

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

**Бадмадашиев
Доржи Владимирович**

**Разнообразие и экология анаэробных прокариот в осадках
Кандалакшского залива Белого моря**

1.5.11. Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2025

Диссертация подготовлена на кафедре микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

- | | | |
|------------------------------|---|---|
| Научный руководитель | – | Бонч-Осмоловская Елизавета Александровна , доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН |
| Официальные оппоненты | – | Щербакова Виктория Артуровна , доктор биологических наук, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, лаборатория анаэробных микроорганизмов, и.о. главного научного сотрудника |
| | | Манучарова Наталия Александровна , доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет почвоведения, кафедра биологии почв, профессор |
| | | Бархутова Дарима Дондоковна , кандидат биологических наук, ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, лаборатория микробиологии, заведующая лабораторией |

Защита диссертации состоится «09» декабря 2025 года в 15 ч 30 мин на заседании диссертационного совета МГУ.015.2 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234, Москва, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 12, биологический факультет, аудитория М-1.

E-mail: nvkostina@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3642>

Автореферат разослан «07» ноября 2025 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Н.В. Костина

Общая характеристика работы

Актуальность работы

Морские донные отложения являются одним из крупнейших природных репозиториях органического вещества, поступающего как из продуктивных фотических слоев морей и океанов, так и с материков вместе с речными стоками и ветром. По имеющимся оценкам, запасы органического углерода разной степени устойчивости к разложению только в первом кубическом метре осадка в мировом океане составляют до 2391 Пг (Atwood et al., 2020). Также донные отложения характеризуются высокой гетерогенностью условий (доступность органического вещества, выходы флюидов газов, окислительно-восстановительный потенциал, доступность акцепторов электронов), что приводит к формированию различных по таксономическому составу и метаболическому потенциалу сообществ микроорганизмов. Также эти факторы обуславливают высокое разнообразие и численность прокариот в морских отложениях: их биомасса по существующим оценкам составляет до 3.6 % от биомассы всей планеты (Kallmeyer et al., 2012; Parkes et al., 2014).

В морских донных осадках органическое вещество разлагается как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Однако, концентрация кислорода резко снижается уже в пределах первых сантиметров толщины осадка (Jørgensen, Boetius, 2007), что создает благоприятные условия для обитания там анаэробных микроорганизмов. Развитие методов высокопроизводительного секвенирования и биоинформатического анализа существенно расширило возможности изучения таксономического состава прокариотных сообществ и оценки их метаболического потенциала. Тем не менее, для многих таксонов, включая широко распространенные и численно доминирующие группы, сведения об их физиологии и экологии остаются фрагментарными. Особенно это касается микроорганизмов, обитающих в глубоких анаэробных слоях морских отложений (Orsi, 2018).

Несмотря на обширное количество работ, связанных с изучением сообществ микроорганизмов донных отложений морей, по географическому положению объектов исследования они имеют очень неравномерное распределение; некоторые регионы остаются малоизученными. По сравнению с другими морями арктического региона прокариотные сообщества донных отложений Белого моря описаны крайне

скудно, хотя имеется достаточно много работ, посвященных динамике происходящих там различных микробиологических процессов, в первую очередь сульфатредукции и метаногенеза (Саввичев и др., 2008).

Полученные в ходе настоящего исследования данные позволяют охарактеризовать состав и структуру прокариотных сообществ Кандалакшского залива, выявить закономерности их пространственного распределения и оценить метаболический потенциал. С учетом полузамкнутого характера акватории Белого моря и, как следствие, значительного влияния поверхностных стоков (Лисицын и др., 2013; Kravchishina et al., 2018), прокариоты донных отложений играют ключевую роль в процессах разложения и трансформации органического вещества в этом регионе.

Цель и задачи исследования

Целью работы было изучение разнообразия и экологии анаэробных прокариот в донных отложениях Кандалакшского залива Белого моря.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценка общего таксономического разнообразия прокариотных сообществ донных отложений Кандалакшского залива.
2. Установление закономерностей вертикальной стратификации прокариотных сообществ в донных отложениях Кандалакшского залива.
3. Описание метаболического потенциала наиболее значимых компонентов прокариотных сообществ газонасыщенных отложений, богатых общим органическим углеродом.
4. Выявление анаэробных прокариот, участвующих в разложении полисахаридных субстратов и продуктов их разложения.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное исследование вертикальной стратификации прокариотных сообществ донных отложений Кандалакшского залива Белого моря на глубине до 200 см ниже поверхности морского дна (нпмд) с использованием современных молекулярно-биологических и биоинформатических методов. В рамках работы проанализированы микробные сообщества различных горизонтов осадков, отобранных из экологически различных участков, отличающихся условиями осадконакопления и содержанием органического вещества. Установлено, что прокариотные сообщества, расположенные в зонах с благоприятными условиями

для седиментации, в которых наблюдается повышенное содержание общего органического углерода, заметно отличаются от других сообществ осадков по составу и структуре.

Сопоставление таксономических и функциональных данных с геохимическими характеристиками позволило выявить ранее не описанные закономерности распределения ключевых микробных таксонов и предположить их участие в трансформации органического вещества в донных отложениях. Полученные результаты существенно расширяют представления о роли микробиоты в биогеохимических циклах Белого моря и дополняют существующие данные по микробной экологии донных отложений морей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты расширяют представления о составе и структуре прокариотных сообществ донных отложений Кандалакшского залива Белого моря и выявляют влияние глубины залегания осадков на их вертикальную стратификацию. Установлено, что в зонах газонасыщенных отложений пролива Великая Салма формируются сообщества с отличающейся таксономической структурой и характером стратификации. Эти различия связаны с расположением исследованных участков в депрессиях рельефа морского дна, где наблюдается повышенное содержание органического вещества. Метаболический анализ метагеномов природных образцов и обогащенного на ксилане сообщества позволил определить экологические функции ряда микроорганизмов, обитающих в морских донных осадках, что вносит вклад в понимание их роли в биогеохимических циклах.

Объект и предмет исследования

Объектом исследования являлись прокариотные сообщества донных отложений Кандалакшского залива и обогащенных на полисахаридах анаэробных накопительных культур. Предметом исследования являлись таксономический состав и метаболический потенциал прокариотных сообществ, а также закономерности их распространения в донных отложениях.

Методология диссертационного исследования

В работе были использованы классические микробиологические методы анаэробного культивирования, а также молекулярно-биологические и биоинформатические методы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В донных отложениях Кандалакшского залива формируются прокариотные сообщества, состав и структура которых зависят от глубины залегания осадков, что проявляется в их четкой вертикальной стратификации.
2. Прокариотные сообщества зоны газонасыщенных отложений пролива Великая Салма отличаются по таксономическому составу и характеру стратификации от сообществ других участков залива, что связано с особенностями рельефа и повышенным накоплением органического вещества.
3. Функциональный потенциал микробных сообществ зоны «газовых шапок» отражает их приспособленность к богатой органическим веществом среде и характеризуется присутствием представителей таксонов *Sandaracinaceae*, 67-14 (*Solirubrobacterales*), *Bathyarchaeia*, *Hyphomicrobiaceae* и *Anaerolineales*.
4. В анаэробных сообществах донных отложений Кандалакшского залива, обогащенных различными полисахаридными субстратами и продуктами их анаэробного разложения, преобладают представители *Bacteroidota*, *Clostridia* и *Vibrionaceae*, обладающие метаболическим потенциалом к деструкции широкого спектра полисахаридов.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в проведении анализа данных литературных источников, формулировании цели и задач исследования, отборе образцов и подготовке библиотек для высокопроизводительного секвенирования, а также в биоинформатической и статистической обработке полученных результатов. Автор осуществил культивирование сообществ микроорганизмов, обогащенных на различных субстратах, подготовил и опубликовал статьи в рецензируемых научных изданиях, а также представил результаты исследования на научных конференциях.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность результатов обеспечивается проведением работы с применением современных методик в соответствии с международными рекомендациями. Примененные автором современные молекулярно-биологические и биоинформатические методы исследования позволяют с высокой точностью определить состав прокариотных сообществ морских донных отложений и обогащенных на различных субстратах культур, а также оценить метаболический

потенциал отдельных компонентов сообществ. Основные положения и результаты диссертации были представлены на конференциях разного уровня:

- XXX Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов 2023", Москва, 2023 год.
- 4-й Российский микробиологический конгресс, Томск, 2023 год.
- 5-й Российский микробиологический конгресс, Волгоград, 2025 год.

Публикации

Результаты работы изложены в 3 публикациях, из которых 3 статьи опубликованы в международных рецензируемых изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова.

Объем и структура диссертации

Текст работы состоит из глав: Введение, Анаэробные прокариотные сообщества морских донных отложений, Объекты и методы исследования, Разнообразие прокариотных сообществ донных отложений Кандалакшского залива, Обсуждение, Заключение, Выводы, Список литературы. Работа изложена на 127 страницах, содержит 18 рисунков и 6 таблиц. Список литературы включает 215 источников, из которых 15 – русскоязычные, а 200 – на иностранном языке.

Место проведения работы и благодарности

Работа выполнена на базе кафедры микробиологии биологического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Автор искренне благодарит сотрудников кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Особая признательность выражается научному руководителю д.б.н. Бонч-Осмоловской Е.А. за постоянное руководство, внимание, помощь и поддержку на всех этапах исследования. Автор также благодарит к.х.н. Строеву А.Р. за ценные рекомендации и помощь в подготовке статей к публикации. Автор признателен сотрудникам отдела биологии экстремофильных микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН: к.б.н. Клюкиной А.А. – за помощь в подготовке библиотек для секвенирования; к.б.н. Меркелю А.Ю. – за поддержку в биоинформатическом анализе полученных данных; к.б.н. Подосокорской О.А. – за

помощь в приготовлении анаэробных питательных сред. Отдельная благодарность выражается к.г.-м.н. Полудеткиной Е.Н., сотруднику кафедры геологии и геохимии горючих ископаемых геологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, за проведение отбора проб донных отложений и выполнение литологических и геохимических исследований. Автор выражает признательность Программе развития МГУ имени М.В. Ломоносова за предоставленную возможность проведения исследований с использованием секвенатора DNBSEQ-G50.

Основное содержание работы

Введение. Во введении обосновывается актуальность темы исследования, а также формулируется цель и задачи исследования.

Глава 1. Анаэробные прокариотные сообщества морских донных отложений.

Литературный обзор структурирован в виде пяти тематических разделов. Первый раздел содержит общую характеристику анаэробных прокариотных сообществ морских донных отложений. Во втором разделе рассматривается роль микроорганизмов в анаэробном и аэробном разложении полисахаридов. Третий раздел посвящён анаэробной и аэробной деструкции микроорганизмами труднодоступных форм органического вещества. В четвертом разделе анализируются особенности прокариотных сообществ в газонасыщенных донных отложениях. В пятом разделе обобщены данные о донных отложениях Белого моря, а также о населяющих их прокариотных сообществах.

Глава 2. Объекты и методы исследования

Объекты исследования и пробоотбор

Основными объектами исследования являлись образцы морских донных отложений, отобранные в двух локациях Кандалакшского залива Белого моря в 2021–2023 гг. (рис. 1). Отбор проб осуществляли с глубин 2–200 см ниже поверхности морского дна с использованием прямоточной гравитационной трубы, дночерпателя Day Grab и методом водолазного погружения. Всего было получено 125 образцов, включающих как газонасыщенные, так и фоновые отложения, а также пробы из бухты Биофильтров и литорали эстуария р. Черной.

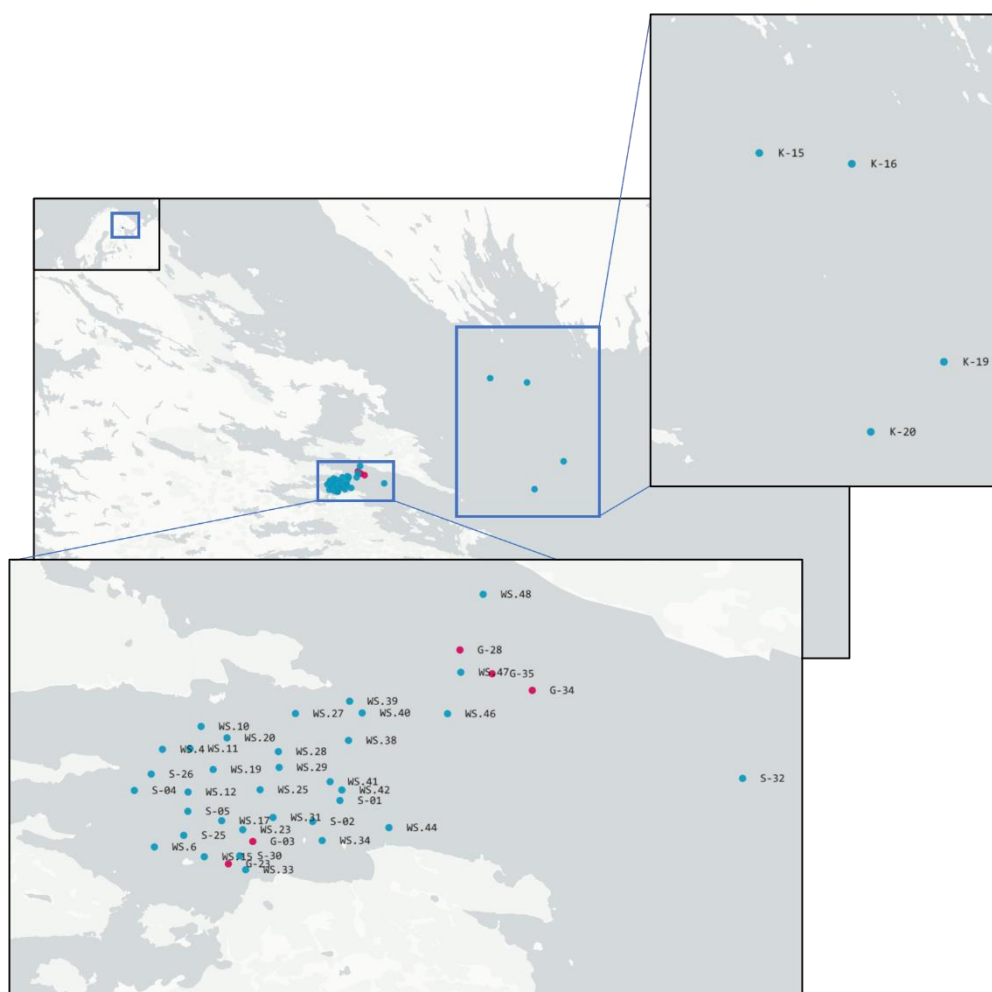


Рис. 1. Карта расположения станций пробоотбора донных отложений в Кандалакшском заливе в 2021-2023 гг. Нижняя врезка – локация в мелководном проливе Великая Салма; верхняя врезка – глубоководная часть Кандалакшского залива. Красным выделены станции, расположенные в зоне «газовых шапок»; синим выделены остальные станции.

Методы литологических и геохимических исследований донных отложений

Гранулометрический состав донных осадков определяли методом лазерной дифракции на приборе Analysette 22 Microtec Plus (FRITSCH GmbH, Германия). Топографию дна и строение осадочной толщи исследовали с помощью профилографа Innomar SES-2000 Light Plus (Innomar Technologie GmbH, Германия). Содержание и изотопный состав газовой фазы (CH_4 , CO_2) анализировали методом газовой хроматографии и изотопной масс-спектрометрии. Пиролитические характеристики органического вещества определяли методом Rock-Eval.

Методы микробиологических исследований

Для обогащения сообществ анаэробными прокариотами – деструкторами биополимеров – использовали метод накопительных культур. Для этого готовилась

искусственная морская вода следующего состава (в концентрациях, г/л): 18,0 NaCl; 3,45 MgSO₄·7H₂O; 2,75 MgCl₂·6H₂O; 0,325 KCl; 0,25 NH₄Cl; 0,15 CaCl₂. Раствор готовили с применением кипячения и продувки CO₂ для обеспечения анаэробных условий. После кипячения в искусственную морскую воду добавляли растворы микроэлементов (Кевбрин, Заварзин, 1992) и витаминов (Wolin et al., 1963) в концентрации 1 мл/л, а также 0,1 г/л дрожжевого экстракта, 0,5 г/л Na₂S и 0,15 г/л K₂HPO₄. В качестве субстратов использовались следующие соединения: агар, альгинат, хитин, ксилан, ацетат (в концентрации 10 мМ), а также смесь H₂:CO₂ (80:20). Стерилизацию питательных сред проводили автоклавированием.

Для получения анаэробных накопительных культур применяли поэтапную схему культивирования (рис. 2). Культивирование осуществлялось при + 4 °С в анаэробных условиях с последовательными пересевами. Полученные культуры использовали для профилирования по ампликону региона V4 гена 16S рРНК для анализа прокариотных сообществ и для полногеномного метагеномного секвенирования.

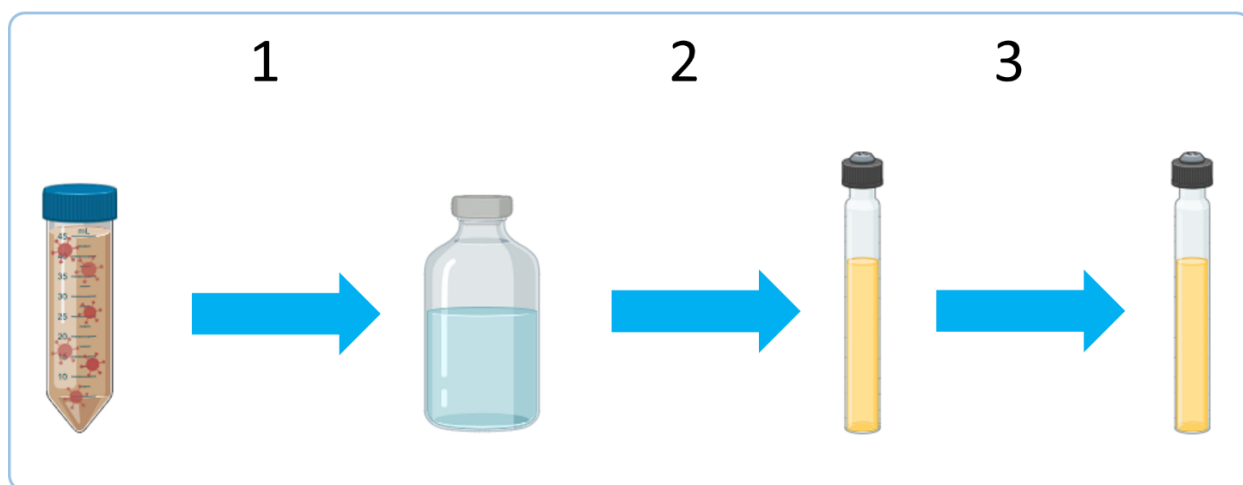


Рис. 2. Схема культивирования анаэробных накопительных культур. 1 – первичное внесение посевного материала (образца донных отложений) в 20 мл питательной среды. 2 – первый пересев через 30 дней культивирования: перенос 1 мл инокулята в 9 мл свежей питательной среды. После 30 дней культивирования – выделение ДНК для профилирования по V4-региону гена 16S рРНК. 3 – второй пересев через 30 дней культивирования: перенос 1 мл инокулята в 9 мл свежей питательной среды. Использовалась только культура на ксилане. После 30 дней культивирования – выделение ДНК для полногеномного метагеномного секвенирования.

Выделение общей ДНК и высокопроизводительное секвенирование

Выделение общей ДНК из образцов донных отложений проводили с использованием набора FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, США). Для

анализа структуры прокариотных сообществ амплифицировали гипервариабельный V4-регион гена 16S рНК с универсальными праймерами 515F и Pro-mod-805R и последующим секвенированием на платформе Illumina MiSeq. Полученные библиотеки очищались и количественно оценивались стандартными методами. Для полногеномного метагеномного анализа библиотеки готовились с использованием набора MGIEasy Fast PCR-FREE FS Library Prep Set и секвенировались на платформе DNBSEQ-G400 (MGI, Китай).

Биоинформатический анализ ампликонов гена 16S рНК

Сырые последовательности V4-региона гена 16S рНК обрабатывались с использованием платформы QIIME2 (Bolyen et al., 2019). Для устранения ошибок секвенирования, сборки парных прочтений и удаления химер применялся плагин DADA2 (Callahan et al., 2016), что позволило получить высококачественные варианты ампликонных последовательностей (ASV, amplicon sequence variant).

Филогенетический анализ выполнялся на основе множественного выравнивания MAFFT (Katoh, Standley, 2013) и последующего построения деревьев в RAxML-NG (Kozlov et al., 2019) с подбором оптимальной модели нуклеотидной эволюции с использованием инструмента ModelTest-NG (Darriba et al., 2020).

Метагеномные данные проходили стандартную предварительную обработку (удаление адаптеров и фильтрация по качеству) и сборку контигов. Метагеномно-ассемблированные геномы (MAG, metagenome-assembled genomes) выделялись с использованием пакета MetaWRAP (Uritskiy et al., 2018) с последующим биннингом и объединением результатов. Полнота и контаминированность MAG оценивались с помощью CheckM (Parks et al., 2015), а их таксономическая классификация выполнялась с использованием GTDB-Tk (Chaumeil et al., 2020).

Потенциальные углеводные субстраты и ферменты определялись с использованием run_dbCAN (Zheng et al., 2023) на основе базы CAZy, а реконструкция метаболических путей проводилась с привлечением баз данных KEGG (Kanehisa, 2002) и BlastKOALA (Kanehisa et al., 2016).

Глава 3. Разнообразие прокариотных сообществ донных отложений Кандалакшского залива

Литологическое описание образцов

Изученные образцы донных отложений были представлены глинистыми и песчано-глинистыми алевритами с варьирующей долей песчаной (1-43%, для большинства образцов – 15–23%; рис. 3а) и пелитовой примесей (12–50%).

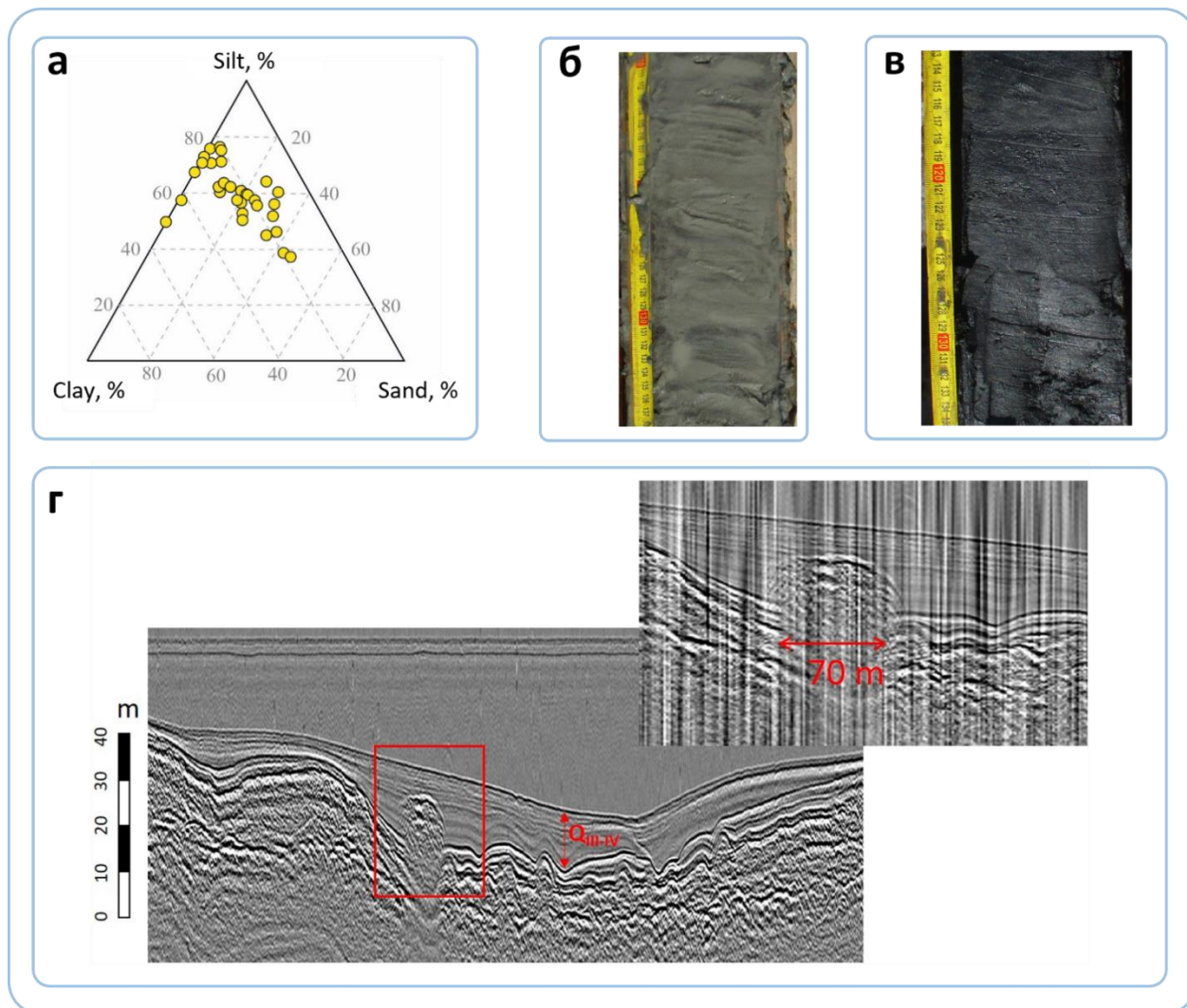


Рис. 3. Геологическая характеристика донных отложений Кандалакшского залива. **а** – гранулометрический состав исследованных образцов; **б, в** – фотографии двух типов образцов кернов донных отложений, отобранных в проливе Великая Салма; **г** – пример отображения структуры «газовой шапки» в зоне газонасыщенных отложений пролива Великая Салма по результатам сейсмоакустического профилирования.

Цвет осадков варьировался от темно-серого до серого с зеленоватым оттенком (рис. 3б). На большинстве станций осадки имели характерный запах сероводорода. Текстура пятнистая, полосчатая, неоднородная, с многочисленными микролинзами песчаного алеврита.

Газонасыщенные осадки

Сейсмоакустические исследования выявили аномалии в структуре донных отложений в проливе Великая Салма Кандалакшского залива, обозначенных как зоны газонасыщенных осадков или «газовые шапки» (рис. 3г). Эти структуры были идентифицированы благодаря их характерной форме на сейсмоакустических профилях. Газонасыщенные осадки создают контраст в акустической жесткости по сравнению с окружающим материалом, что делает их видимыми на профилях. Эти структуры располагаются в микрограбенах – локальных топографических депрессиях, связанных с накоплением газа в осадках.

Содержание газов в донных отложениях

Измерение содержания CH_4 проводилось на всем доступном профиле осадков (рис. 4). Максимальные значения CH_4 были обнаружены в нижних частях осадков из зоны «газовых шапок» и достигали до 184,2 мкг/мл. Медианное содержание CH_4 в двухметровых профилях составило 1,63 мкг/мл для «газовых шапок» и 0,01 мкг/мл для фоновых проб. В верхних 50 см медианное содержание CH_4 было 43,80 нг/мл и 1,59 нг/мл для «газовых шапок» и фоновых проб соответственно.

Статистически значимые различия в концентрации CH_4 между фоновыми и «газовыми шапками» обнаружены как в пределах всего профиля ($p = 6,64 \times 10^{-8}$), так и в верхних 50 см ($p = 0,01$). Установлена слабая корреляция между содержанием CH_4 и CO_2 , а также умеренная корреляция между слоем станции отбора и содержанием CH_4 в зонах «газовых шапок». Содержание H_2 по вертикальному профилю было неравномерным. Изотопные исследования углерода и водорода метана указывают на биогенное происхождение метана, что выражается в характерных значениях $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ (от $-82,4$ до $-92,8\text{‰}$) и $\delta^3\text{D}_{\text{CH}_4}$ (от $-212,2$ до $-227,4\text{‰}$).

Общий органический углерод

Содержание общего органического углерода в донных отложениях пролива Великая Салма по результатам исследования образцов, отобранных в 2022 г., варьировало от 0,03 % до 2,53 % от сухой массы отложений (рис. 4). В фоновых пробах концентрации общего органического углерода составляли 0,03 % – 1,39 %, тогда как в зонах «газовых шапок» этот показатель варьировал от 1,62 % до 2,53 %. Среднее содержание общего органического углерода в фоновых образцах и в пробах

«газовых шапках» также значительно различалось ($p = 0,000541$, 1 000 000 перестановок), составляя 0,70 % и 2,13 %, соответственно (рис. 4).

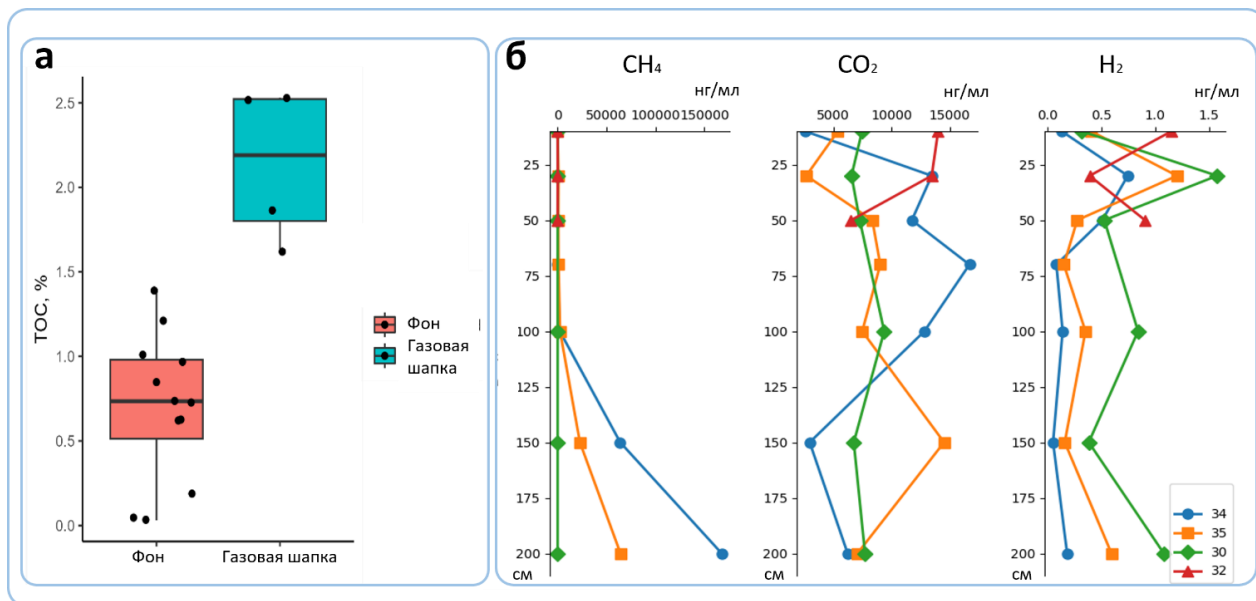


Рис. 4. Геохимическая характеристика образцов донных отложений Кандалакшского залива. **а** – содержание общего органического углерода, **б** – концентрация CO₂, CH₄ и H₂ в образцах, отобранных в точках S-30, S-32, G-34, G-35.

Профилирование прокариотных сообществ донных отложений по гену 16S рРНК

Анализ результатов секвенирования региона V4 гена 16S рРНК из образцов донных отложений Кандалакшского залива показал доминирование представителей домена *Bacteria* (91,4 % – 99,1 %); при этом основными филумами являлись *Pseudomonadota* (до 54,9 %) и *Desulfobacterota* (до 42,6 %). К числу таксонов среднего обилия относились *Bacteroidota*, *Mycococcota*, *Planctomycetota*, *Acidobacteriota*, *Actinomycetota*, *Cyanobacteriota*, *Campilobacterota* и др. Среди архей (до 8,6 % от общего числа ASV) преобладали представители филумов *Thermoproteota* и *Nanobdellota*, суммарно составляя до 99 % архейных последовательностей.

В верхних слоях донных отложений преобладали микроорганизмы, предположительно являющиеся потребителями лабильного органического вещества (*Woeseia*, *Sandaracinaceae*, *Anaerolineaceae*), и сульфатредукторы (SEEP-SRB1, Sva0081). С глубиной снижалась доля сульфатредуцирующих бактерий и возрастала представленность таких таксонов как некультивируемая группа JS1, порядки *Aminicenantales* и *Aerophobales*; а также потенциальных потребителей устойчивой

органики – *Desulfatiglans*, *Mycobacterium*, *Hyphomicrobiaceae*. В горизонтах 70–100 см НПМД доминировали JS1, *Thiohalophilus* и *Sulfurimonas* (рис. 5).

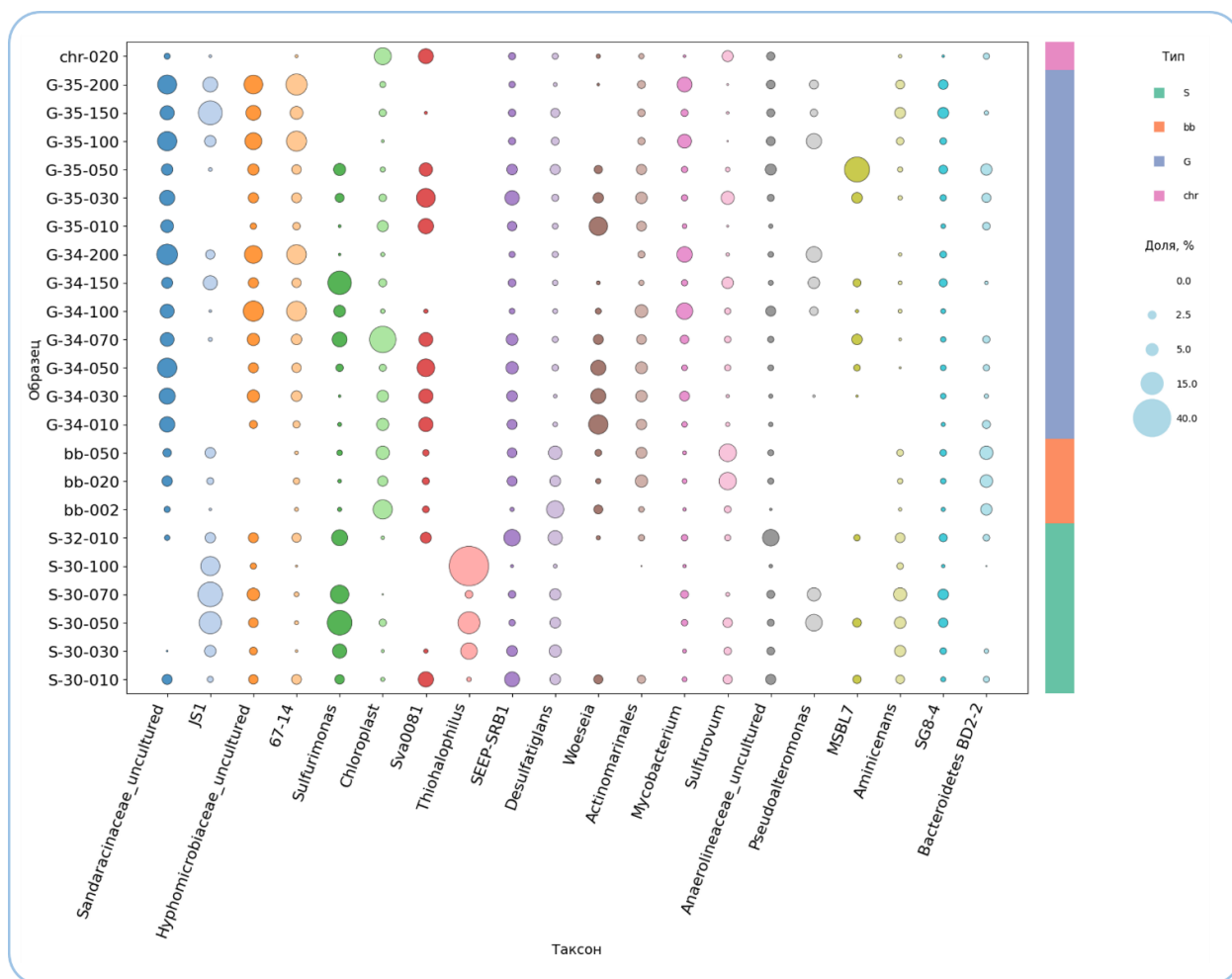


Рис. 5. Таксономический состав прокариотных сообществ на родовом уровне (по результатам профилирования по гену 16S рРНК) в образцах донных отложений (глубины 10-200 см НПМД) пролива Великая Салма (S), зоны «газовых шапок» (G), бухты Биофильтров (bb) и литорали р. Черной (chr). Образцы отобраны в 2023 г.

Сообщества зоны «газовых шапок» отличались относительно однородным составом до глубины 70 см и характеризовались обилием представителей SEEP-SRB1, Sva0081, *Sandaracinaceae*, *Anaerolineaceae* и *Woeseia* (рис. 5), что отражает условия, благоприятные для сульфатредукции, и относительно высокое содержание лабильного органического вещества. Ниже 70 см наблюдалось сближение состава сообществ с сообществами фоновых станций горизонтов 30-100 см (рис. 5), в частности за счёт увеличения доли JS1, *Hyphomicrobiaceae* и *Mycobacterium*. В глубинных горизонтах зон газовых шапок также было обнаружено высокое относительное содержание представителей *Sandaracinaceae*, *Pseudoalteromonas* и группы 67-14.

Образцы из глубоководной части залива демонстрировали сходный состав микробных сообществ и отсутствие выраженной вертикальной стратификации.

В отложениях бухты Биофильтров было отмечено высокое содержание хлоропластных последовательностей (до 9,7%), а в литорали эстуария р. Черной доминировали Sva0081, *Sulfurovum* и хлоропластные ASV.

Распространение и состав наиболее обильных в глубинных слоях зоны «газовых шапок» таксонов прокариот

Анализ на уровне семейств выявил присутствие универсальных и глубинно-специфичных представителей распространённых таксонов (*Sandaracinaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, группа 67-14 порядка *Solirubrobacterales*), отражающих влияние глубины и геохимических условий на структуру прокариотных сообществ.

Группа 67-14 (порядок *Solirubrobacterales*), наиболее обильная в глубоких горизонтах зоны «газовых шапок», формирует обособленный кластер внутри порядка *Solirubrobacterales*, подразделяющийся на две филогенетически различимые подгруппы. Различия в нуклеотидном составе между группами в регионе V4 гена 16S рРНК составляли от 6 до 12%.

Среди представителей семейства *Hyphomicrobiaceae* по результатам анализа отдельных ASV было выделено пять филогенетических кластеров; уровень сходства внутри кластеров составлял не менее 95 %, а между кластерами доля различий составляла до 9 %. Наиболее разнообразным являлся кластер Hypho-1, включающий ASV, характерные для пролива Великая Салма, в том числе формы, тяготеющие к глубинным горизонтам. Кластер Hypho-2 характеризуется низкой относительной численностью и встречается лишь в отдельных горизонтах отложений Великой Салмы. ASV, входящий в кластер Hypho-3 вместе с культивированным видом *Methylothermalis aethiopiae*, был зафиксирован только в одном образце из зоны «газовых шапок» с глубины 200 см нпмд. Кластеры Hypho-4 и Hypho-5, присутствовали во всех горизонтах отложений Великой Салмы и бухты Биофильтров, образуют внешние группы по отношению к остальным ASV и известным представителям семейства; их ближайшим родом является *Filomicrobium*.

В фоновых станциях представители *Sandaracinaceae* обнаружены лишь в верхних слоях осадков (до 30 см нпмд). Внутри филогенетического кластера присутствовали ASV, встречавшиеся в малом количестве исключительно в образцах

из бухты Биофильтров и литорали эстуария и формировавшие внешнюю группу по отношению к остальным. Эти ASV и сближаются с *Sandaracinus amylolyticus*, единственным культивируемым представителем семейства, выделенным из почвы. В то же время наиболее крупные субпопуляции были представлены ASV, широко распространенными в сообществах пролива Великая Салма и бухты Биофильтров.

Метагеномный анализ прокариотных сообществ Кандалакшского залива

В результате секвенирования тотальной ДНК, выделенной из двух образцов донных отложений, отобранных в зонах «газовых шапок», были получены последовательности, на основе которых собрано 20 прокариотных геномов.

Наиболее обильными компонентами прокариотных сообществ оказались представители группы SG8-38 (*Sandaracinaceae*), составлявшие до 13,66 % от общего количества. Значительный вклад также вносили представители порядка *Anaerolineales* (до 8,77 %), а также члены семейства *Hyphomicrobiaceae*, включая род *Hyphomicrobium* (до 7,96 %) и *Filomicrobium* (до 3,37 %). Кроме того, в сообществе были выявлены представители группы 67-14, относящейся к порядку *Solirubrobacterales* (до 3,77 %), а также разнообразные сульфатредуцирующие микроорганизмы, включая представителей порядка *Desulfobacterales* (до 10,72 %) и класса *Syntrophobacteria* (до 10,93 %). Среди собранных MAG был выявлен единственный архейный таксон, относящийся к *Bathyarchaeia* (до 7,98 %). Результаты функционального анализа MAG приведены в таблице 1.

Функциональный анализ аннотированных генов с использованием базы данных KEGG выявил в двух MAG *Sandaracinaceae* кластер генов, ассоциированных с деградацией ароматических соединений, и содержащий гены *ligW*, *hsaA*, *bphH* и *bphJ*. У *Sandaracinaceae* также выявлены гены *norB*, *norC* и *nosZ*, кодирующие ферменты нитрооксид-редуктазу и редуктазу закиси азота, что указывает на наличие потенциала к денитрификации (Grabski et al., 2025). Анализ метаболического потенциала свидетельствовал о способности данного микроорганизма расщеплять такие субстраты, как пектин, агароза и крахмал.

Анализ аннотированных генов с использованием базы данных KEGG выявил кластер, связанный с метаболизмом C₁-соединений, в обоих MAG *Bathyarchaeia*. Кластер включал гены, кодирующие CODH/ACS-комплекс (*cdhABCDE*) (Maupin-Furlow, Ferry, 1996), а также гены *fwdABCD*, *frt*, *mch* и *mptN* (Hochheimer et al., 1995;

Reeve et al., 1997), участвующие в метаногенезе из CO₂. Несмотря на неполный состав, идентифицированные гены указывают на потенциал к анаэробному окислению C₁-соединений.

Таблица 1. Сводная таблица результатов функционального анализа некоторых MAG

MAG	Таксон	Метаболизм углерода	Метаболизм азота	Метаболизм серы	Ароматические соединения	Полисахаридные субстраты
11D-01, 35D-01	SG8-38 (<i>Sandaracinaceae</i>)	деградация полисахаридов, лигнина и бензоата	денитрификация	—	деградация лигнина и бензоата	пектин, агароза, крахмал
11D-06, 35D-04	<i>Bathyarchaeia</i>	C ₁ -метаболизм	—	—	—	—
11D-03, 11D-08, 35D-03	<i>Anaerolineales</i>	CO ₂ -фиксация (путь Вуда-Льюнгаля)	денитрификация, нитратредукция, окисление аммония	—	деградация ароматических соединений	альфа-маннан, целлобиоза, арабиноксилан
35D-02	<i>Syntrophobacteria</i>	CO ₂ -фиксация (путь Вуда-Льюнгаля), продукция ацетата	денитрификация, нитратредукция	сульфатредукция	деградация ароматических соединений	—
11D-04, 35D-05	<i>Hyphomicrobium</i>	—	—	окисление сероводорода	—	—
11D-10	<i>Filomicrobium</i>	—	денитрификация	окисление сероводорода, метаболизм сероорганических соединений	деградация ароматических соединений	—
11D-07	67-14 (<i>Solirubrobacterales</i>)	—	нитратредукция	—	—	—

MAG, классифицированные как геномы представителей семейства *Hyphomicrobiaceae*, принадлежат *Hyphomicrobium* и *Filomicrobium*. В обоих геномах *Hyphomicrobium* присутствуют гены *fccA* и *fccB*, кодирующие сульфиддегидрогеназу. Эти данные указывают на способность к окислению восстановленных соединений серы. Остальные исследованные MAG содержали гены, указывающие на потенциал к денитрификации (*Anaerolineales*, *Syntrophobacteria*, *Filomicrobium*), нитратредукции (*Anaerolineales*, *Syntrophobacteria*, 67-14), сульфатредукции (*Syntrophobacteria*) и деструкции ароматических соединений (*Anaerolineales*, *Syntrophobacteria*).

Анализ анаэробных прокариотных сообществ, обогащенных на полимерных субстратах и продуктах их разложения

Таксономический состав сообществ анаэробных накопительных культур, определенный на основе анализа варибельного участка V4 гена 16S рРНК, показал, что среди наиболее распространенных таксонов в большинстве культур преобладают представители семейства *Vibrionaceae* (включая *Vibrio*, *Aliivibrio* и *Photobacterium*),

филума *Bacteroidota* и рода *Halodesulfovibrio*. Остальные обнаруженные микроорганизмы проявляют субстратную избирательность или тяготеют к условиям определенных горизонтов.

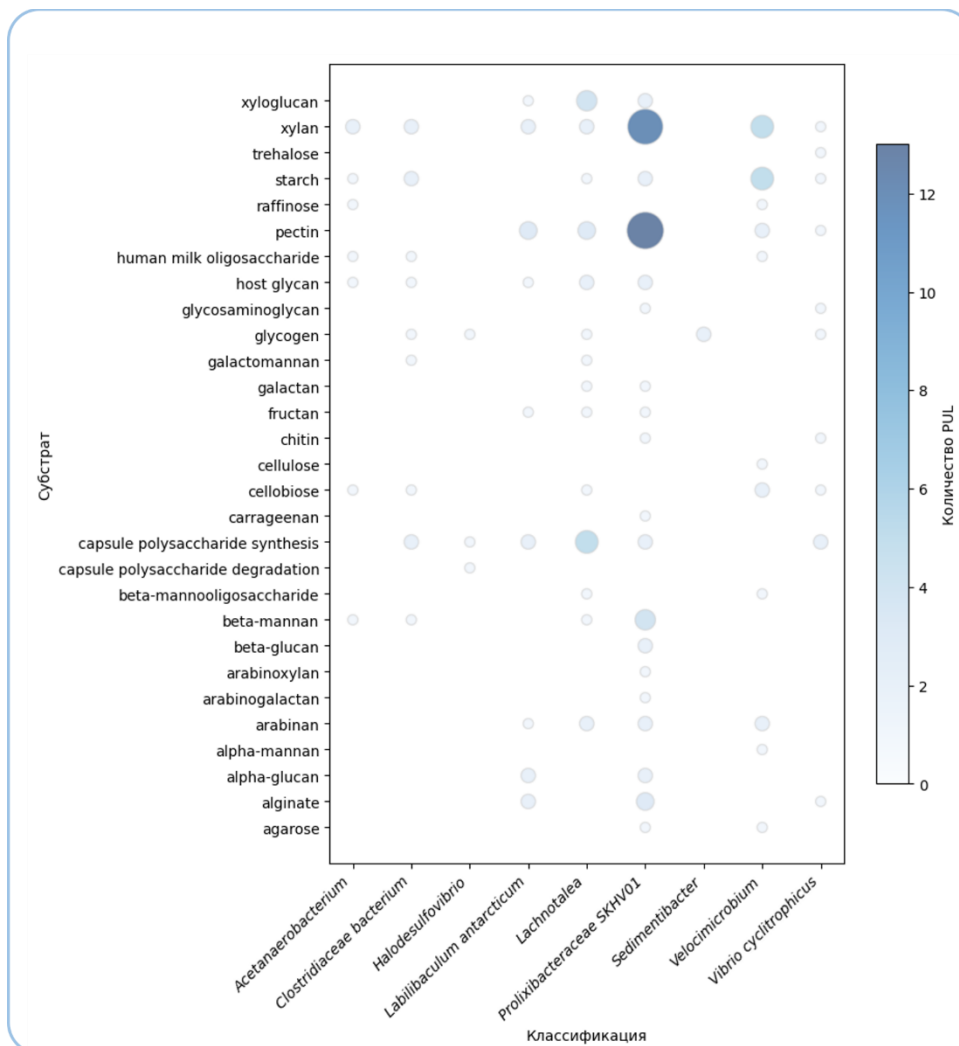


Рис. 6. Предсказанные на основе PUL субстраты для MAG из метагенома обогащенного на ксилане анаэробного прокариотного сообщества

В результате сборки индивидуальных геномов микроорганизмов, присутствующих в обогащенном на ксилане сообществе, удалось реконструировать 10 MAG прокариот. Наибольшее количество последовательностей было классифицировано как *Labililabaculum antarcticum* (85,11 %); вторым по обильности был *Vibrio cyclitrophicus* (6,16 %). Оставшиеся MAG имели более низкое покрытие в сообществе и составляли менее 5% по результатам сборки. Их таксономическое положение было определено следующим образом: *Halodesulfovibrio*, *Velocimicrobium* sp., некультивируемые представители семейств *Prolixibacteraceae* и *Clostridiaceae*, *Lachnotalea* sp., *Poseidonibacter* sp., *Sedimentibacter* sp., *Acetanaerobacterium* sp.

Функциональная аннотация MAG показала широкий спектр метаболических путей, свидетельствующих о потенциале к участию этих микроорганизмов в процессах в циклах серы, азота и углерода. Предсказанные по локусам утилизации полисахаридов (PUL, polysaccharide utilization loci) субстраты для микроорганизмов (рис. 6), присутствующих в анаэробной культуре на ксилане, включают не только ксилан, но и другие полисахариды, характерные для донных отложений.

Глава 4. Обсуждение

Общая характеристика прокариотных сообществ донных отложений Кандалакшского залива

Прокариотные сообщества донных отложений Кандалакшского залива демонстрируют черты, характерные для морских экосистем. В верхних слоях наблюдается преобладание потребителей лабильной органики и сульфатредукторов – облигатных анаэробов. Для этих горизонтов отложений характерны типичные представители морских донных сообществ: *Woeseia*, *Sandaracinaceae*, SEEP-SRB1, Sva0081 (Probandt et al., 2017; Stroeve et al., 2024).

Наблюдаемая стратификация прокариотных сообществ обусловлена снижением доступности органического вещества с увеличением глубины осадков. Ключевыми участниками процессов деструкции ароматических соединений в таких условиях считаются представители таксонов *Dehalococcoidia*, *Bathyarchaeia*, *Planctomycetota* и *Desulfatiglanales*, чья численность демонстрирует высокую корреляцию с содержанием лигнина и других сложных органических субстратов (Oni et al., 2015; Lazar et al., 2017; Vuillemin et al., 2020; Wang et al., 2021). Полученные в настоящем исследовании данные частично согласуются с этими наблюдениями: в нижних горизонтах стратифицированных отложений пролива Великая Салма была выявлена значительная доля представителей указанных таксонов.

Сравнение с Баренцевым морем показывает сходство таксономического состава и α -разнообразия микробных сообществ аналогичных горизонтов (Chen et al., 2024; Stroeve et al., 2024). Однако между зонами «газовых шапок» Кандалакшского залива и зонами метановых просачиваний Баренцева моря существуют значительные различия: в последнем SEEP-SRB1 стабильно ассоциированы с ANME даже в поверхностных слоях (Begmatov et al., 2021), что также отмечено и в других морях Арктики (Savvichev et al., 2023). Отсутствие ANME

в Кандалакшском заливе может указывать на недостаточную концентрацию CH_4 для поддержания синтрофной ассоциации, что подчеркивает отличия этих условий от активных сипов.

Сообщества глубинных горизонтов характеризуются сниженным содержанием биоразнообразия и появлением доминантных таксонов, например, JS1. Эти сообщества также характеризуются высоким вкладом микроорганизмов, способных разлагать труднодоступные органические вещества, что соответствует модели снижения биодоступности органики при ее погребении (Baltar et al., 2021).

Важной особенностью прокариотных сообществ зон «газовых шапок» является не только их относительная таксономическая однородность, но и частичное сходство с микробиомами метановых просачиваний (Ruff et al., 2015). Вместе с тем, существенную долю этих сообществ составляют деструкторы трудноразлагаемой органики, нехарактерные для классических газонасыщенных отложений и преимущественно обитающие в глубоких горизонтах.

Сопоставление распространенности отдельных ASV с предсказанными метаболическими возможностями соответствующих таксонов позволило интерпретировать закономерности вертикального распределения прокариотных сообществ. Формирование прокариотных сообществ «газовых шапок», по-видимому, определяется сочетанием нескольких ключевых экологических факторов: высоким содержанием общего органического углерода, благоприятными условиями осадконакопления, присутствием устойчивой органики, поступающей с поверхностными стоками.

Ключевую роль в этих сообществах играют представители семейства *Sandaracinaceae*, обладающие метаболической универсальностью: они способны разлагать как различные растительные полисахариды, так и сложные ароматические соединения. Эта функциональная гибкость обеспечивает их процветание как в приповерхностных, так и в глубоких слоях донных отложений, где это семейство, вероятно, представлено анаэробными субпопуляциями.

Анаэробные сообщества, развивающиеся в присутствии различных полимерных субстратов и продуктов их разложения

Представители прокариотных сообществ, выявленные в анаэробных накопительных культурах, использующих агар, альгинат, хитин, ксилан, ацетат и H_2 ,

практически отсутствуют в природных донных сообществах, что указывает на их второстепенную роль в естественных экосистемах. Однако направленное культивирование на определенных субстратах позволило выявить микроорганизмы с выраженной метаболической специализацией, способных эффективно утилизировать полисахариды растительного происхождения, поступающие в донные отложения (Gaenssle et al., 2024).

В обогащенном на ксилане анаэробном прокариотном сообществе самыми обильными компонентами были представители филума *Bacteroidota*. Наибольшую численность в сообществе демонстрирует *Labilibaculum antarcticum*, который обладает широким набором полимерных субстратов, характерных для донных отложений. Представители филума *Bacteroidota*, в частности семейство *Marinifilaceae*, известны своей активной ролью в разложении органического вещества, особенно растительных полисахаридов, в морских экосистемах (Li et al., 2022).

Другим важным представителем этого филума является *Prolixibacteraceae* SKHV01, который обладает наибольшим количеством PUL среди всех микроорганизмов сообщества и самым широким перечнем доступных для разложения субстратов. Наличие генов нитритредуктазы у обоих обнаруженных представителей *Bacteroidota* указывает не только на их способность разлагать различные полисахариды, но и на их значимость в процессах преобразования азотных соединений, что подчеркивает их важную роль в биогеохимических циклах (Fernández-Gómez et al., 2013; McKee et al., 2021; Ma et al., 2023).

Согласно результатам исследования метаболического потенциала и таксономического состава сообществ, терминальным анаэробным процессом разложения полисахаридов в донных отложениях Кандалакшского залива, является сульфатредукция. *Halodesulfovibrio*, помимо восстановления сульфатов, также обладает потенциалом к участию в процессах цикла азота, включая азотфиксацию и нитрификацию, а также может быть задействован в разложении ароматических соединений.

Таким образом, несмотря на структурные различия между анаэробными прокариотными сообществами, обогащенными в присутствии агара, альгината, хитина, ксилана, ацетата и H_2 , и природными сообществами донных отложений,

функциональный потенциал лабораторно обогащенных комплексов в значительной степени отражает ключевые метаболические процессы, характерные для естественных условий в донных отложениях Кандалакшского залива.

Заключение

Настоящее исследование представляет собой наиболее полное на текущий момент описание таксономического состава и функциональных особенностей прокариотных сообществ донных отложений Кандалакшского залива Белого моря. Проведенное исследование сочетает в себе комплексный анализ данных, полученных молекулярно-биологическими, биоинформатическими, геохимическими и классическими микробиологическими методами.

В ходе исследования были выделены характерные прокариотные сообщества для различных типов донных отложений Кандалакшского залива. Сильнейшее влияние на состав сообществ оказывают следующие факторы: глубина залегания сообщества в донных отложениях и расположение в богатой органическим веществом зоне «газовых шапок».

Установлены четкие закономерности вертикальной стратификации сообществ прокариот в отложениях Кандалакшского залива, отражающие влияние геохимических и геологических характеристик осадков. Для приповерхностных горизонтов всех исследованных станций характерно преобладание потребителей лабильной органики и сульфатредукторов. Среди наиболее массовых компонентов этих горизонтов повсеместно встречаются таксоны, типичные для морских отложений, включая род *Woeseia*, семейства *Anaerolineaceae* и *Sandaracinaceae*, а также группы некультивируемых микроорганизмов SEEP-SRB1 и Sva0081. Более глубокие горизонты отличаются снижающейся долей потенциальных потребителей лабильной органики и сульфатредуцирующих бактерий, высокой относительной численностью некультивированных микроорганизмов с малоизученным метаболизмом (JS1, *Aerophobales*, *Aminicenantales*, SG8-4, S085, WCHB1-81) и потенциальных потребителей устойчивого к деградации органического вещества (*Desulfatiglans*, *Mycobacterium*, *Hyphomicrobiaceae*).

Богатые органическим веществом отложения, расположенные в зонах «газовых шапок», где наблюдаются благоприятные условия для аккумуляции органического вещества, имеют иной тип стратификации прокариотных сообществ.

В пределах верхних 70 см нпмд осадка структура сообществ остается относительно неизменной: наиболее обильными компонентами являются потребители лабильной органики и сульфатредукторы. В глубинных горизонтах наблюдается высокая относительная численность микроорганизмов характерных для нижних горизонтов фоновых станций, а также уникальные для этих зон таксоны. Интересным является отсутствие архей группы ANME в этих насыщенных CH_4 зонах.

Оценка метаболического потенциала обильных в зонах «газовых шапок» таксонов показала их адаптированность к высокой скорости поступления органического вещества терригенного и морского происхождения. Способность к деструкции различных полисахаридов обеспечивает процветание определенных групп микроорганизмов в приповерхностных слоях, тогда как способность к разложению стойких ароматических соединений (входящих в состав лигнина и гумусоподобных веществ) позволяет другим группам выживать в глубинных горизонтах. Представители семейства *Sandaracinaceae* по полученным результатам обладают всеми этими метаболическими свойствами, что объясняет их высокую долю по всему исследованному профилю донных отложений «газовых шапок» и делает их одним из важнейших компонентов сообществ, в том числе анаэробных.

Анализ обогащенных на различных полисахаридах и продуктах их анаэробного разложения сообществ показал ведущую роль представителей *Bacteroidota* и *Pseudomonadota* в разложении биополимеров в анаэробных условиях. Многие микроорганизмы имели также потенциал к разложению устойчивой органики, что еще раз подтверждает важность этой способности в природных сообществах.

Выводы

1. Установлены определяющие факторы, влияющие на состав прокариотных сообществ донных отложений Кандалакшского залива: глубина расположения сообщества в вертикальном профиле донных отложений и развитие в зоне «газовых шапок» или вне их.

2. Определен состав стратифицированных прокариотных сообществ фоновых донных отложений пролива Великая Салма. К наиболее обильным группам микроорганизмов в горизонтах 2 и 10 см относятся органогетеротрофные представители рода *Woeseia* и семейств *Anaerolineaceae* и *Sandaracinaceae*, а также

сульфатредуцирующие бактерии SEEP-SRB1, Sva0081. Нижние горизонты (30–100 см) отличаются доминированием группы JS, рода *Thiohalophilus*, потребителей устойчивой органики, относящихся к родам *Desulfatiglans* и *Mycobacterium* и семейству *Hyphomicrobiaceae*.

3. В донных отложениях зоны «газовых шапок» в горизонтах 2–70 см отмечается отсутствие выраженной стратификации и относительно выровненный таксономический состав. Преобладают таксоны, типичные для приповерхностных слоев: *Sandaracinaceae*, *Anaerolineaceae*, *Woeseia*, SEEP-SRB1 и Sva0081. Глубинные горизонты «газовых шапок» (100–200 см) имеют отличающийся таксономический состав сообществ, включающий представителей семейств *Hyphomicrobiaceae* и *Sandaracinaceae*, группы JS1 и 67-14, родов *Mycobacterium* и *Pseudoalteromonas*. По составу эти сообщества частично сближаются с прокариотными комплексами, обнаруженными в горизонтах 30–100 см фоновых станций.

4. Анализ отдельных ASV представителей семейств *Sandaracinaceae* и *Hyphomicrobiaceae*, а также группы 67-14 (порядок *Solirubrobacterales*), выявил их гетерогенность. Были обнаружены как универсальные субпопуляции, встречающиеся повсеместно в исследованных образцах, так и приуроченные к экологическим условиям определенных горизонтов.

5. Функциональный потенциал микробных сообществ зоны «газовых шапок» отражает их адаптацию к богатой органикой среде. Одним из ключевых таксонов является *Sandaracinaceae* (группа SG8-38), обладающая генами, ассоциированными с деструкцией растительных полисахаридов, ароматических соединений и денитрификацией, что объясняет его высокую относительную численность на различных глубинах осадка – до 11.2 % от количества прочтений региона V4 гена 16S рРНК.

6. С помощью метагеномного анализа выявлен метаболический потенциал ряда некультивируемых микроорганизмов, обитающих в донных отложениях. Представители группы 67-14 (*Solirubrobacterales*) обладают потенциалом к денитрификации и аэробному дыханию. У Bathy-15 (*Bathyarchaeota*) обнаружен фрагментарный набор генов, связанных с метаногенезом и метаболизмом C1-соединений. Представители порядка *Anaerolineales* характеризуются широким метаболическим репертуаром, включающим деградацию различных полисахаридов

растительного происхождения, разложение ароматических соединений и участие в процессах азотного обмена.

7. В анаэробных накопительных культурах, полученных на полисахаридных субстратах (агар, альгинат, ксилан, хитин) преобладают представители *Bacteroidota*, *Clostridia* и *Vibrionaceae*. Анализ метаболического потенциала показал их способность к деструкции широкого спектра полисахаридов. Ряд членов сообществ обладает потенциалом к частичному или полному метаболизму ароматических соединений, что отражает широкое распространение этой способности в природных сообществах донных отложений.

**Статьи, опубликованные в изданиях, рекомендованных для защиты
в диссертационном совете МГУ имени М.В.Ломоносова
по специальности и отрасли наук:**

1. Бадмадашиев Д.В., Строева А.Р., Клюкина А.А., Полудеткина Е.Н., Бонч-Осмоловская Е.А. Филогенетическое разнообразие прокариотных сообществ поверхностных слоев донных отложений Кандалакшского залива Белого моря // Микробиология. – 2023. – Т. 92, № 6. – С. 581-594. EDN: CYSXJT (Импакт-фактор 1,034 (РИНЦ)) [Badmadashiev D.V., Stroeveva A.R., Klyukina A.A. Poludetkina E.N., Bonch-Osmolovskaya E.A. Phylogenetic Diversity of Prokaryotic Communities of the Upper Sediment Layers of the Kandalaksha Bay, White Sea // Microbiology. – 2023. – V. 92, № 6. – P. 807-818. EDN: QAUJXI (Импакт-фактор 1.156 (JIF), Q 4] Вклад автора в печатных листах: (1,42/1,14). Здесь и далее в скобках приведён объем публикаций в печатных листах и вклад автора в печатных листах.

2. Badmadashiev D.V., Stroeveva A.R., Klyukina A.A. Poludetkina E.N., Bonch-Osmolovskaya E.A. Stratification of Prokaryotic Communities in the White Sea Bottom Sediments // Microbiology. – 2023. – V. 92 (Suppl. 1). – P. S83-S87. EDN: LNGLVJ (Импакт-фактор 1.156 (JIF), Q 4) (0,36/0,29)

3. Badmadashiev D.V., Stroeveva A.R., Klyukina A.A. Poludetkina E.N., Bonch-Osmolovskaya E.A. Study of Stratification of Prokaryotic Microbial Communities in Sediments of Velikaya Salma Strait and Kandalaksha Bay, the White Sea // Current Microbiology. – 2025. – V. 82. – P225. DOI: 10.1007/s00284-025-04199-w (Импакт-фактор 2.6 (JIF), Q 3) (1,24/0,99)