

УДК 551.465

## СТИМУЛИРОВАНИЕ СВЕТОМ ОКИСЛЕНИЯ СЕРОВОДОРОДА В АНАЭРОБНОЙ ЗОНЕ ЧЕРНОГО МОРЯ

© 2024 г. А. В. Дубинин<sup>1</sup>, М. Н. Римская-Корсакова<sup>1</sup>, Е. О. Дубинина<sup>2</sup>,  
Т. П. Демидова<sup>1</sup>, Л. С. Семилова<sup>1</sup>, Е. Д. Бережная<sup>1</sup>, Е. Н. Золигина<sup>1</sup>,  
О. А. Очередник<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт геологии рудных месторождений петрографии, минералогии и геохимии РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Южное отделение Института океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Геленджик, Россия

\*e-mail: dubinin@ocean.ru

Поступила в редакцию 22.05.24 г.

После доработки 06.06.24 г.

Принята к публикации 08.08.24 г.

Элементарная сера — обычный продукт окисления сероводорода в фотической зоне меромиктических водоемов, появляющийся благодаря аноксигенному окислению сероводорода фотосинтетическими бактериями. Фотическая зона в Черном море ограничена 50–60 м, что гораздо выше верхней границы сероводородной зоны, которая в центре моря находится на глубине 90–100 м. В периферийных районах моря глубина редокс интерфейса достигает 150–170 м, где, как предполагалось, фотоавтотрофные бактерии мало распространены и находятся в неактивном состоянии. Исследование распределения элементарной серы в анаэробной зоне Черного моря показало, что воды с глубин 180–300 м обладают световой чувствительностью. Это приводит к резкому росту концентраций серы до 11.3 мкмоль/кг при фоновых значениях 0.15–0.18 мкмоль/кг в строго анаэробных условиях. Выяснено, что столь значительный рост элементарной серы связан с деятельностью фотоавтотрофных бактерий. Остаются невыясненными условия существования фотоавтотрофных бактерий на глубинах 180–300 м в Черном море при отсутствии света.

**Ключевые слова:** элементарная сера, фотоавтотрофные бактерии, аноксигенное окисление сероводорода, Черное море

DOI: 10.31857/S0030157424060051, EDN: FIPODA

### ВВЕДЕНИЕ

Элементарная сера, являясь промежуточным продуктом окисления сульфида, обладает заметной реакционной способностью. Она может окисляться до сульфата или диспропорционировать на сульфид и сульфат [6, 26]. В анаэробных водах появление элементарной серы обычно является результатом аноксигенного окисления сульфида фотоавтотрофными бактериями в фотической зоне меромиктических водоемов. Накопление серы происходит внутри бактериальной клетки у пурпурных фотоавтотрофных бактерий или снаружи у зеленых серных бактерий. Эта сера в условиях дефицита сульфида может использоваться в дальнейшем, окисляясь до сульфата, при наращивании биомассы бактерий за счет потребления растворенной углекислоты [11, 17, 24].

Появление элементарной серы возможно при окислении метана в анаэробных условиях. В этом случае метанотрофные бактерии накапливают

серу внутри клеток после восстановления сульфата. Элементарная сера диффундирует через клеточную мембрану и, реагируя с сероводородом, образует полисульфиды. Полисульфиды используются бактериями *Deltaproteobacteria*, которые их диспропорционируют на сульфид и сульфат [21].

Элементарная сера — обычный продукт окисления сероводорода в зоне хемоклина меромиктических водоемов, где в качестве окислителя сульфида могут выступать растворенный кислород, нитрат, Mn(IV) и Fe(III) [12]. В Черном море повышенные концентрации элементарной серы были выявлены в зоне взаимодействия кислородсодержащих вод нижнебосфорского течения и анаэробных вод в прибосфорском районе [18]. На границе окисленных и восстановленных вод в Черном море повышенные концентрации серы обычно не обнаруживаются [7]. Определенные концентрации элементарной серы (больше 0.01 мкмоль/кг для используемой методики [2]

появляются вместе с сероводородом и слабо растут с глубиной в зависимости от концентраций сероводорода. Изотопный состав элементной серы Черного моря на глубинах 450 и 600 м у кавказского и крымского побережий показал, что величина  $\delta^{34}\text{S}$  у элементной серы в среднем больше на 2.2‰, чем у сероводорода с этой же глубины [3]. Более тяжелый изотопный состав серы относительно сероводорода свидетельствует о бактериальном происхождении элементной серы [9, 10, 14, 16, 24].

Производство элементной серы фотосинтетическими бактериями в анаэробной зоне Черного моря возможно лишь в центральной его части, где граница редокс интерфейса ближе всего располагаются у поверхности моря. С глубиной интенсивность солнечного света уменьшается по экспоненциальному закону [20]. Заглубление границы интерфейса у побережья практически исключает фотосинтез у анаэробных бактерий и, следовательно, продуцирование ими элементной серы. Однако изучение распределения элементной серы с размером частиц больше 0.45 мкм показало, что ниже редокс интерфейса в зоне повышенных содержаний взвешенного органического углерода и максимума количества бактериальных клеток в воде с плотностью 16.43–16.75 кг/м<sup>3</sup> (глубина 230–300 м) резко возрастает ее количество, достигая 11 мкмоль/кг. Это происходит в пробах воды, отобранных в строго анаэробных условиях в атмосфере аргона при отсутствии окислителей в присутствии сероводорода [3]. Если сероводород предварительно перевести в осадок, например, в виде ZnS, то при этих же условиях рост концентраций серы в выше обозначенном интервале глубин не происходит. Выявленный максимум элементной серы, вероятно, является следствием аноксигенного окисления сульфида. В условиях дефицита кислорода, элементная сера может являться продуктом окисления сульфида фотосинтетическими бактериями – зелеными и пурпурными серными бактериями. Однако рост концентраций серы наблюдается в воде на глубинах 230–300 м, до которых свет практически не проникает и, следовательно, аноксигенный фотосинтез невозможен.

Целью данной работы является выяснение происхождения максимума элементной серы в верхней части анаэробной зоны на глубинах 230–300 м на континентальном склоне кавказского побережья Черного моря. Для достижения этой цели в области глубин максимальных концентраций элементной серы были проведены эксперименты по предварительному удалению сероводорода

из проб и подавлению бактериальной активности раствором глутаральдегида в финальной концентрации 2.5%. В отобранных пробах взвешенной элементной серы (размер частиц > 0.45 мкм) было проведено определение величин  $\delta^{34}\text{S}$ . При помощи метода SEM-EDX рассмотрены формы выделения элементной серы на фильтрах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Станции проведения исследований Ашамба29 (дата отбора 05.07.23) с координатами (44.489° с.ш., 37.869° в.д.) и Ашамба31 (10.10.23) с координатами (44.517° с.ш., 37.907° в.д.) находились в 7 и 5 милях от Голубой бухты на континентальном склоне, глубина водной толщи составляет 1200 и 500 м соответственно. Гидрофизические измерения выполнялись зондом “Sea Bird 19+” фирмы Sea-Bird Electronics, Inc. Отбор проб проводился с помощью комплекса “Rosette”, оснащенного шестью 4-литровыми батометрами Нискина. На обеих станциях для заполнения батометров при пробоотборе использовался аргон. Сероводород и растворенный кислород фиксировали в пробах на судне сразу после их отбора. Определения сероводорода и кислорода [1, 5], а также фильтрование проб морской воды в атмосфере аргона для последующего определения элементной серы и ее изотопного состава проводились после возвращения на берег в тот же день. На станции Ашамба29 все пробы были последовательно отфильтрованы в течение 52 часов, на станции Ашамба31 фильтрование проб заняло не более суток.

Для оценки влияния освещенности на аноксигенное окисление сульфида были отобраны три серии проб в июле 2023 года в интервале глубин 167–400 м на станции Ашамба29. Редокс интерфейс находился на станции Ашамба29 глубже 177 м (условная плотность 16.19, здесь и далее везде плотность выражена в кг/м<sup>3</sup>), где концентрация сероводорода составила 0.02 мкМ (табл. 1). Все бутылки из полиэтилена емкостью 1 л, предназначенные для отбора проб, были заранее заполнены аргоном. В первую серию было предварительно добавлено 10 мл суспензии основного карбоната цинка для связывания сероводорода в виде ZnS, разрушения полисульфидов и перевода серы с нулевым зарядом (zero-valent sulfur – ZVS) в осадок [2]. Вторая серия была отобрана без каких-либо добавок; третья серия (тоже без добавок) состояла из 5 проб, отобранных в диапазоне глубин от 230 до 300 м, и была предназначена для определения изотопного состава элементной серы. Все пробы получены в 12–13 часов в солнечный день.

**Таблица 1.** Концентрация ZVS (zero-valent sulfur) и элементной серы (размер частиц больше 0.45 мкм) на станции Ашамба29

Глубина, м	Условная плотность, кг/м <sup>3</sup>	H <sub>2</sub> S, мкМ	ZVS, мкмоль/кг	S <sup>0</sup> , мкмоль/кг
167	16.10	0.02	0.03	0.05
177	16.19	0.02	0.02	0.01
189	16.30	3.16	0.09	0.09
209	16.43	14.5	0.08	0.04
230	16.54	25.2	0.10	7.92
250	16.61	35.9	0.07	11.3
260	16.65	42.6	0.12	8.23
267	16.67	46.5	0.10	0.83
279	16.69	51.8	0.15	9.42
299	16.74	66.1	0.12	10.6
350	16.83	85.3	0.15	0.17
400	16.90	111	0.18	0.17

На станции Ашамба31 в октябре 2023 года были отобраны две серии из 5 проб с глубины 234–304 м. Редокс интерфейс находился на глубине 175 м (плотность 16.21, концентрация сероводорода 1.2 мкМ) (табл. 2). В пробы первой серии был добавлен раствор глутаральдегида в конечной концентрации 2.5%, в пробы второй серии никаких добавок не производилось. Отбор проб проходил в вечернее время в 17 часов.

**Таблица 2.** Элементная сера (размер частиц > 0.45 мкм) в воде станции Ашамба31 (октябрь 2023) в экспериментах с добавкой 2.5% раствора глутаральдегида

Глубина, м	Условная плотность, кг/м <sup>3</sup>	H <sub>2</sub> S, мкМ	S <sup>0</sup> (+глутаральдегид), мкмоль/кг	S <sup>0</sup> , мкмоль/кг
175	16.21	1.2	но	но
185	16.30	6.4	но	но
201	16.40	14	но	но
234	16.55	33	0.00	5.80
246	16.59	38	0.01	2.68
265	16.63	46	0.02	3.87
284	16.67	53	0.02	1.42
304	16.72	69	0.04	0.17

но – не определяли.

До процедуры фильтрации отобранные пробы воды хранились в темноте в холодильнике при температуре около +4°C. Фильтрование

проводилось через фильтры с размером пор 0.45 мкм Millipore в атмосфере аргона, масса проб составила примерно 1 кг. Фильтры с осадком помещались в герметичные полипропиленовые пробирки объемом 50 мл, предварительно заполненные аргоном, и замораживались при температуре –20°C. В лаборатории в ИО РАН в фильтрах определяли элементную серу спектрофотометрическим методом после дистилляции в виде сероводорода, полученного восстановлением элементной серы двухвалентным хромом [2]. Для определения концентраций элементной серы полученный сероводород осаждали в виде ZnS, для изотопного анализа – в виде Ag<sub>2</sub>S [8].

Изотопный состав элементной серы полученных образцов на станции Ашамба29 (глубина 250 и 260 м) был определен методом CF-IRMS на масс-спектрометре DELTA V+ (Finnigan, Германия) после конвертации Ag<sub>2</sub>S в элементном анализаторе FlashEA HT 1112 в газ SO<sub>2</sub>. В каждой серии образцов анализировались международные стандарты IAEA-S-1 и IAEA-S-3 для приведения данных в международной шкале VCDT (Vienna Cañon Diablo Troilite) с использованием общепринятых величин δ<sup>34</sup>S для IAEA-S-1 и IAEA-S-3 (–0.3‰) и (–32.55‰) соответственно. Кроме того, чтобы оценить возможное фракционирование изотопного состава элементной серы для сравнения анализировали изотопный состав серы сульфидов с тех же глубин. Воспроизводимость полученных данных была лучше ± 0.2‰. Результаты рассчитаны относительно VCDT:

$$\delta^{34}S_{\text{sample}} = \left( \frac{{}^{34}S/{}^{32}S}{\left( \frac{{}^{34}S/{}^{32}S}{\text{VCDT}} \right) - 1} \right)_{\text{sample}} \times 1000.$$

Проба с глубины 250 м с максимальной концентрацией элементной серы, полученной на станции Ашамба29, в виде фильтра была использована для визуальной оценки форм выделений серы и локального их анализа с помощью метода SEM-EDX на приборе JEOL-IT500LA (ИГЕМ РАН). В пробу при отборе предварительно был добавлен раствор глутаральдегида в конечной концентрации 1.25% для фиксации бактериальных клеток. Концентрация глутаральдегида подобрана таким образом, чтобы не полностью ингибировать рост бактериальных клеток и производство элементной серы и при этом повысить устойчивость клеток в процессах фильтрации и сушки образцов. Образец был отфильтрован через фильтр 0.45 мкм PVDF Millipore

в атмосфере аргона, после чего фильтр был заморожен при  $-20^{\circ}\text{C}$  в атмосфере аргона в плотно закрытой полипропиленовой пробирке объемом 50 мл. Перед исследованием фильтр был высушен при  $+60^{\circ}\text{C}$  до постоянной массы.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Отбор проб без добавления суспензии  $\text{Zn}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$  в качестве фиксатора форм серы для отдельных горизонтов водной толщи показал, что аномальное накопление элементной серы наблюдается на тех же горизонтах, что и в рейсе НИС “Профессор Водяницкий” осенью 2022 года у крымского побережья [3]. Пробы с суспензией показали, что концентрация ZVS растет последовательно с глубиной от 0.02–0.03 мкмоль/кг на редокс интерфейсе до максимально 0.18 мкмоль/кг на глубине 400 м – самого глубокого горизонта, выбранного для опробования на станции Ашамба29 (табл. 1 и рис. 1). В пробах без добавления суспензии  $\text{Zn}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$  концентрация взвешенной элементной серы в верхней части анаэробной зоны до глубины 209 м (16.43) менялась в тех же пределах, что и с суспензией – от 0.01 до 0.09 мкмоль/кг. Ниже этого горизонта в интервале глубин 230–299 м наблюдался рост

концентраций  $\text{S}^0$  максимально до 11.3 мкмоль/кг на глубине 250 м (рис. 1). Высокие концентрации серы 7.9–11.3 мкмоль/кг были обнаружены на глубине 230–299 м (за исключением горизонта 267 м (0.83 мкмоль/кг)). Эти концентрации в 46–66 раз выше, чем на горизонтах 350–400 м, где вне зависимости от добавления суспензии концентрация серы и ZVS практически не различается и равна 0.15–0.18 мкмоль/кг.

От времени отбора проб до процедуры фильтрации проходило не более 52 часов на станции Ашамба29 и не более 1 суток на станции Ашамба31. Вероятно, высокая скорость появления элементной серы в пробах, отобранных в строго анаэробных условиях, может быть связана с бактериальными процессами аноксигенного окисления сероводорода. Чтобы убедиться в этом, осенью 2023 года на станции Ашамба31 мы отобрали по две серии проб на 5 горизонтах в интервале плотности 16.55–16.75  $\text{кг}/\text{м}^3$  и в одну из них добавили до пробоотбора раствор глутаральдегида в конечной концентрации 2.5% (табл. 2). Раствор глутаральдегида 2.5% ингибирует бактериальную активность. В результате мы получили подавление бактериальной деятельности и отсутствие накопления элементной серы в серии с глутаральдегидом (табл. 2 и рис. 2). В серии без глутаральде-

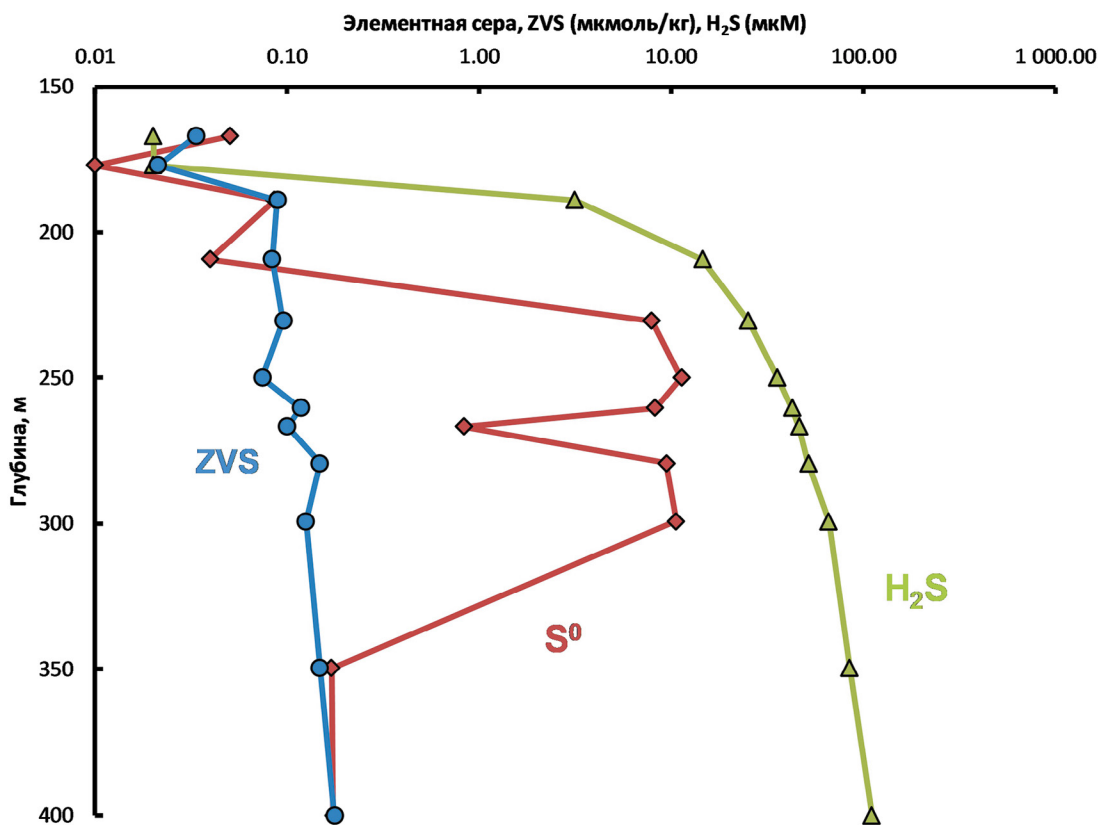
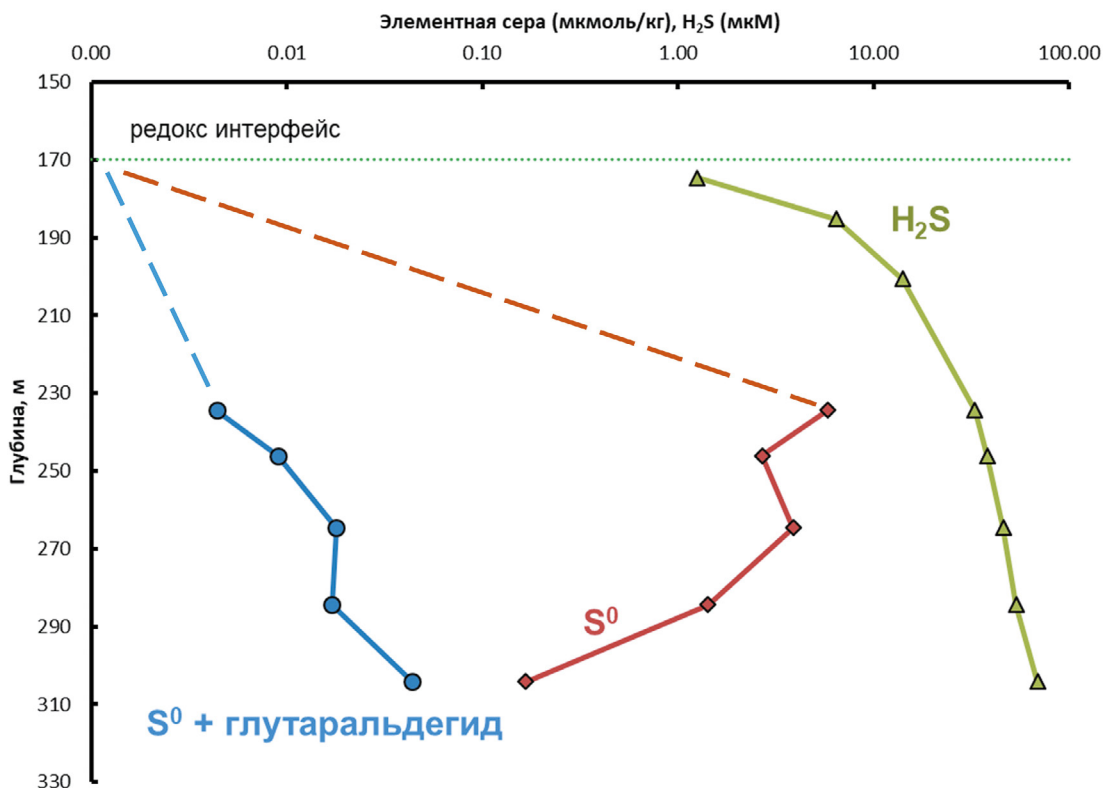


Рис. 1. Распределение ZVS, взвешенной элементной серы и сероводорода в воде станции Ашамба29 (июль 2023 года).



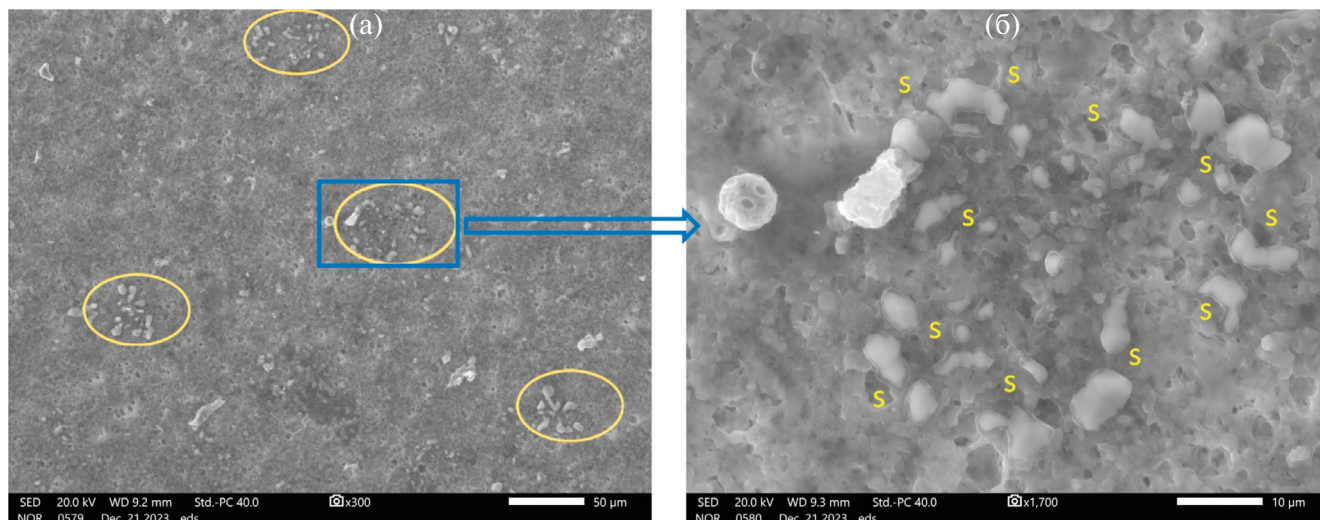
**Рис. 2.** Распределение элементарной серы (штриховой линией – предполагаемое) в пробах с добавлением глутаральдегида (2.5%) и без его добавления по вертикали толщи анаэробных вод на станции Ашамба31 в октябре 2023 года. Для характеристики анаэробных вод приведены концентрации сероводорода.

гиды концентрации элементарной серы достигали 1.4–5.8 мкмоль/кг. Они были в целом ниже, чем летом. Причиной этого может быть худшая освещенность осенью во время отбора проб. Пробы в октябре 2023 года отбирали в вечернее время на закате солнца. Летом отбор проводился в полдень в солнечный день. Время освещения было примерно одинаковым, процедуры, которые проводились с пробами, были также аналогичными (транспортировка в закрытых пластиковых ящиках на берег, хранение до фильтрования в холодильнике при +4°C, фильтрование на следующий после отбора день в атмосфере аргона).

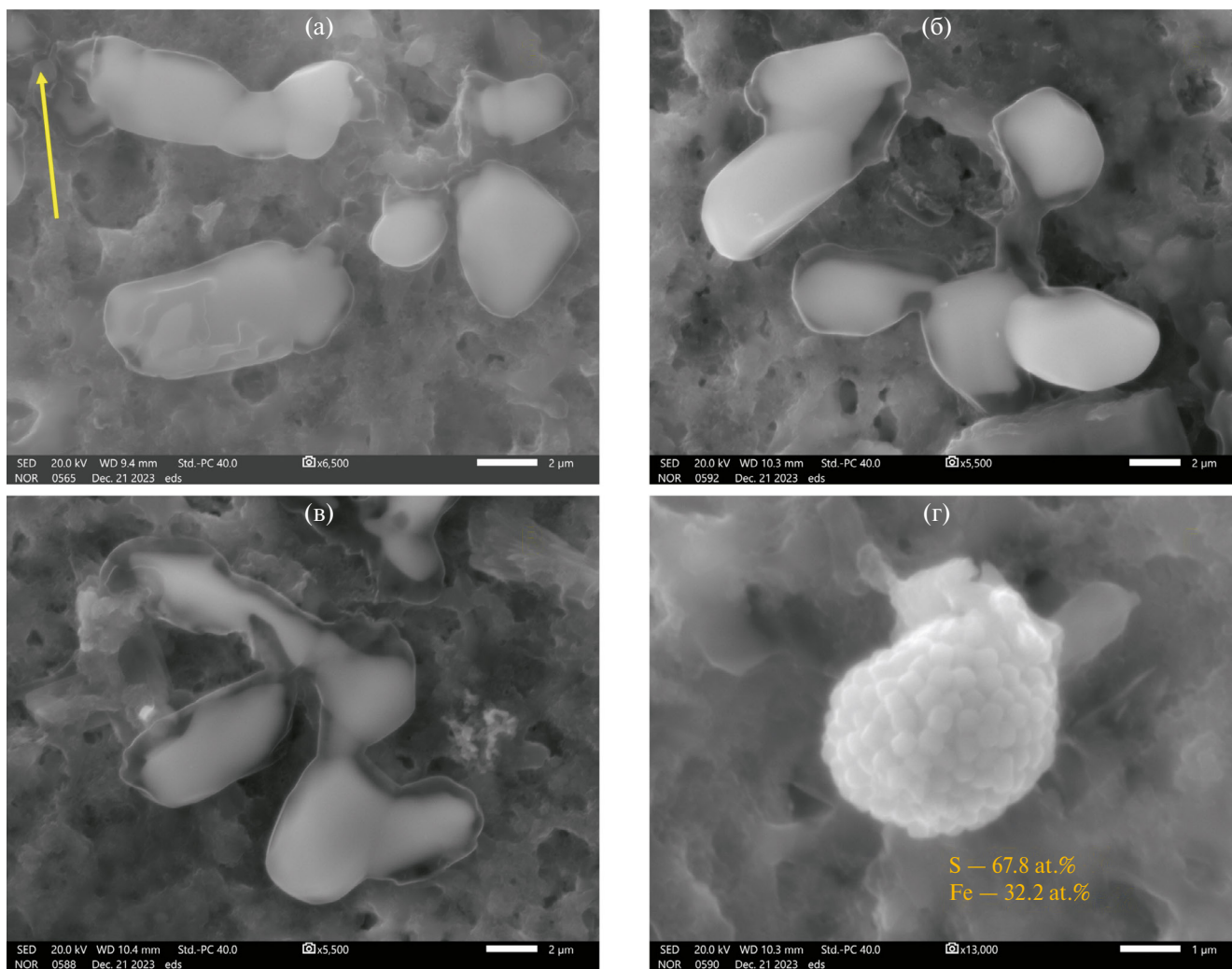
Величины  $\delta^{34}\text{S}$  составили в среднем для двух отдельных проб  $-36.8 \pm 0.2\text{‰}$  для горизонта 260 м и  $-36.2 \pm 0.2\text{‰}$  для горизонта 250 м. Для сравнения и в качестве рабочего стандарта лаборатории использовался сульфид, полученный на этой станции с глубины 320 м в 2015 году, величина  $\delta^{34}\text{S}$  которого по данным 5 измерений была равна  $-40.8 \pm 0.4\text{‰}$ . Необходимо отметить, что изотопный состав серы сульфида на глубинах 200–300 м метров варьирует в небольших пределах от  $-40.2\text{‰}$  до  $-40.7\text{‰}$  [4]. С учетом полученных данных по изотопному составу серы сульфида ( $-40.8\text{‰}$ ) фракционирование изотопов серы

между сульфидом и элементарной серой составило  $+4.0 - +4.6\text{‰}$ . Это близко к изотопным эффектам, полученным в экспериментах для фототрофных бактерий [16], и близко к наблюдаемым в работах [14, 25] для мезомиктических озер.

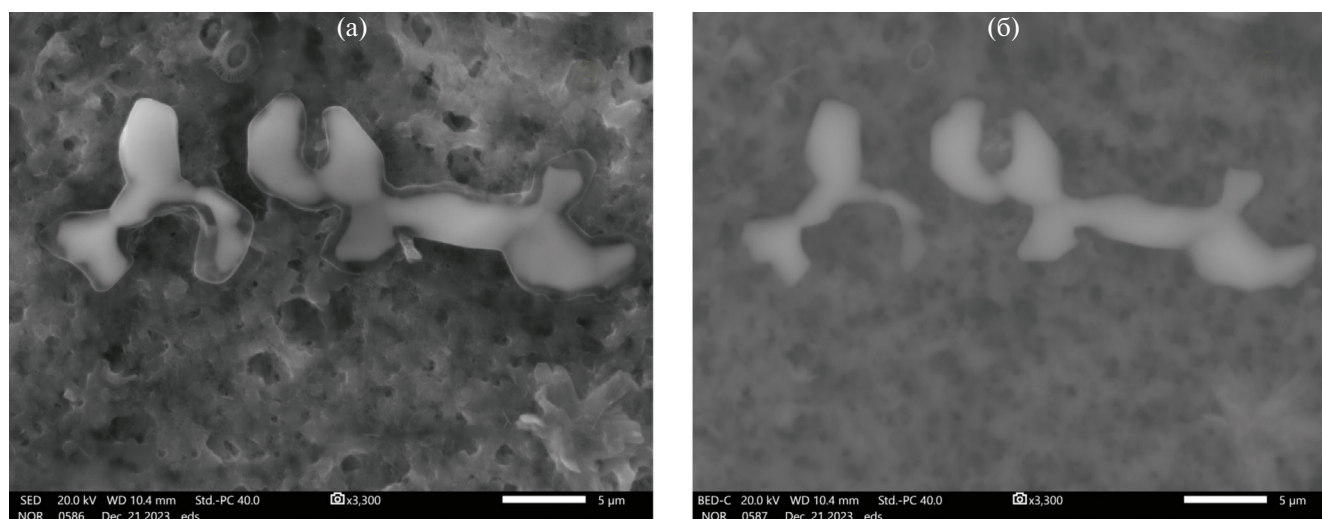
Морфология выделений элементарной серы была рассмотрена при изучении фильтра образца с горизонта 250 м станции Ашамба29 методом SEM-EDX. Сера встречается в виде двух форм – элементарной серы в капсулах из органического вещества и в виде фрамбоидального пирита (рис. 3–5). Пирит не был связан с органическим веществом (рис. 4г). Элементарная сера при небольшом увеличении представляла собой скопления, которые могли быть сформированы отдельными цепочками или скоплениями палочковидных клеток бактерий, разрушенными частично в процессе фильтрования (рис. 3а и б). Размер отдельных клеток составляет примерно  $2.5 \times 1$  мкм (рис. 4а-в), что очень близко по размерам к зеленым серным бактериям BS-1, которые в среднем имеют длину  $2.8 \pm 1.2$  мкм и ширину  $0.65 \pm 0.1$  мкм [19]. Вследствие процедуры фильтрования, цепочки или скопления клеток сохранились лишь частично. Устойчивость липидных оболочек бактерий к механическому воздействию повышали



**Рис. 3.** Желтыми овалами на микрофотографии, полученной методом SEM-EDX, показаны очаговые скопления элементарной серы на фильтре горизонта 250 м станции Ашамба29 (а), и отдельное скопление серы при большом увеличении (б). Сера представлена фрагментами в капсулах из органического вещества, предположительно представляющих оболочки клеток бактерий. В поле зрения попал одиночный кокколитофорид *Emiliana huxleyi* рядом с обломком растительного происхождения.



**Рис. 4.** Морфология выделений элементарной серы внутри оболочек из органического вещества (а-в) и пирита (г) на горизонте 250 м станции Ашамба29. Стрелкой показано на рис. 4а место соединения двух клеток бактерий.

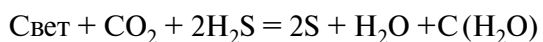


**Рис. 5.** Элементарная сера в бактериальных клетках в виде ветвящихся цепочек (а) и в отраженных электронах характеристического излучения серы (б).

добавлением во время отбора проб 1.25% раствора глутаральдегида, который действовал как сшивающий липиды агент. На рис. 4 и 5 хорошо видно, что элементарная сера заполняет внутреннее клеточное пространство и, по-видимому, является результатом бактериального окисления сульфидов. Накопление элементарной серы внутри клеток характерно для пурпурных серных бактерий, которые в меньшей степени чем зеленые серные бактерии чувствительны к свету [17].

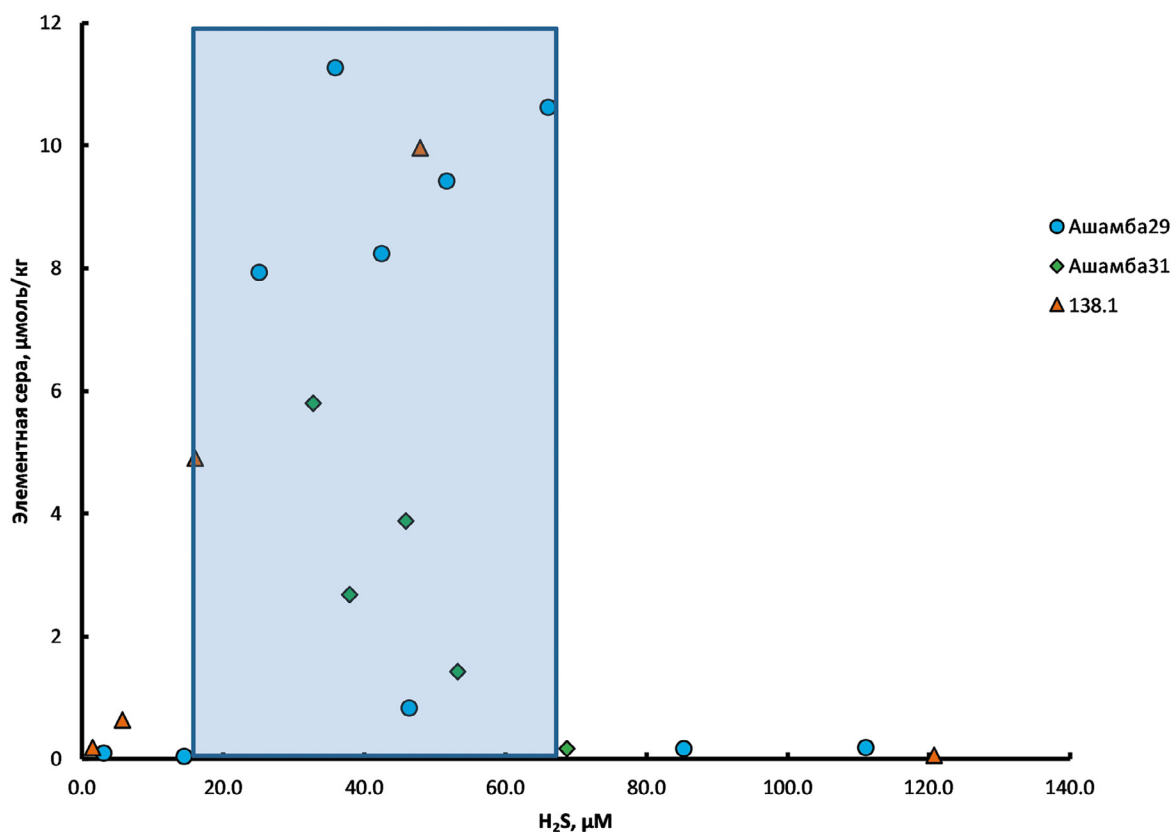
### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Различия в количестве определяемой элементарной серы в пробах с суспензией  $Zn_2(OH)_2CO_3$  и без нее зависят от наличия сероводорода в пробе. При добавлении суспензии  $Zn_2(OH)_2CO_3$  сероводород переводится в осадок в виде  $ZnS$  вместе с элементарной серой, в том числе с той, которая связана с полисульфидами. В этом случае количество элементарной серы (форма ZVS) соответствует ее природной концентрации на определенных горизонтах (рис. 1). При отсутствии суспензии сероводород в растворе доступен в качестве донора электронов для фотосинтетических бактерий. Бактериальная активность в морской воде глубоких горизонтов (230–300 м), куда практически не проникает свет [20], может быть вызвана наличием светочувствительных бактерий в пробах после их отбора. Наличие света выступает триггером бактериального процесса окисления сероводорода. Светочувствительностью обладают фотоавтотрофные бактерии, которые производят элементарную серу по реакции:



О бактериальном происхождении элементарной серы свидетельствуют ее концентрация на фоновом уровне при добавлении ингибитора бактериальной деятельности 2.5% раствора глутаральдегида и формы ее выделений на фильтре (рис. 3–5). Различия в освещенности (отбор в полдень и вечером) при сохранении постоянными всех остальных параметров процедуры подготовки проб показывает, что количество элементарной серы при этом меняется. В вечернее время элементарной серы заметно меньше (примерно в 2 раза) для тех же горизонтов отбора (станция Ашамба31), исходя из их условной плотности (табл. 1 и 2).

Активизация фотоавтотрофных бактерий в пробах после отбора, которую можно проследить по появлению элементарной серы, проходит в верхней части анаэробной зоны до глубины 300 м или условной плотности  $16.75 \text{ кг/м}^3$  до концентрации сероводорода порядка  $66 \text{ мкМ}$ . Это характерно для всех трех станций вне зависимости от их местоположения и времени отбора проб (лето или осень) (рис. 6). Максимум элементарной серы находится в воде с плотностью  $16.43\text{--}16.75 \text{ кг/м}^3$  (глубина 180–300 м) при концентрациях сероводорода от 14 до  $66 \text{ мкМ}$ , где обычно встречается повышенное содержание взвешенного органического углерода и высокое количество бактериопланктона [22, 23]. В самой верхней части анаэробной зоны в воде с условной плотностью  $16.20\text{--}16.43 \text{ кг/м}^3$  концентрация элементарной серы составляет не больше  $1 \text{ мкмоль/кг}$  [3]. Продукция элементарной серы на горизонтах с ее максимальным содержанием составила порядка  $9 \text{ мкмоль/кг}$  за сутки (для



**Рис. 6.** Вариации концентрации взвешенной элементарной серы (размер частиц  $>0.45$  мкм) относительно сульфидной в анаэробной зоне Черного моря на станциях Ашамба29, Ашамба31 и 138.1 [3]. Синим цветом выделен интервал концентраций  $H_2S$ , при котором наблюдается фотосинтетический рост концентраций элементарной серы.

горизонта 300 м станции Ашамба29 время инкубации пробы до фильтрования составило 28 часов), что в 2.5 раза выше максимального результата по окислению сульфида на редокс интерфейсе на основе скорости фиксации  $CO_2$  [13]. Это свидетельствует о высоком потенциале бактериального окисления сульфида на глубине 200–300 м на периферии Черного моря.

Изотопный состав элементарной серы на горизонтах 250 и 260 м станции Ашамба29 оказался на 4.6 и 4.0‰ тяжелее, чем у серы сульфида на горизонтах с такой же условной плотностью. Элементарная сера, обогащенная 34 изотопом относительно сульфида, характерна для продуктов метаболизма фотоавтотрофных бактерий [9, 16, 24], которые были исследованы в лабораторных экспериментах. В природной среде изотопный состав элементарной серы известен на границе анаэробной зоны озера Fayetteville Green Lake и Rogoznica [14, 25]. В обоих описанных случаях изотопный состав элементарной серы был на 6.8‰ и 4.8‰ тяжелее, чем серы сульфида. Эти данные получены в изученных озерах при естественной освещенности в пределах фотической зоны. Глубина редокс зоны была небольшой, соответственно 20 и 9 м,

и аноксигенное окисление сульфида могло происходить за счет деятельности фотоавтотрофных бактерий. В Черном море в прибрежной зоне на глубине выявленной нами светочувствительности воды существование фотоавтотрофных бактерий представляется крайне маловероятным событием. Исследование поведения фотоавтотрофных бактерий *Chlorobium* BS-1 показало, что в прибрежных районах они находятся в неактивном состоянии [20].

Активизация деятельности фотоавтотрофных бактерий происходит под воздействием света на борту судна в пробах воды в строго анаэробных условиях без добавления ингибирующих добавок. Добавка ингибиторов в виде суспензии основного карбоната цинка и 2.5% раствора глутаральдегида приводит к отсутствию роста концентраций метаболита – элементарной серы. Фотоавтотрофная продукция органического вещества в Черном море ограничена в основном верхними 55 м водной толщи [15]. Гетеротрофная продукция примерно равна хемоавтотрофной до глубины 95 м в центре моря. Фиксация углекислоты фотосинтетическими бактериями в процессах аноксигенного окисления сероводорода вследствие низкой освещен-



ности в Черном море признана незначительной [13, 15]. Авторы работы [19] полагают, что доля зеленых серных бактерий в окислении сероводорода в пределах хемоклина в Черном море не превышает 0.1%. В сульфидной зоне биомасса бактерий окислителей сульфида по данным [15] может достигать 5–10%. В работе [23] приводится схема вертикального распределения бактериального сообщества, исходя из распределения биомаркеров в морской воде. Бактерии доминируют над археями во всей водной толще Черного моря. В верхней части анаэробной зоны, там, где нами выявлены повышенные количества элементной серы, ожидаемо обнаружены бактерии и археи хемоавтотрофы, восстанавливающие железо и марганец, окисляющие сульфид и метан. Бактерии сульфат редуторы обнаружены во всей толще анаэробных вод. Присутствие аноксигенных зеленых серных фотосинтезирующих бактерий основывается на распределении в водной толще пигментов BSC1e (бактерихлорофилл e) и каротиноидов. В центре моря их концентрация максимальна на глубине 100 м [11, 19]. О более глубоком расположении фотосинтетических бактерий в Черном море ничего не известно. Исходя из наших данных, нет оснований считать, что на периферии бассейна в пределах континентального склона фотосинтетические бактерии физиологически не активны. Нам представляется маловероятным, что высокая светочувствительность вод Черного моря на глубинах 180–300 м на периферии бассейна может быть вызвана неактивными фотосинтетическими бактериями и их небольшим количеством.

Измерение освещенности вод Черного моря показало, что зеленые серные бактерии *Chlorobium* BS-1 могут фиксировать углерод только при освещенности  $0.015\text{--}0.055 \mu\text{моль Quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$  [20]. Относясь к облигатным анаэробам, зеленые фотосинтезирующие бактерии могут окислять сероводород только в центре моря, где анаэробная зона находится ближе всего к поверхности воды. Мы обнаружили продукты метаболизма фотосинтезирующих бактерий — элементную серу — на гораздо большей глубине (до 300 м), где освещенность абсолютно недостаточная для фотосинтеза. Однако в строго анаэробных условиях отбора проб при освещении проб на борту судна в них появляется элементная сера. Причина появления — фотосинтетические бактерии, для которых нужен свет,  $\text{CO}_2$  и сероводород. Можно предположить, что потенциально способные к фотосинтезу бактерии присутствуют в определенном количестве на глубине до 300 м. Поскольку время между облучением проб и их фильтрованием на

станции Ашамба29 мы контролировали, то можем оценить скорость образования элементной серы. Максимальная скорость образования серы составила 9 мкМ в сутки на станции Ашамба29 летом 2023 года. Такой скорости появления серы соответствует потребление порядка 4.5 мкМ углерода, исходя из реакции фотосинтеза, или 54 мг углерода на  $\text{м}^2$  в сутки. Такая продуктивность гораздо выше той, которая наблюдалась в хемоклине Черного моря для зеленых сероокисляющих бактерий, и близка к таковой для целого ряда мезомикробических озер [19]. Она всего в 10 раз меньше продуктивности фитопланктона ( $575 \text{ мг м}^{-2}$  в сутки) в центре моря по данным работы [15].

Морфология обнаруженных клеток бактерий сходна с коричнево-окрашенными фотосинтезирующими организмами, описанными в работе [11]. Они близки по морфологии к виду *Chl. Phaeovibrioides* и представлены прямыми или слегка изогнутыми палочками, которые формируют короткие цепи, часто изогнутые и раздвоенные. Но накопление серы у них происходит не снаружи клеток, а внутри, что характерно для пурпурных серных бактерий [24]. Поскольку мы обнаруживаем светочувствительность вод Черного моря по распределению элементной серы, то вполне возможно, что при низких содержаниях сероводорода в верхней части анаэробной толщи (рис. 6) аноксигенное окисление сероводорода в условиях дефицита сульфида идет до сульфата. Например, на станции Ашамба29 существенный рост концентраций серы происходит на горизонте, где концентрация сероводорода достигла 25 мкМ (рис. 1 и 6). На станции 138.1 рост количества элементной серы произошел при концентрации сероводорода 16.1 мкМ (рис. 6). Таким образом, лимитирующим фактором образования элементной серы может быть, помимо освещенности, концентрация сероводорода. Известно, что при дефиците сероводорода аноксигенное окисление его бактериями проходит до сульфата без накопления элементной серы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Появление элементной серы в воде проб, отобранных на глубинах 180–300 м в анаэробной зоне Черного моря, связано с аноксигенным окислением сероводорода фотоавтотрофными микроорганизмами. Бактериальная природа серы подтверждена результатами экспериментов с ингибированием бактериальной деятельности 2.5% глутаральдегидом. Удаление сероводорода из раствора морской воды в виде сульфида цинка

также препятствует появлению элементной серы. Скорость окисления сероводорода зависит от освещенности и достигает 9 мкмоль/кг в сутки летом и 5 мкмоль/кг в сутки в вечернее время осенью. Такая высокая скорость может быть обусловлена значительной популяцией микроорганизмов. Появление максимума серы совпадает по глубине и плотности с повышенным количеством взвешенного органического углерода и максимальным числом микроорганизмов в верхней части анаэробной зоны. Бактериальное происхождение серы в воде с плотностью 16.43–16.75 выявлено на трех станциях периферии Черного моря на кавказском и крымском побережьях. Исходя из наблюдений методом SEM-EDX, бактерии имеют палочкообразную форму размером  $2.5 \times 1$  мкм и соединены в часто ветвящиеся цепочки. Элементная сера накапливается внутри клеток, что сходно с накоплением серы внутри пурпурных серных бактерий. Продуцируемая сера имеет изотопный состав тяжелее исходного сульфида на 4.0–4.6‰, что близко к наблюдаемому изотопному составу серы в фотической зоне меромиктических озер, где появление серы связано с деятельностью фотоавтотрофных бактерий. Высокая скорость окисления сероводорода фотоавтотрофными микроорганизмами может служить серьезным препятствием для подъема сероводородных вод в фотической слой Черного моря.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-27-00355, <https://rscf.ru/project/23-27-00355/>

**Конфликт интересов.** Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дубинин А.В., Демидова Т.П., Кременецкий В.В. и др. Определение восстановленных форм серы в анаэробной зоне Черного моря: сравнение методов спектрофотометрии и иодометрии // *Океанология*. 2012. Т. 52. № 2. С. 200–209.
2. Дубинин А.В., Демидова Т.П., Римская-Корсакова М.Н. и др. Определение восстановленных форм серы в воде анаэробных бассейнов // *Морской гидрофизический журнал*. 2019. Т. 35. № 1. С. 37–51. <https://doi.org/10.22449/0233-7584-2019-1-37-51>
3. Дубинин А.В., Демидова Т.П., Семилова Л.С. и др. Элементная сера и ее изотопный состав в воде Черного моря // *Доклады РАН. Науки о Земле*. 2023. Т. 511. № 1. С. 24–30. <https://doi.org/10.31857/S2686739723600480>
4. Дубинин А.В., Дубинина Е.О., Демидова Т.П. и др. Изотопы серы в верхней части анаэробной зоны Черного моря // *Океанология*. 2017. Т. 57. № 6. С. 885–893. <https://doi.org/10.7868/S0030157417060041>
5. Якушев Е.В., Виноградова Е.Л., Дубинин А.В. и др. Об определении низких концентраций кислорода методом Винклера // *Океанология*. 2012. № 1. С. 131–138.
6. Canfield D.E. Biogeochemistry of sulfur isotopes // In: *Stable isotope geochemistry. Reviews in mineralogy and geochemistry*. 2001. V.43. P. 607–636.
7. Dubinin A.V., Demidova T.P., Ocherednik O.A. et al. Distribution and Variations of Elemental Sulfur in the Upper Part of the Black Sea Anoxic Water Column // *Oceanology*. 2024. V. 64. No. 2. P. 250–259. <https://doi.org/10.1134/S0001437024020048>
8. Dubinin A.V., Dubinina E.O., Demidova T.P. et al. Stable isotope evidence for the Bottom Convective Layer homogeneity in the Black Sea. *Geochemical Transactions*. 2014. 15:3. <https://doi.org/10.1186/1467-4866-15-3>
9. Fry B., Gest H., Hayes J.M.  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  fractionation in sulfur cycles catalyzed by anaerobic bacteria // *Applied and Environmental Microbiology*. 1988a. P. 250–256.
10. Fry B., Ruf W., Gest H. et al. Sulfur isotope effects associated with oxidation of sulfide by  $\text{O}_2$  in aqueous solution // *Chem. Geol.* 1988b. 73. P. 205–210.
11. Gorlenko V.V., Mikheev P.V., Rusanov I.I. et al. Ecophysiological properties of photosynthetic bacteria from the Black Sea chemocline zone // *Microbiology*. 2005. V.74. № 7. P. 239–247.
12. Henkel J.V., Dellwig O., Pollehne F. et al. A bacterial isolate from the Black Sea oxidizes sulfide with manganese (IV) oxide // *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 2019. V.116. № 25. P. 12153–12155.
13. Jørgensen B.B., Fossing H., Wirsén C.O. et al. Sulfide oxidation in the anoxic Black Sea chemocline // *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers, Black Sea Oceanography: Results from the 1988 Black Sea Expedition*. 1991. V.38. P.S1083–S1103. [https://doi.org/10.1016/S0198-0149\(10\)80025-1](https://doi.org/10.1016/S0198-0149(10)80025-1)
14. Kamyshny Jr A., Zerkle A.L., Mansaray Z.F. et al. Biogeochemical sulfur cycling in the water column of a shallow stratified sea-water lake: Speciation and quadruple sulfur isotope composition // *Marine Chemistry*. 2011. 127. P. 144–154.
15. Karl D.M., Knauer G.A. Microbial production and particle flux in the upper 350 m of the Black Sea. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers, Black Sea Oceanography: Results from the 1988 Black Sea Expedition*. 1991. V. 38. P. S921–S942. [https://doi.org/10.1016/S0198-0149\(10\)80017-2](https://doi.org/10.1016/S0198-0149(10)80017-2)
16. Kelly D. Stable sulfur isotope fractionation by the Green Bacterium *Clorobaculum parvum* during photolithoautotrophic growth on sulfide // *Polish Journal of Microbiology*. 2008. V.57. № 4. P. 275–279.
17. Kleinjan W.E., de Keizer A., Janssen A.J.H. Biologi-

- cally produced sulfur // *Top Curr. Chem.* 2003. V.230. P. 167–188.  
<https://doi.org/10.1007/b12114>
18. *Konovalov S.K., Luther G.I.W., Friederich G.E. et al.* Lateral injection of oxygen with the Bosphorus plume – fingers of oxidizing potential in the Black Sea // *Limnology and Oceanography*. 2003. V.48. P. 2369–2376. <https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.6.2369>
  19. *Manske A.K., Glaeser J., Kuypers M.M.M. et al.* Physiology and Phylogeny of Green Sulfur Bacteria Forming a Monospecific Phototrophic Assemblage at a Depth of 100 Meters in the Black Sea // *Applied And Environmental Microbiology*. 2005. V. 71. № 12. P. 8049–8060.
  20. *Marschall E., Jogler M., Henßge U. et al.* Large-scale distribution and activity patterns of an extremely low-light-adapted population of green sulfur bacteria in the Black Sea // *Environmental microbiology*. 2010. V.12. № 5. P. 1348–1362.
  21. *Milucka J., Ferdelman T.G., Polerecky L. et al.* Zero-valent sulphur is a key intermediate in marine methane oxidation // *Nature*. 2012. V.491. P. 541–546.
  22. *Pimenov N.V., Neretin L.N.* Composition and activities of microbial communities involved in carbon, sulfur, nitrogen and manganese cycling in the oxic/anoxic interface of the Black Sea // In: *Past and Present Water Column Anoxia*. Dordrecht: Springer, 2006. P. 501–521. (NATO Science Series: IV: Earth and Environmental Sciences; vol. 64).  
[https://doi.org/10.1007/1-4020-4297-3\\_19](https://doi.org/10.1007/1-4020-4297-3_19)
  23. *Wakeham S.G., Amann R., Freeman K.H. et al.* Microbial ecology of the stratified water column of the Black Sea as revealed by a comprehensive biomarker study // *Org. Geochem.* 2007. V.38. P. 2070–2097. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2007.08.003>.
  24. *Zerkle A.L., Farquar J., Johnston D.T. et al.* Fractionation of multiple sulfur isotopes during phototrophic oxidation of sulfide and elemental sulfur by a green sulfur bacterium // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2009. V.73. P. 291–306.
  25. *Zerkle A.L., Kamyshny Jr.A., Kump L.R. et al.* Sulfur cycling in a stratified euxinic lake with moderately high sulfate: Constraints from quadruple S isotopes // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2010. V. 74. P. 4953–4970.
  26. *Zopfi J., Ferdelman T.G., Fossing H.* Distribution and fate of sulfur intermediates – sulfite, tetrathionate, thiosulfate, and elemental sulfur – in marine sediments // In: *Amend J.P. et al. (Eds.). Sulfur biogeochemistry – Past and present*. Geological Society of America Special Paper. Boulder, Colorado, 2004. V.379. P. 97–116.

## LIGHT STIMULATION OF SULFIDE OXIDATION IN THE BLACK SEA ANOXIC WATER COLUMN

**A. V. Dubinin<sup>1</sup>, M. N. Rimskaya-Korsakova<sup>1</sup>, E. O. Dubinina<sup>2</sup>, T. P. Demidova<sup>1</sup>,  
L. S. Semilova<sup>1</sup>, E. D. Berezhnaya<sup>1</sup>, E.N. Zologina<sup>1</sup>, O. A. Ocherednik<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Shirshov Institute of Oceanology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Geology of Ore Deposits, Petrography, Mineralogy, and Geochemistry,  
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Southern Branch of the Shirshov Institute of Oceanology, Russian Academy of Sciences, Gelendzhik, Russia*

Elemental sulfur is a common product of hydrogen sulfide oxidation in the photic zone of meromictic water bodies, due to the anoxygenic oxidation of hydrogen sulfide by photosynthetic bacteria. The photic zone in the Black Sea is limited to 50–60 m, which is much higher than the upper limit of the redox interface, which is at a depth of 90–100 m in the center of the sea. In the peripheral areas of the Black sea, the depth of the redox interface reaches 150–170 m, where, as expected, photoautotrophic bacteria are rare and in an inactive state. A study of the distribution of elemental sulfur in the anoxic zone of the Black Sea showed that waters from depths of 180–300 m are light sensitive. This leads to a sharp increase in sulfur concentrations up to 11.3  $\mu\text{mol/kg}$  with background values of 0.15–0.18  $\mu\text{mol/kg}$  under strictly anaerobic conditions. It was found that such a significant increase in elemental sulfur is associated with the activity of photoautotrophic bacteria. The conditions for the existence of photoautotrophic bacteria at depths of 180–300 m in the Black Sea in the absence of light remain unclear.

**Keywords:** elemental sulfur, photoautotrophic bacteria, anoxygenic oxidation of hydrogen sulfide, Black Sea