

Применение 16S рРНК-метабаркодинга для оценки разнообразия фосфат-резистентных альго-бактериальных сообществ в окрестностях г. Апатиты

Научный руководитель – Лобакова Елена Сергеевна

Осипова А.А.¹, Кублановская А.А.², Зайцев П.А.³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, *E-mail: axinartomi4@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, *E-mail: annakublanovskaya@gmail.com*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия, *E-mail: zaitsev@mail.bio.msu.ru*

ДНК - метабаркодинг на основе гена 16S рРНК, как правило, используется для идентификации прокариот в составе микробных сообществ. Однако библиотеки фрагментов прокариотического гена 16S рРНК на этапе ПЦР в результате недостаточной специфичности праймеров зачастую содержат последовательности фрагментов 16S рРНК эукариотических органелл, что позволяет также оценить и состав эукариотических организмов в пробах [1]. Были изучены альго-бактериальные сообщества, изолированные в окрестностях г. Апатиты из водоемов с повышенным содержанием фосфатов в воде вблизи апатит-нефелиновой открытой фабрики (АНОФ-2). Предыдущие исследования состава данных сообществ методом 16S-метабаркодинга выявили их основные прокариотические компоненты (коровый микробиом сообществ).

Целью данной работы было проведение оценки состава эукариотических фототрофов в составе данных альго-бактериальных сообществ на основе тех же библиотек фрагмента гена *16S рРНК*, полученных методом высокопроизводительного секвенирования.

Сбор образцов фосфат-резистентных микробных сообществ эвтрофицированных был проведен в июле 2018 г. Для исследования эукариотического фототрофного компонента (микроводорослей) сообществ применяли методы светлопольной микроскопии и метода *16S рРНК* - метабаркодинга на основе гипервариабельного V4 фрагмента данного гена на платформе Illumina. Первичную биоинформатическую обработку результатов анализа проводили в программе QIIME. Операционные таксономические единицы (OTE) были получены с помощью программы USEARCH v 10.0.240 с последующим ручным поиском гомологичных последовательностей в базе NCBI GenBank с помощью алгоритма BLAST.

Микроскопический анализ проб постоянных водоемов показал наличие флокул и фрагментов биопленок, содержащих клетки и трихомы оксигенных фототрофных микроорганизмов (микроводорослей и цианобактерий), погруженных во внеклеточный полимерный матрикс. Были выявлены представители зеленых (сем. Scenedesmeaceae, Chlorellaceae), эвгленовых и диатомовых микроводорослей, а также различные группы цианобактерий. В пробе временного водоема «лужа» оксигенные фототрофные микроорганизмы не были обнаружены. Данные анализа на основе библиотек *16S рРНК* во многом совпали с данными микроскопирования. Однако были выявлены представители дополнительных семейств, не обнаруженные при микроскопировании: Sossomuxaceae, Trebouxiaceae, Koliellaceae и Ulotrichaceae.

Метод анализа состава фототрофных эукариот на основе фрагментов гена *16S рРНК* хлоропластной ДНК позволяет выявить значительно большее разнообразие микроводорослей в образце (минорные компоненты), нежели морфологический анализ, определить некоторые таксономические единицы до рода. Однако, так же, как и морфологический метод, не позволяет оценить количественное соотношение. Тем не менее, в совокупности

методы морфологического анализа и анализа на основе библиотек *16S рРНК* достаточно полно описывают состав эукариотического фототрофного компонента анализируемых сообществ.

Источники и литература

- 1) Chekanov K., Kublanovskaya A., Lobakova E. Eukaryotic Sequences in the 16SrRNA Metagenomic Dataset of Algal–bacterial Consortia of the White Sea Coastal Zone // The Journal of Eukaryotic Microbiology. 2019. V. 66. No. 5. P. 853-856.