

© Коллектив авторов, 2020

УДК 574.58:579.26

М.Е. Игнатенко, Т.Н. Яценко-Степанова, В.Я. Катаев, Ю.А. Хлопко

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРОБИОМА ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА *CHLOROCOCCUM OLEOFACIENS* TRAINOR & BOLD (CHLOROPHYTA)

Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), Оренбург, Россия

Цель. Изучить разнообразие бактерий-ассоциантов галотолерантного штамма *Chlorococcum oleofaciens* ICIS-Ch1 с использованием метода высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужила тотальная ДНК, выделенная из культур *Ch. oleofaciens* ICIS-Ch1, выращенных на средах с различной соленостью (0, 14 и 50‰). Тотальную ДНК выделяли комбинированным методом, включающим механическую гомогенизацию и химическую экстракцию. Библиотеки ДНК созданы в соответствии с руководством по подготовке образцов Illumina 16S Sample Preparation Guide Part # 15044223 Rev. B с праймерами для области V3-V4 гена 16S рРНК SD-Bact-0341-bS-17 и SD-Bact-0785-aA-21. Данные по составу сообществ обрабатывали комплексом биоинформатических программ.

Результаты. Результаты продемонстрировали значительное разнообразие (количество регистрируемых ОТЕ достигало 50 и более в одном образце) и динамичность (в зависимости от уровня минерализации среды, интенсивности роста водорослевой культуры) микробиома *Ch. oleofaciens* ICIS-Ch1. Выявлены 21 ОТЕ бактерий-ассоциантов, постоянно присутствующих в составе микробиома *Ch. oleofaciens* ICIS-Ch1. Большинство обнаруженных родов бактерий описаны как ассоцианты пресноводных, галотолерантных и галофильных микро- и макроскопических водорослей.

Заключение. Впервые с помощью высокопроизводительного секвенирования переменного участка V3-V4 гена 16S рРНК определен состав микробиома галотолерантного штамма *Ch. oleofaciens* ICIS-Ch1 при разных уровнях минерализации. Исследуемый микробиом характеризовался высоким разнообразием и включал представителей четырех фил: *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Planctomycetes*.

Ключевые слова: высокопроизводительное секвенирование, галотолерантность, *Chlorococcum oleofaciens*, микробиом, бактерии-ассоцианты.

М.Е. Ignatenko, T.N. Yatsenko-Stepanova, V.Y. Kataev, Y. A. Khlopko

TAXONOMIC COMPOSITION OF THE MICROBIOME OF THE HALOTOLERANT STRAIN *CHLOROCOCCUM OLEOFACIENS* TRAINOR & BOLD (CHLOROPHYTA)

Orenburg Federal Research Center, UB RAS (Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, UB RAS), Orenburg, Russia

Objective. To study the diversity of bacteria associated with the halotolerant strain *Chlorococcum oleofaciens* ICIS-Ch1 with high-throughput sequencing.

Materials and methods. The material for the study was total DNA isolated from the microbiome of *Ch. oleofaciens* ICIS-Ch1 incubated at different salinity (0, 14 and 50‰). Total DNA was extracted by a combined method, including mechanical homogenization and chemical extraction. DNA libraries were created according to the Illumina 16S Sample Preparation Guide Part # 15044223 Rev. B with primers for the V3-V4 region of the 16S rRNA gene SD-Bact-

0341-bS-17 and SD-Bact-0785-aA-21. Data analysis was carried out using a complex of bioinformatic programs.

Results. The results showed a significant diversity (the number of recorded OTUs reached 50 or more in one sample) and dynamic (depending on the level of salinity and the intensity of growth of the algal culture) of microbiomes associated with *Ch. oleofaciens* ICIS-Ch1. 21 OTUs of associated bacteria that are constantly present in the microbiome of *Ch. oleofaciens* ICIS-Ch1 were identified. Most of the bacterial genera found are described as symbionts of freshwater, halotolerant, and halophilic micro- and macroalgae.

Conclusion. For the first time, with the high-throughput sequencing of the variable V3-V4 region of the 16S rRNA gene was determined the composition of microbiome of the halotolerant strain *Ch. oleofaciens* ICIS-Ch1 at different salinities. The studied microbiome was characterized by high diversity and included representatives of four phyla: *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and *Planctomycetes*.

Key words: high-throughput sequencing, halotolerance, *Chlorococcum oleofaciens*, microbiome, associated bacteria.