

СТРУКТУРА АЭРОБНОГО ГАЛОФИЛЬНОГО МЕТИЛОТРОФНОГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ГИПЕРГАЛИННОГО ОЗЕРА ДУНИНО ИЗ ГРУППЫ СОЛЬ-ИЛЕЦКИХ ОЗЕР (ОРЕНБУРГСКАЯ ОБЛАСТЬ)**М.Н. Шустова^{1,2}, Е.Н. Капаруллина¹, Н.В. Доронина¹**¹ ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН, Пуццино, Россия² Пуцинский филиал РОСБИОТЕХ, Пуццино, Россия

Гипергалинные озера повсеместно распространены на нашей планете и среди них можно выделить группу Соль-Илецких соленых озер, располагающихся в Оренбургской области. Соль-Илецкие озера имеют карстово-антропогенное происхождение, и соленость некоторых озер приближается к 300 г/л NaCl (озеро Дунино). Изучение микробиоты Соль-Илецких озер проводилось на протяжении многих лет (Селиванова с соавт., 2018). Однако, мало известно о распространении в этих биотопах аэробных метилотрофных бактерий, использующих метанол и другие C₁-соединения в качестве источников углерода и энергии и играющих важную биосферную роль.

Цель работы – изучение структуры галофильного метилотрофного микробного сообщества озера Дунино.

Из образца воды, отобранного из озера Дунино на территории г. Соль-Илецка, на минеральной среде «MAMS» с 6 % NaCl и 0,5 % метанола, в качестве источника углерода и энергии, после более десяти пассажей получили устойчивое аэробное галофильное метилотрофное микробное сообщество, которое стало объектом дальнейших исследований. Получить чистые культуры галофильных метилотрофных бактерий не удалось, поскольку на агаризованной среде колонии были представлены ассоциатами метилотрофов с гетеротрофными организмами.

С помощью 16S метагеномного секвенирования определили биоразнообразие аэробного галофильного метилотрофного микробного сообщества. Оценка удельной численности прокариот на уровне рода выявила доминирование представителей метилотрофного рода *Methylophaga* (92,93 %) и неметилотрофных родов *Halomonas/Vreelandella* (6,65 %), *Marinobacter* (0,28 %), а также присутствие менее 0.1 % представителей родов *Ochrobactrum*, *Oceanicola*, *Brevundimonas*, *Vitellibacter*, *Pseudomonas* и *Achromobacter*. Анализ последовательностей гена 16S рНК, полученных в ходе метагеномного исследования показал, что метилотрофные представители сообщества близки *Methylophaga* sp. DICA-051 (OQ055065) из образца Восточно-Китайского моря.

На богатой агаризованной среде LB с 3 % NaCl из ассоциата выделили гетеротрофный штамм 3Sol, который на основании секвенирования гена 16S рНК имел 99,72 % сходства с *Vreelandella titanicae* VN1^T. Штамм 3Sol растет при 0,25 – 27 % NaCl (оптимально при 3–8 %), pH 5,5 – 10 (оптимально при 7,4) и оптимальной температуре 29 °C. В качестве источников углерода и энергии использует оргкислоты, сахара, спирты.

Для дальнейшего изучения взаимодействия микроорганизмов внутри сообщества создали искусственный ассоциат, содержащий чистую культуру галофильного метилотрофа *Methylophaga marina* и штамм 3Sol. В отличие от метилотрофа, представленного в ассоциате озера Дунино, чистая культура *M. marina* хорошо растет на агаризованной среде «MAMS» с метанолом. В ходе совместного культивирования (более десяти пассажей) проведено микроскопирование, высев на селективные питательные среды, анализ метаболитов в культуральной жидкости. Микроскопия культуральной жидкости из экспоненциальной фазы роста созданного ассоциата показала наличие двух видов клеток, активно делящихся, без признаков лизиса. Оба вида в искусственном ассоциате, обнаруживались при высевах на агаризованные среды после большого количества пассажей. Анализ культуральной жидкости методом ВЭЖХ выявил при культивировании чистой культуры *Methylophaga marina* образование формиата (продукта окисления метанола), причем в культуральной жидкости при культивировании искусственного ассоциата концентрация формиата в культуральной среде возрастала в 6 раз. Наряду с этим, наблюдали накопление метилотрофом ацетата и незначительных количеств некоторых кислот цикла Кребса.

Вероятно, формиат и ацетат, образуемые метилотрофом рода *Methylophaga* из метанола, поддерживают рост гетеротрофа *Vreelandella* sp. 3Sol.