

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-78

**МЕТАГЕНОМНЫЙ МАЙНИНГ КАК ИНСТРУМЕНТ БИОРАЗВЕДКИ
МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ АНТРОПОГЕННО НАРУШЕННЫХ ЭКОТОПОВ*****METAGENOME MINING INSTRUMENTAL FOR BIOPROSPECTING
MICROBIAL COMMUNITIES FROM ANTHROPOGENICALLY DISTURBED ECOTOPES**

П. А. Зайцев, А. А. Зайцева, Б. М. Шурыгин, Г. А. Дольникова, С. Г. Васильева, Е. С. Лобакова, А. Е. Соловченко

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

P. A. Zaytsev, A. A. Zaytseva, B. M. Shurygin, G. A. Dolnikova, S. G. Vasilieva, E. S. Lobakova, A. E. Solovchenko

Lomonosov Moscow State University

✉ zaytsevpa@my.msu.ru

Аннотация

Эвтрофицированные фосфором экотопы — водоемы, расположенные вблизи апатит-нефелиновых месторождений, потенциальные источники альго-бактериальных сообществ с высокой толерантностью к экзогенному фосфату и способностью к его биоаккумуляции. Функциональная метагеномика и высокопроизводительное фенотипирование — инструмент для поиска целевых штаммов, создания искусственных сообществ и мониторинга их эффективности в процессах очистки сточных вод.

Abstract

Phosphorus-polluted areas such as ponds located in the vicinity of the Apatite-Nepheline mine “ANOF-2” may harbour algal-bacterial communities tolerant to exogenous phosphate and highly capable of its biocapture. The combination of functional metagenomics with high-throughput phenotyping is instrumental for bioprospecting of microbial strains suitable for artificial consortia design and for the monitoring of their performance in wastewater treatment.

Изучение формирования альго-бактериальных сообществ в условиях повышенного содержания в среде микрополлютантов, таких как неорганический фосфат, тяжелые металлы и микропластик, является ключом к пониманию механизмов устойчивости водных экосистем. Подобные сообщества также могут служить источниками штаммов — биоаккумуляторов химических элементов и/или ассоциаций микроорганизмов с подобными свойствами — основы перспективных биоинженерных технологий для очистки от них муниципальных и промышленных стоков. Районы разработки полезных ископаемых, таких как апатит-нефелиновые руды или уголь, создают условия для формирования в окрестных водоемах искомым альго-бактериальных сообществ. Анализ данных систем значительно упрощается в последнее время за счет применения методов метагеномики и фенотипирования оксигенных фототрофных микроорганизмов.

В 2023–2024 годах были собраны образцы альго-бактериальных сообществ из экотопов с высокой антропогенной нагрузкой: 1) природные водоемы и отстойники вблизи открытого апатит-нефелинового карьера и обогатительной фабрики (АНОФ-2) (окрестности г. Апатиты; 67°34'03"N, 33°23'36"E); 2) отстойники вблизи открытого угольного разреза «Моховский» (Кемеровская область; 54°35'54"N, 86°20'37"E); 3) водно-болотные угодья вблизи полигона твердых бытовых отходов (о. Большой Соловецкий; 65°01'08"N, 35°43'53"E). Проведено выделение тотальной ДНК из собранных образцов и секвенирование ампликонов фрагмента V4 гена *16S rRNA* и фрагмента ITS2 гена *18S rRNA* по методу ДНК-метабаркодирования на платформе Illumina с последующим таксономическим анализом данных в программе QIIME2 и функциональным анализом по алгоритму PICRUSt2. Из этих же образцов выделяли монокультуры оксигенных фототрофных микроорганизмов (ОФМ) и чистые культуры бактерий на соответствующих селективных средах, которые затем дополнительно идентифицировались с помощью методов молекулярной филогенетики. Полученные культуры отбирали для создания искусственных альго-бактериальных сообществ для очистки сточных вод от модельного микрополлютанта — избытка неорганического фосфора. Отбор проводили в формате высокопроизводительного скрининга на предмет стабильности фотосинтетического аппарата (метод РАМ-флуориметрии), аккумуляции внутриклеточных резервов фосфора (цитохимическое окрашивание DAPI), а также по степени биоизъятия фосфата из среды (хромогенный тест с молибденовым синим). Перспективные сообщества испытывали в модельном каскадном фотобиореакторе для очистки реальных муниципальных сточных вод.

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-44-00006).

© П. А. Зайцев, А. А. Зайцева, Б. М. Шурыгин, Г. А. Дольникова, С. Г. Васильева, Е. С. Лобакова, А. Е. Соловченко, 2025

Большинство проанализированных образцов содержали чтения ОФМ (эукариотических представителей отделов *Chlorophyta*, а также одноклеточных и трихомных представителей класса *Cyanophyceae*) и гетеротрофных бактерий с доминированием филумов *Proteobacteria*, *Firmicutes* и *Actinobacteria*. Примечательно, что максимальное биоразнообразие установлено для сообществ постоянных природных водоемов, минимальное — в сообществах временных искусственных водоемов. Среди эукариотических организмов были обнаружены такие представители отдела *Chlorophyta*, как pp. *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Micractinium*, *Chlorococcum*, а также представители класса *Cyanophyceae* из pp. *Nostoc*, *Anabaena*, *Leptolyngbya* и *Cyanobium*. С помощью микробиологических методов получен ряд монокультур эукариотических микроводорослей, цианобактерий и бактерий. В частности, из образцов сообществ водоемов окрестностей АНОФ-2 были выделены культуры *Micractinium simplicissimum*, *Chlamydomonas applanata*, *Desmodesmus armatus*, *Micractinium inermum*, *Cylindrospermum* sp. и *Nodosilinea* sp. Среди бактерий были выявлены представители pp. *Stenotrophomonas*, *Rhizobium*, *Devosia*, *Microbacterium*, *Rhodococcus* и *Brevundimonas* — известные своей способностью вступать во взаимовыгодные отношения с микроводорослями и цианобактериями, а также толерантностью к высокой концентрации экзогенного фосфата. Высокопроизводительное фенотипирование выявило, что эукариотические микроводоросли из р. *Micractinium* обладают повышенной толерантностью к избытку экзогенного фосфора, что особенно выражено в ассоциации с цианобактерией из р. *Nodosilinea*. Было показано, что альго-бактериальное сообщество на основе микроводорослей из р. *Micractinium* стабильно осуществляло биоизъятие неорганического фосфора из муниципальных сточных вод в течение 4 циклов продолжительностью 7 суток каждый.