуоресценции Бхл *d* в ацетон-этаноловом экстракте пигментов из горизонта 1.9 m оз. Трехцветное при импульсном лазерном возбуждении.

поверхности до глубины 1.8 m включительно с температурой +6°C. Во всем этом слое присутствовал кислород; на нижней границе его концентрация была 1.1 mg/l. Между горизонтами 1.8 и 1.9 m проходила резкая граница: вдвое возросла соленость (0.4%), до 6.9°C повысилась температура, а главное, не стало кислорода. Так как ЗСБ — строгие анаэробы, то последнее обстоятельство для них особенно важно. В июне граница однородной зоны находилась на 20 cm выше, а в августе — на 10 cm выше, чем в начале октября. По рассчитанным значениям концентрации Бхл *d* в разных слоях сделаны оценки суммарной концентрации Бхл *d* в толще воды в разные сезоны. На горизонтах от 1.7 до 2.3 m суммарная масса Бхл *d* составляла от 29 g/m^2 зимой до 67 g/m^2 летом в 2024 г. В более глубоких слоях воды с темновыми условиями концентрация Бхл и численность клеток ЗСБ практически не меняются в течение года.

Сопоставим данные по концентрации Бхл *d* в оз. Трехцветное в 2024 г. с предыдущими наблюдениями, начиная с 2012 г. После заплеска морской воды из Белого моря в озеро осенью 2011 г. в марте 2012 г. водная толща озера была окрашена в зеленый цвет из-за присутствия в ней зеленоокрашенных ЗСБ. Концентрация Бхл *d* уменьшалась с глубиной: она составляла 782 mg/m^3 на глубине 1 m и 272 mg/m^3 на глубине 2 m. В придонной воде на глубине 5 m, где наблюдалось скопление осевших клеток, содержание Бхл *d* возрастало до 419 mg/m^3, что говорило о том, что перемешивание воды не затронуло нижние слои озера [13]. В течение последующих лет по мере восстановления стратификации зеленая окраска воды оказывалась все больше приуроченной к зоне хемоклина. Широкий, толщиной до 1.5 m в марте 2013 г. пигментированный слой воды с каждым сезоном становился уже и к сентябрю 2014 г. имел толщину не более 40 cm, при этом на горизонте 2 m концентрация Бхл *d* составляла более 4500 mg/m^3 [13]. В сентябре 2019 г. максимальная концентрация Бхл *d* в хемоклине оз. Трехцветное наблюдалась на глубине 2.05 m и со-

Таблица 2. Время жизни флуоресценции Бхл *d* в ацетон-этаноловых экстрактах из разных горизонтов оз. Трехцветное

Образец	t, ns
Бхл *d* в смеси ацетон-этанол (горизонт 1.9 m)	6.67 ± 0.15
Бхл *d* в смеси ацетон-этанол (горизонт 2.1 m)	6.65 ± 0.15
Бхл *d* в смеси ацетон-этанол (горизонт 2.5 m)	6.65 ± 0.15
Бхл *d* в смеси ацетон-этанол (горизонт 2.025 m)	6.67 ± 0.10
Бхл *d* в этаноле (горизонт 2.025 m)	6.54 ± 0.10
Бхл *d* в ацетоне (горизонт 2.025 m)	6.61 ± 0.10

ставила около 16000 mg/m^3 [17]. Таким образом, концентрация Бхл *d* в конце лета 2024 г. (13700 mg/m^3) не является рекордной, но подтверждает особенности сезонного изменения численности ЗСБ в хемоклине — от минимальной в конце зимы (конец марта) до максимальной в конце летнего сезона (конец августа и начало сентября).

Кинетика флуоресценции и время жизни флуоресценции Бхл *d*

Поскольку на разных горизонтах водоема различается концентрация кислорода и сероводорода и различаются условия обитания ЗСБ, что может отражаться на фотосинтетической активности, были проведены измерения кинетики затухания флуоресценции Бхл *d* в экстрактах с целью выяснить, отличаются ли фотофизические характеристики главного фотосинтетического пигмента ЗСБ в этих слоях воды. Изучение кинетики флуоресценции Бхл *d* в экстрактах проводили при возбуждении светом с длиной волны 373 nm и регистрации на 660 nm. Спектр флуоресценции и кинетика затухания флуоресцении при импульсном лазерном возбуждении для одного из экстрактов Бхл показаны на рис. 3.

При анализе кинетики флуоресценции наилучшее согласие экспериментальной кривой затухания флуоресценции и модели было получено в приближении одной экспоненты. В табл. 2 приведены времена жизни флуоресценции Бхл *d* в ацетон-этаноловых экстрактах пигментов, рассчитанные по одноэкспоненциальной модели для ЗСБ, отобранных на разных горизонтах оз. Трехцветное (верхний слой хемоклина выше горизонта с максимальной концентрацией ЗСБ в конце июня 2024 г., горизонт 2.1 m с активными клетками ЗСБ и горизонт 2.5 m за пределами освещенной зоны, т. е. неактивный слой бактериальной пластины).

В табл. 2 дополнительно приведены времена жизни флуоресценции Бхл *d* в экстрактах, приготовленных из слоя воды с максмальной концентрацией ЗСБ в хемоклине (2.025 m в конце июня 2024 г.) с помощью различных растворителей (этанол, ацетон и смесь ацетона и этанола 7 : 2), при этом биомасса ЗСБ была предварительно сконцентрирована на стекловолоконном фильтре с размером пор 2 μm.

Сопоставим измеренные времена жизни флуоресценции Бхл *d* в экстрактах зеленых серобактерий оз. Трехцветное с известными по литературным данным значениями для хлоросомных Бхл, к которым относят Бхл *c*, Бхл *d* и Бхл *e*. Для мономеров Бхл *c* время жизни было определено в четырех растворителях и варьировало от 2.7 ns в метаноле до 7.6 ns в диметилсульфоксиде [19]. В других работах измеренное время жизни флуоресценции Бхл *c* было равно 6.5 ns [20] и менялось в пределах от 5.6 до 7.4 ns в разных растворителях и полимерных пленках [21]. В статье [22] измерили времена жизни флуоресценции Бхл *c*, Бхл *d* и Бхл *e* в пиридине и получили значения 6.7, 6.3 и 2.9 ns соответственно. В работе [23] получено время жизни флуоресценции Бхл *e*, равное 3.4 ns. Получается, что время жизни флуоресценции зависит как от типа молекулы Бхл, так и от растворителя и, возможно, способа получения мономеров Бхл. Из упомянутым хлоросомных бактериохлорофиллов Бхл *c* ближе всего к Бхл *d* по своей химической структуре [4]. Наши оценки времени жизни флуоресценции 6.54–6.67 ns для мономеров Бхл *d* в этаноле, ацетоне или их смеси находятся в хорошем согласии с результатами предшествующих публикаций.

Отметим, что полученные нами времена жизни флуоресценции молекул Бхл *d* мало отличались для трех горизонтов отбора проб с фототрофными бактериями, что наряду со спектрами поглощения говорит о близких фотофизических характеристиках Бхл *d* и сходстве пигментного состава фотосинтетической антенны зеленых серных бактерий в разных слоях хемоклина данного водоема.

Заключение

В прибрежном меромиктическом оз. Трехцветное охарактеризованы спектральные свойства Бхл *d* из светособирающего комплекса зеленых серных бактерий, обитающих в толще хемоклина. Пробы отбирали с помощью погружаемого насоса и многошприцевого батометра, позволяющего анализировать слои воды с дискретностью по вертикали 2.5 cm. Спектры поглощения указывают на присутствие клеток зеленоокрашенного типа зеленых серобактерий, начиная с глубины 1.9 m, с основным фотосинтетическим пигментом Бхл *d*. Построены распределения концентрации Бхл *d* по глубине в разные сезоны 2024 г. По значениям оптической плотности в максимуме длинноволновой полосы поглощения проб воды

из разных слоев хемоклина, а также ацетон-этаноловых экстрактов рассчитана суммарная концентрация Бхл *d* в хемоклине и его количество, приходящееся на $1\,m^2$ площади озера в разные сезоны. Количественные показатели возрастали от конца зимнего сезона, когда озеро покрыто льдом и снегом ($5700\,mg/m^3$ и $29.4\,g/m^2$), к концу летнего сезона ($13700\,mg/m^3$ и $67\,g/m^2$). В октябре при остывании водоема зарегистрирована эрозия верхней части бактериального слоя и уменьшение в 1.5 раза суммарного количества бактериохлорофилла под единицей площади озера.

Впервые измерена кинетика флуоресценции Бхл *d* при лазерном возбуждении в экстрактах пигментов из клеток зеленых серобактерий из различных слоев оз. Трехцветное (верхняя часть хемоклина, слой с наиболее массовым развитием бактерий и слой воды за пределами освещенной зоны). Рассчитаны времена жизни Бхл *d*, экстрагированного из клеток зеленых серных бактерий из разных горизонтов хемоклина. Времена жизни флуоресценции данного фотосинтетического пигмента в мономерной форме близки для разных горизонтов, что говорит о сходстве пигментного состава фотосинтетической антенны зеленых серных бактерий различных слоев воды в оз. Трехцветное.

Благодарности

Авторы благодарят администрацию Беломорской биологической станции имени Н.А. Перцова МГУ имени М.В. Ломоносова за поддержку экспедиционных работ. Часть экспериментальных результатов, использованных в настоящей работе, получена с помощью системы высокоскоростного анализа кинетики затухания люминесценции веществ, закупленной по Программе развития МГУ (Соглашение № 231 от 06.06.2023).

Финансирование работы

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М.В. Ломоносова.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] A.S. Savvichev, V.V. Kadnikov, I.I. Rusanov, A.V. Beletsky, E.D. Krasnova, D.A. Voronov, A.Yu. Kallistova, E.F. Veslopolova, E.E. Zakharova, N.M. Kokryatskaya, G.N. Losyuk, N.A. Demidenko, N.A. Belyaev, P.A. Sigalevich, A.V. Mardanov, N.V. Ravin, N.V. Pimenov. Frontiers in Microbiology, **11**, 1945 (2020).

[2] А.С. Саввичев, Н.А. Демиденко, В.В. Кадников, В.В. Беленкова, И.И. Русанов, В.М. Горленко. Микробиология, **92** (6), 595 (2023). [A.S. Savvichev, N.A. Demidenko, V.V. Kadnikov, V.V. Belenkova, I.I. Rusanov, V.M. Gorlenko. Microbiology, **92** (6), 819 (2023)].

[3] О.Н. Лунина, С.В. Пацаева, В.В. Кадников, Е.Д. Краснова, Д.А. Воронов, Н.М. Кокрятская, А.С. Саввичев. Микробиология, **94** (6), 497 (2025). [O.N. Lunina, S.V. Patsaeva, V.V. Kadnikov, E.D. Krasnova, D.A. Voronov, N.M. Kokryatskaya, A.S. Savvichev. Microbiology, **94** (6), 852 (2025)].

[4] J. Overmann. Green sulfur bacteria. Encyclopedia of Life Sciences (John Wiley & Sons, Ltd., 2001). DOI: 10.1038/npg.els.0000458

[5] *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration*, ed. by B.R. Green, W.W. Parson (Springer, Dordrecht), vol. 13. DOI: 10.1007/978-94-017-2087-8_6

[6] *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Advances in Photosynthesis and Respiration*, ed. by R.E. Blankenship, M.T. Madigan, C.E. Bauer (Springer, Dordrecht), vol. 2. DOI: 10.1007/0-306-47954-0_20

[7] L.M. Günther, M. Jendrny, E.A. Bloemsma, M. Tank, G.T. Oostergetel, D.A. Bryant, J. Knoester, J. K?hler. J. Phys. Chem. B, **120** (24), 5367 (2016). DOI: 10.1021/acs.jpcb.6b03718

[8] M. Taniguchi, J.S. Lindsey. Photochemistry and Photobiology, 13319 (2020). DOI: 10.1111/php.13319

[9] M. Chazaux, C. Schiphorst, G. Lazzari, S. Caffarri. Plant J., **109**, 1630 (2022). DOI: 10.1111/tpj.15643

[10] J. Overmann, M.M. Tilzer. Aquatic Sciences, **51**, 261 (1989).

[11] Е.Д. Краснова. Водные ресурсы, **48** (3), 322 (2021).

[12] Е.Д. Краснова, М.В. Мардашова. Природа, 1, 16 (2020).

[13] О.Н. Лунина, А.С. Саввичев, В.В. Бабенко, Д.И. Болдырева, Б.Б. Кузнецов, Т.В. Колганова, Е.Д. Краснова, Н.М. Кокрятская, Е.Ф. Веслополова, Д.А. Воронов, Н.А. Демиденко, М.А. Летарова, А.В. Летаров, В.М. Горленко. Микробиология, **88** (1), 100 (2019).

[14] A.S. Savvichev, V.V. Babenko, O.N. Lunina, M.A. Letarova, D.I. Boldyreva, E.F. Veslopolova, N.A. Demidenko, N.M. Kokryatskaya, E.D. Krasnova, V.A Gaisin., E.S. Kostryukova, V.M. Gorlenko, A.V. Letarov. Environmental Microbiology, **20** (10), 3784 (2018). DOI: 10.1111/1462-2920.14384

[15] Ю.Г. Соколовская, Н.А. Демиденко, Е.Д. Краснова, Д.А. Воронов, А.С. Саввичев, С.В. Пацаева. Опт. и спектр., **132** (4), 374 (2024). [Yu.G. Sokolovskaya, N.A. Demidenko, E.D. Krasnova, D.A. Voronov, A.S. Savvichev, S.V. Patsaeva. Opt. Spectrosc., **132** (4), 344 (2024)]. DOI: 10.61011/OS.2024.04.58215.25-24

[16] Yu.G. Sokolovskaya, E.D. Krasnova, D.A. Voronov, D.N. Matorin, A.A. Zhiltsova, S.V. Patsaeva. Photonics, **10** (6), 672 (2023). DOI: 10.3390/photonics10060672

[17] П.С. Емельянцев, А.А. Жильцова, Е.Д. Краснова, Д.А. Воронов, В.В. Рымарь, С.В. Пацаева. Вестн. Моск. ун-та. Серия 3: Физ., астр., **2**, 25 (2020).

[18] А.А. Жильцова, Е.Д. Краснова, Д.А. Воронов, Ю.Г. Соколовская, С.В. Пацаева. Опт. и спектр., **132** (3), (2024). [A.A. Zhiltsova, E.D. Krasnova, D.A. Voronov, Yu.G. Sokolovskaya, S.V. Patsaeva. Opt. Spectrosc., **132** (3), 214 (2024)]. DOI: 10.61011/OS.2024.03.58143.22-24

[19] D. Brune, R. Blankenship, G. Seely. Photochem. Photobiol., **47**, 59 (1988).

[20] T.P. Causgrove, P. Cheng, D.C. Brune, R.E. Blankenship. J. Phys. Chem., **97** (21), 5519 (1993). DOI: 10.1021/j100123a011

[21] D. Frackowiak, A. Dudkowiak, A. Ptak, H. Malak, I. Gryczyński, B. Zelent. J. Photochem. and Photobiol. B: Biology, **44** (3), 231 (1998).
[22] D.M. Niedzwiedzki, R.E. Blankenship. Photosynth. Res., **106**, 227 (2010). DOI: 10.1007/s11120-010-9598-9
[23] G.S. Orf, A.M. Collins, D.M. Niedzwiedzki, M. Tank, V. Thiel, A. Kell, D.A. Bryant, G.A. Montano, R.E. Blankenship. Langmuir, **33** (25), 6427 (2017). DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b01761