

У БЕРЕГОВ ИСЧЕЗАЮЩЕГО МОРЯ: МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА АРАЛА И ЮЖНОГО ПРИАРАЛЬЯ

© 2024 г. Н. А. Черных^{a, *}, А. Ю. Меркель^a, К. В. Кондрашева^b, Ж. Э. Алимов^c,
А. А. Ключкина^a, Е. А. Бонч-Осмоловская^{a, d}, А. И. Слободкин^a, К. Д. Давранов^b

^aИнститут микробиологии им. С. Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, 119071, Россия

^bИнститут микробиологии АН РУз, Ташкент, 100128, Узбекистан

^cМеждународный сельскохозяйственный университет, Ташкент, 100140, Узбекистан

^dБиологический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва, 119234, Россия

*e-mail: chernyh3@yandex.com

Поступила в редакцию 16.08.2023 г.

После доработки 31.08.2023 г.

Принята к публикации 08.09.2023 г.

С начала 60-х годов XX века в результате развития сельского хозяйства на орошаемых территориях Узбекистана площадь Аральского моря уменьшилась на 90%, а соленость воды выросла с 1 до 20‰. Целью нашей работы было исследование разнообразия микробных сообществ воды и осадков Западного Аральского моря, а также прилегающих почв и водоемов с помощью высокопроизводительного секвенирования варибельного участка гена 16S рРНК. Было установлено, что в воде Аральского моря с минерализацией 22‰ доминируют галофильные некультивируемые археи семейства *Haloferacaceae* (22–43%), а также бактерии родов *Spiribacter* и *Psychroflexus*. В осадках Аральского моря доля архей была значительно ниже (2–17%), и среди них преобладали некультивируемые *Woesearchaeales*. Среди бактерий в осадках доминировали сульфатредукторы филума “*Desulfobacterota*”, а также представители родов *Fusibacter*, *Halanaerobium*, *Guyaparkeria*, *Marinobacter*, *Idiomarina*, *Thiomicrospira*. В образцах почвы бывшего дна Аральского моря с минерализацией 8.2‰ присутствовали разнообразные археи филума *Halobacterota*, а также некультивируемые бактерии семейства *Nitrosococcaceae*. Однако в ризосфере растущего там же растения терескена Эверсмманна (*Krascheninnikovia ewresmanniana*) археи составляли всего 4% и, в основном, представляли семейство *Nitrososphaeraceae*. 33% от всех прокариот в микробиоме ризосферы приходилось на некультивируемые представители филума *Actinomycetota*. Микробное сообщество ризосферы терескена оказалось сходным с микробными сообществами почвы плато Устюрт, расположенного в 3 км от берега Аральского моря. Протекающая по бывшему дну Аральского моря вода, изливающаяся из искусственно пробуренной скважины, также вызывает глубокие изменения в микробном сообществе: на фоне возрастания минерализации (0.5–2‰) по руслу ручья развиваются цианобактериальные маты и сопутствующие им органотрофные бактерии. Наконец, наибольшее разнообразие прокариот было обнаружено в микробном сообществе осадка озера Судочье с минерализацией 1‰, вероятно, являющимся современным аналогом микробиома Аральского моря до его обмеления.

Ключевые слова: Аральское море, секвенирование генов 16S рРНК, микробные сообщества, галофильные микроорганизмы

DOI: 10.31857/S0026365624010035

До середины XX века Аральское море являлось крупнейшим (четвертым по площади) озером мира, располагаясь на границе современных Казахстана и Узбекистана. Площадь Аральского моря в середине XX века составляла 66 тыс. км², объем воды равнялся 1070 км³, а минерализация воды составляла лишь 9.9‰. Однако развитие сельского хозяйства в 1960-е годы в Узбекистане и соответствующие ирригационные мероприятия, забирающие воду из рек, впадающих в Аральское море — Амударьи и Сырдарьи, привели к тому, что приток

воды в Аральское море сократился на 90%, площадь Аральского моря стала стремительно уменьшаться, а минерализация — возрастать. В настоящее время основная часть площади южной части Аральского моря, так называемого Большого Арала, представляет собой пустынный ландшафт (пустыня Аралкум); собственно море сократилось до узкого гиперсоленого водоема в юго-западной части (Западное Аральское море, рис. S1), минерализация в 2022 году выросла до 22‰. Таким образом, современное Аральское море представляет собой

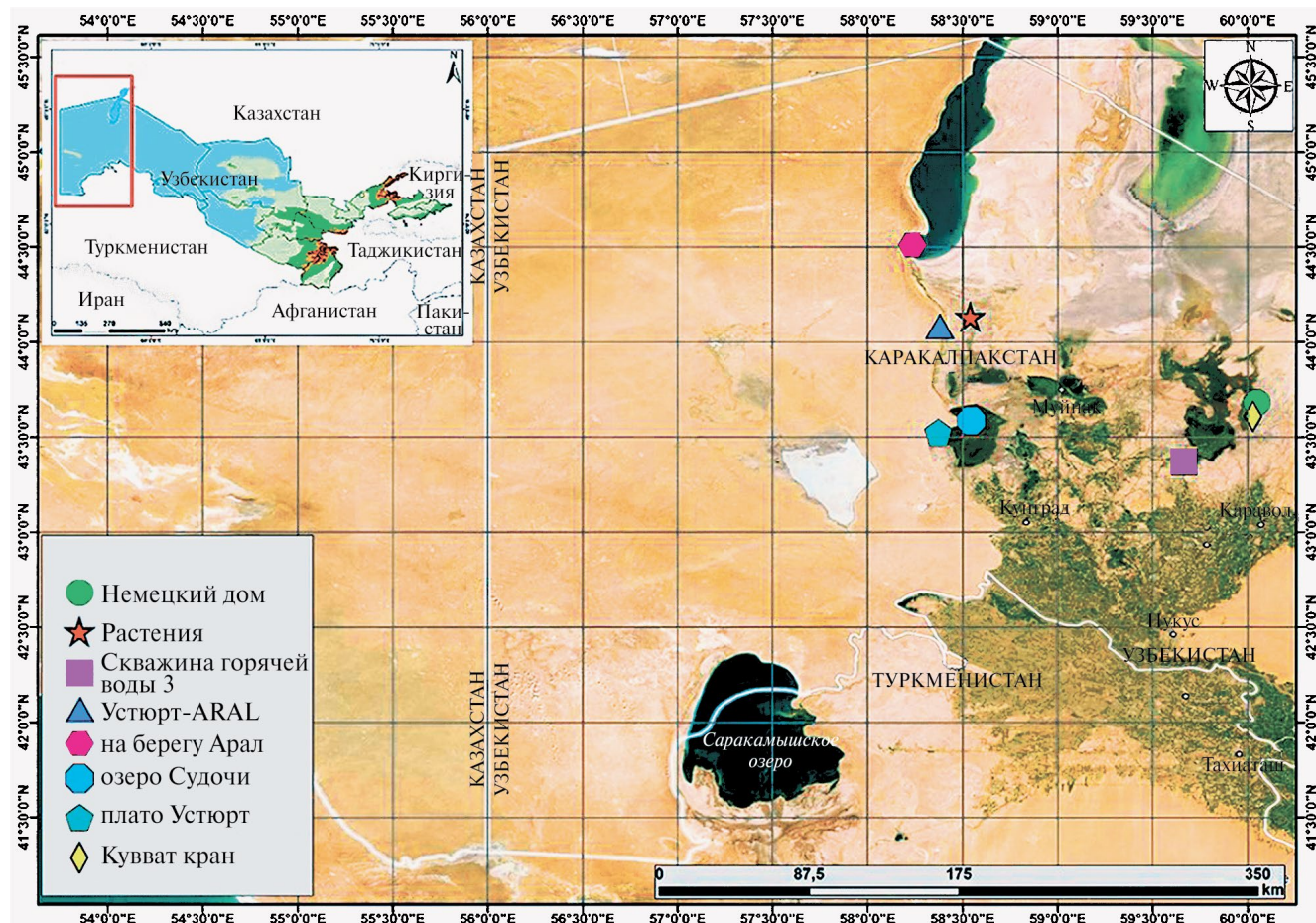


Рис. 1. Карта Аральского моря и места отбора образцов.

экстремальную экосистему. Однако, несмотря на ее уникальность и важнейшее значение для региона, сведения о микробных сообществах Аральского моря и окружающих его местообитаний очень ограничены. Имеется лишь одно сообщение об исследовании этих биотопов методами высокопроизводительного секвенирования, в котором основное внимание уделено микробиомам засоленной почвы (Jiang et al., 2021). Микроорганизмы воды Западного Арала изучались путем создания библиотек клонов генов 16S рРНК архей и бактерий, однако небольшой размер выборки и использование различных систем праймеров для архей и бактерий не позволили дать полноценную количественную характеристику сообществ (Shurygin et al., 2019). Анализ метабенома воды был проведен для Северного (Малого) Арала (Alexyuk et al., 2021), с минерализацией 0.8‰, однако эти данные неприменимы к сегодняшнему Западнему Аралу, где минерализация гораздо выше. Микробные сообщества почвы, бывший ранее дном Аральского моря, в том числе ассоциированные с растущими там растениями, исследовались лишь с помощью стандартных культуральных методов, позволивших идентифицировать представителей родов *Pseudomonas* и *Bacillus*

(Aripov et al., 2016; Stulina et al., 2019). Наконец, данные о разнообразии микроорганизмов в осадках современного Аральского моря и близлежащего озера Судочье отсутствуют.

Целью настоящей работы было исследование с помощью высокопроизводительного секвенирования варибельных участков генов 16S рРНК микробных сообществ воды и осадков Западного Аральского моря и близлежащего грунта, ранее являющегося дном Аральского моря, а также ассоциированных местообитаний: ризосферы произрастающего на бывшем дне Аральского моря растения и осадков ручья, образовавшегося на месте бывшего дна Аральского моря в результате разлива воды из искусственно пробуренной скважины и контрольных точек, не испытывающих влияния вод Аральского моря, а именно плато Устюрт и озеро Судочье.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Отбор образцов для исследования. Образцы воды, осадков и грунта были отобраны осенью 2022 г.

из Западного Арала, пустыни Аралкум, с плато Устюрт и из озера Судочье (рис. 1, таблица).

Параллельно отбирались образцы для исследования физико-химических характеристик и для выделения ДНК с целью последующего профилирования микробных сообществ по гену 16S рРНК. Образцы воды Аральского моря, обозначенные индексом AW (Aral Water), отбирались в 5 л бутылки на расстоянии 100 м от берега на глубине 1 м. В течение 4–6 ч после отбора эти образцы были отфильтрованы через поликарбонатный фильтр с диаметром пор 0.22 мкм (“Трековая мембрана”, Дубна, Россия) для сбора микробной биомассы. Образцы осадков Аральского моря (AD, Aral Deposits) были отобраны в приливно-отливной зоне и в 10 м от берега; в последнем случае был отобран керн осадков с глубины около 1 м от поверхности воды. Глубина керна составила 40 см, и он был разделен на верхнюю (0–20 см) и нижнюю (20–40 см) части. Образец осадков озера Судочье (SD, Sudoch’e Deposit) был отобран с помощью металлического пробоотборника с 15 см глубины осадков.

В непосредственной близости от современного берега Аральского моря (50 м) был отобран образец грунта, ранее являвшегося дном Аральского моря и представляющего собой влажный песок (AS, Aral Soil), и аналогичный образец из ризосферы растения терескена Эверсмanna — *Krascheninnikovia ewresmanniana* (RS, Rhizosphere Soil). В качестве контрольной группы были отобраны образцы почвы плато Устюрт (US, Ustyurt Soil). Все образцы грунта и почвы отбирались с глубины от 2 до 20 см (таблица).

Еще одним объектом исследования стали микробные сообщества, развивающиеся на изливе воды одной из скважин, пробуренных на глубину от 560 до 630 м в осушенном дне Арала. Образцы собственно воды из скважин (WW, Well Water) были отобраны в стерильные пятилитровые бутылки. В течение 4–6 ч после отбора эти образцы были отфильтрованы через поликарбонатный фильтр с диаметром пор 0.22 мкм (“Трековая мембрана”, Дубна, Россия). Также были отобраны образцы цианобактериального мата (WM, Well Mat), развивающегося на изливе воды из скважины WW1 и осадков (WD, Well Deposits) ручья, образованного изливом воды из этой же скважины. Образцы мата и осадков отбирались стерильным шпателем.

Все образцы переносились в стерильные пластиковые пробирки типа Фалькон объемом 50 мл (“Wuxi NEST Biotechnology Co., Ltd.”, Китай), где были зафиксированы в 20% этаноле в буфере (0.10 М Трис, 0.15 М ЭДТА; pH 7.6) для последующего выделения ДНК, и затем хранились при 4°C.

Определение физико-химических характеристик образцов. pH воды и водной вытяжки определяли на откалиброванном pH метре Mettler Toledo Five easy F20 (Китай). Концентрацию ионов кальция

и магния определяли методом комплексонометрического титрования водной вытяжки раствором 0.05N Трилона Б с использованием хрома кислотного темно-синего в качестве индикатора. Содержание хлорид-иона в водной вытяжке определяли аргентометрически, с добавлением в испытуемый раствор для установления конечной точки титрования хромата калия, который с избытком серебра образует осадок, вызывающий переход окраски раствора от желтой до красно-бурой. Определение сульфата-иона проводили гравиметрическим методом путем осаждения сульфатов раствором BaCl_2 с последующим взвешиванием прокаленного осадка. Определение растворимых форм фтора проводили потенциометрически с использованием фторидных ионоселективных электродов.

Определение филогенетического состава исследуемых микробных сообществ. ДНК из отобранных образцов выделяли, используя коммерческий набор реактивов FastDNA Spin Kit (“MP Biomedicals”, США), в соответствии с инструкцией производителя. Библиотеки V4 гипервариабельного участка гена 16S рРНК были приготовлены с помощью ПЦР по ранее описанной методике (Fadrosh et al., 2014). При этом использовалась следующая система праймеров 515F (5'-GTGBCAGCMGCCGCGGTAA-3') (Huggerth et al., 2014) и Pro-mod-805R (5'-GACTACNVGGGTMTCTAATCC-3') (Merkel et al., 2019). Секвенирование производили на платформе MiSeq (“Illumina”, США), используя реагенты, позволяющие читать по 150 нуклеотидов с каждого конца ампликона. Предполагая достаточно низкую микробную биомассу в исследованных образцах, для обработки последовательностей микробиома был использован метод ASV (ASV — Amplicon Sequence Variant; Callahan et al., 2017; Caruso et al., 2019). Методы, основанные на ASV, позволяют элиминировать из последующего анализа последовательности, содержащие ошибки ПЦР или секвенирования, и, тем самым, позволяют достоверно отличать природные флотипы, различающиеся даже лишь одним нуклеотидом. Этот подход дает возможность более полно и детально описать имеющееся в образце разнообразие флотипов в сравнении с ОТЕ-анализом (Callahan et al., 2017). ASV-таблица была создана с помощью ПО Dada2 (Callahan et al., 2016) и базы данных SILVA 138 (Quast et al., 2013). Статистическая обработка данных, в том числе и подсчет индексов альфа-разнообразия, производили с помощью ПО Rhae (Lagkouvardos et al., 2017) по результатам ASV, что дает возможность учесть полное биологическое разнообразие анализируемых последовательностей. Последовательности фрагментов гена 16S рРНК были депонированы в базе данных SRA (NCBI) под номером биопроекта PRJNA980688.

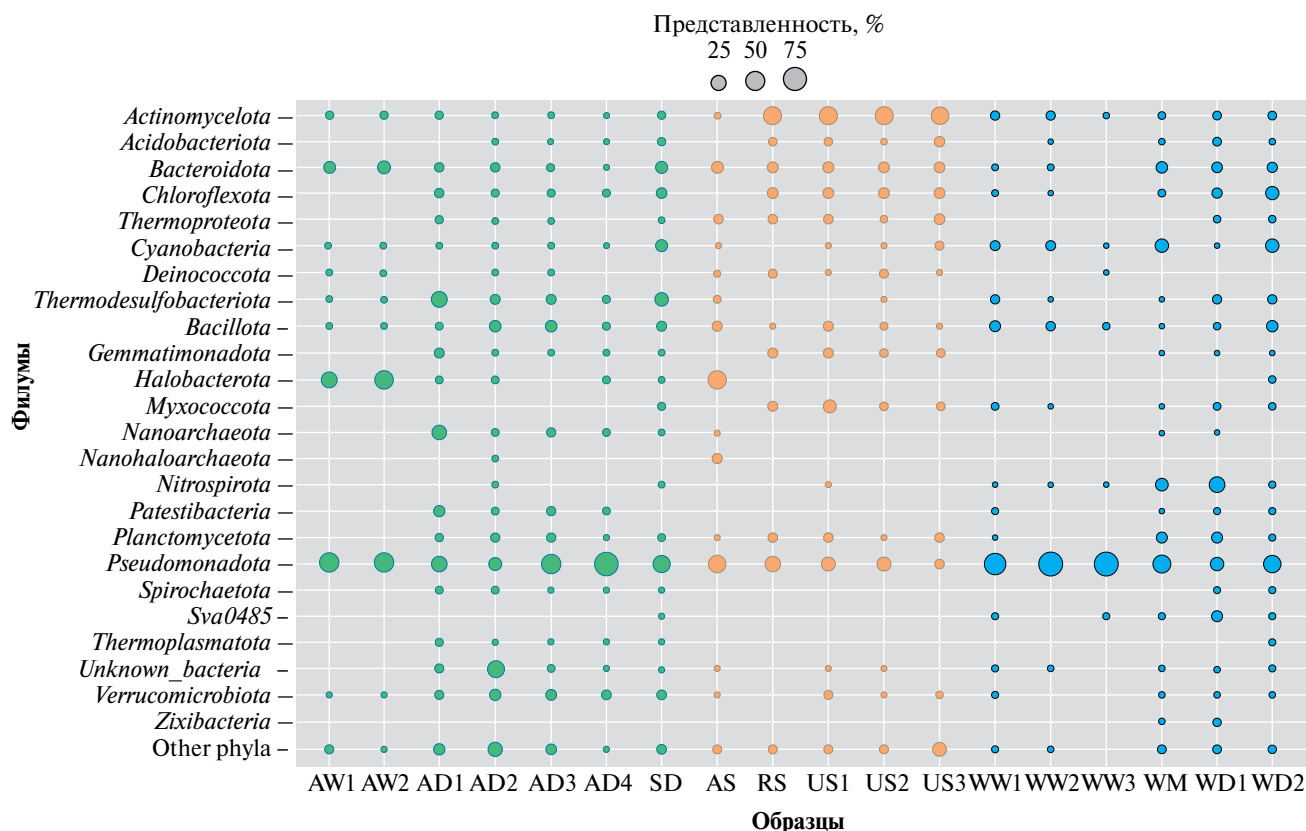


Рис. 2. Относительная представленность (%) филумов прокариот в исследованных образцах. Показаны только филумы с относительной представленностью >1%.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика исследованных местообитаний

Исследованные нами местообитания можно подразделить на три группы:

(1) естественные водоемы: Западное Аральское море (вода, AW и осадки, AD) и озеро Судочье (осадки, SD);

(2) почвы: грунт дна бывшего Аральского моря (AS), ризосфера выросшего там же растения (RS) и взятая в качестве контроля почва плато Устюрт (US);

(3) подземные воды и образуемые ими наземные ручьи: вода из скважин, пробуренных на месте бывшего дна Аральского моря (WW); микробный мат (WM) и осадки ручья (WD).

Основные характеристики отобранных образцов представлены в табл. 1.

Аральское море и озеро Судочье. Образцы воды Аральского моря (AW1 и AW2) отличаются высокой минерализацией, превышающей 200‰, одинаковой в обоих образцах, отобранных в 100 м от берега на расстоянии 100 м друг от друга. Вода Аральского моря также отличается высокой концентрацией сульфат-иона, превышающей 10 г/л.

Осадки Аральского моря были отобраны в 3-х точках, две из которых располагались в приливной зоне (AD1 и AD2), а третья находилась в 10 м от берега с глубиной воды 1 м. Грунт в приливной зоне, откуда отбирались образцы, был покрыт коркой, под которой содержался черный ил. Осадки, находящиеся на глубине 1 м, также представляли собой черный ил. Минерализацию осадков не определяли, однако по содержанию ионов Cl^- видно, что она лишь незначительно ниже минерализации воды. При этом содержание сульфатов в поверхностных пробах осадков было ниже, чем в воде, что говорит о том, что в них, вероятно, идут процессы трансформации соединений серы. Наиболее низкая концентрация сульфатов была в нижнем слое керна, что указывает на возможность протекания там процесса микробной сульфатредукции.

В осадках оз. Судочье (образец SD) общая минерализация составляла лишь 10‰, что соответствует данным о значительном опреснении озера за счет притока воды из канала, соединяющего его с Амударьей. Низкой минерализации соответствовало значительно более низкое, чем в Аральском море, содержание хлорид- и сульфат-ионов.

Засоленные грунты и почвы. Два образца были отобраны на берегу Аральского моря и представляли собой грунт, в прошлом являвшийся морским

Таблица 1. Характеристика образцов Западного Аральского моря и Южного Приаралья, использованных в работе

Обо- значе- ние	Координаты	Описание образца	T,°C	pH	Мине- рали- зация, ‰	Содержание, мг/л				
						Cl ⁻	Ca ⁺²	Mg ⁺²	SO ₄ ⁻²	F
Образцы воды и осадков Западного Аральского моря и озера Судочье										
AW1	44°33'28"N 58°15'40"E	Вода Аральского моря, 10 м от берега	23	8.3	220.0	117764.1	—*	—	10266.8	—
AW2	44°33'32"N 58°15'45"E	Вода Аральского моря, 100 м от берега	23	8.3	220.0	117764.1	—	—	10266.8	—
AD1	44°33'40"N 58°15'43"E	Осадок Аральского моря, приливная зона	16	—	—	87673.1	—	—	16036.4	—
AD2	44°33'38"N 58°15'40"E	Осадок Аральского моря, приливная зона, черный ил	—	—	—	—	—	—	—	—
AD3	44°33'36"N 58°15'39"E	Осадок Аральского моря, верхняя часть керна	15	—	—	101293.4	—	—	29177.9	—
AD4	44°33'32"N 58°15'45"E	Осадок Аральского моря, нижняя часть керна	15	—	—	109487.3	—	—	8431.3	—
SD	43°36'20"N 58°30'24"E	Осадок озера Судочье	19	8.1	10.0	3652.0	0.0	0.0	4451.0	0.8
Образцы грунта и почвы у берега Западного Аральского моря и с плато Устюрт										
AS	44°33'38"N 58°15'35"E	Грунт бывшего дна Араль- ского моря, 50 м от кромки воды	—	8.8	82.0	3640.0	656.0	96.0	4608.0	—
RS	44°36'08.73"N 58°16'57.48"E	Почва ризофе- ры <i>Krascheninnikovia ewersmanniana</i> , выросшего на месте бывшего дна Аральского моря	—	8.4	6.3	105.0	—	—	398.0	—
US1	44°09'29.57"N 58°22'31.31"E	Почва со дна высохшей протоки, плато Устюрт	—	8.4	4.0	25.0	140.0	12.0	424.0	—
US2	44°09'28.83"N 58°22'31.83"E	Почва со склона, плато Устюрт N44°33'28"	—	7.9	13.0	788.0	202.0	52.0	650.0	—
US3	44°14'55.32"N 58°12'01.83"E	Почва с плато Южный Устюрт	—	8.8	—	—	—	—	398.0	—
Образцы воды из скважин и осадков по изливу ручья, вытекающего из скважины № 1										
WW1	43°40'52.8"N 60°02'55.1"E	Вода из скважины № 1, глубина 580 м Немецкий дом	41	7.0	2.1	—	1.2	0.0	—	—
WW2	43°36'33.5"N 60°01'46.4"E	Вода из скважины № 2, глубина 560 м Кувват кран	55	7.6	2.2	—	2.2	—	—	—
WW3	43°21'59.2"N 59°39'57.4"E	Вода из скважины скважина горячей воды № 3, глубина 0 м	47	8.3	2.5	734.0	3.7	—	744.0	—
WM	43°40'52.8"N 60°02'55.1"E	Образец мата, развивающе- гося на изливе скважины № 1	21	8.0	5.0	598.1	—	0.0	0	1.1
WD1	43°40'52.4"N 60°02'55.1"E	Осадок под матом на изливе скважины № 1, рыже-черный	19	8.8	6.0	610.0	—	0.0	681.0	1.0
WD2	43°40'52.1"N 60°02'55.1"E	Черный осадок в 50 м ниже по течению ручья из скважины № 1	18	8.8	20.0	161.0	—	—	1900.0	—

* Нет данных.

дном. Образец AS, состоящий из влажного песка, был отобран в 50 м от современного уреза воды Аральского моря. Минерализация этого образца была значительно ниже по сравнению с водой Аральского моря, однако существенно выше, чем в осадках оз. Судочье, при одинаковом содержании хлорид- и сульфат-ионов. В отличие от оз. Судочье, в грунте бывшего дна Аральского моря

было отмечено высокое содержание ионов кальция и магния. Образец RS представлял собой почву из ризосферы растения терескена Эверсмана — *Krascheninnikovia ewresmanniana*, растения, принадлежащего к группе ксерогалофилов, известных своей устойчивостью к засухе и сульфатному засолению. Из таблицы видно, что почва ризосферы *K. ewresmanniana* при достаточно высоких

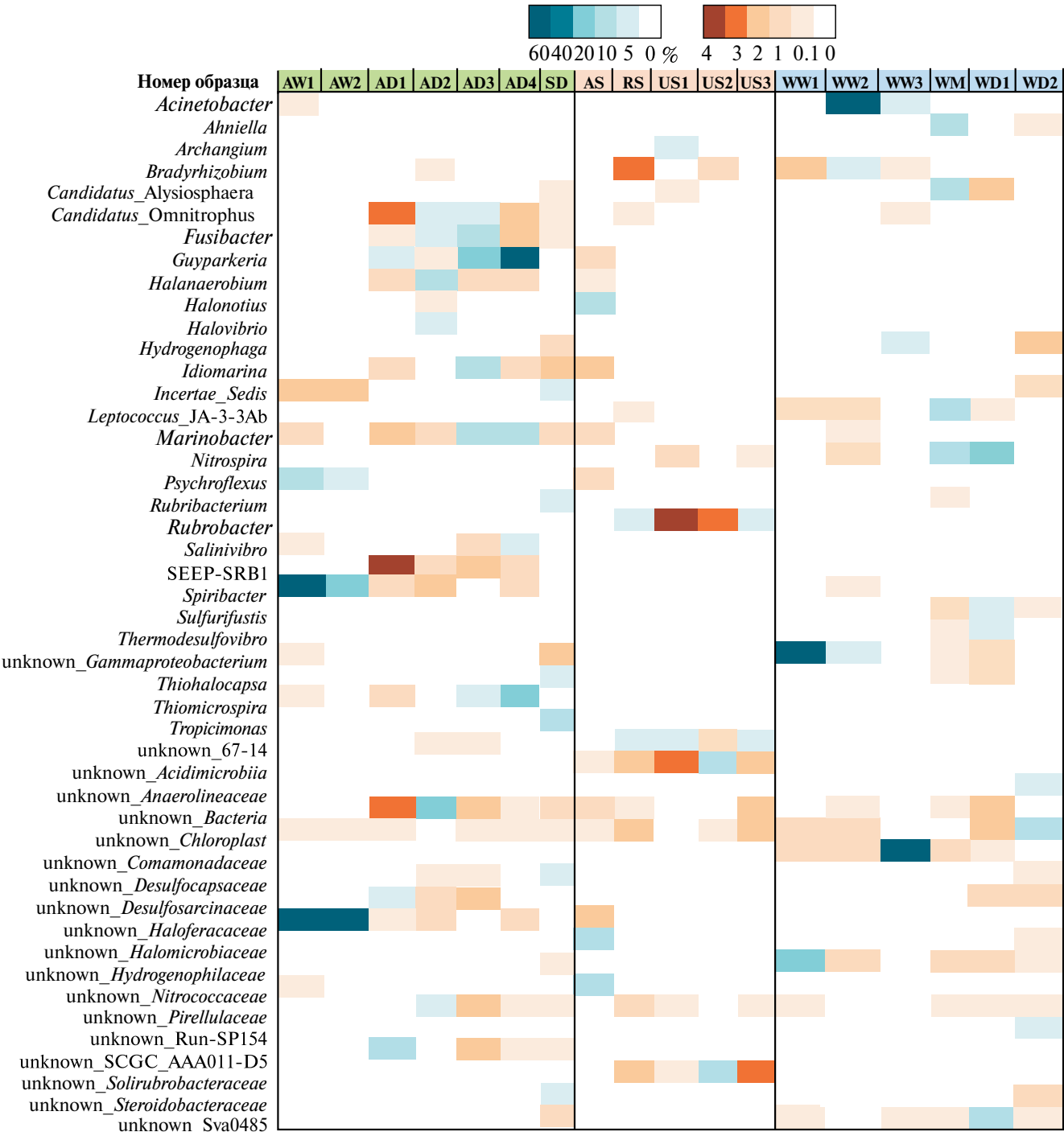


Рис. 3. Тепловая карта, отражающая численность представителей некоторых родов, составляющих более 5% всего сообщества (синий цвет). Коричневым цветом показаны те же представители в количестве менее 5%.

значениях pH отличается от образца AS значительно более низкой минерализацией и содержанием хлоридов и сульфатов.

Образцы почвы плато Устюрт (US1, US2, US3) были отобраны в качестве контроля. Они отличались высокими значениями pH; минерализация и содержание хлоридов и сульфатов примерно соответствовали параметрам, наблюдавшимся в образце ризосферы терескена (RS).

Подземные воды и ручей. Из трех скважин были отобраны образцы изливающейся воды — WW1, WW2 и WW3. Вода поступала с глубины от 560 до 630 м, изливаясь в виде ручьев, протекающих по засоленной почве, аналогичной образцу AS. Были отобраны образцы осадков ручья, вытекающего из скважины WW1 (образцы WD1 и WD2) и микробного мата, развившегося по току этого ручья (образец WM). Исходно температура изливающейся воды достигала значений 41–55°C, причем она не коррелировала с глубиной скважин. Далее по току исследуемого ручья температура постепенно снижалась. Минерализация, наоборот, была минимальной на изливе воды (2.1–2.5 г/л), но повышалась по току ручья, протекающего по засоленной почве, достигая 20 г/л в образце WD2, отобранном в 50 м ниже излива.

Филогенетическое разнообразие микробных сообществ Западного Аральского моря и Южного Приаралья

Общая характеристика. В настоящей работе было проанализировано 18 образцов воды, осадков и грунта из местообитаний, ассоциированных с Аральским морем: морской воды и осадков, осадков обособившегося от Аральского моря оз. Судочье, бывшего дна Аральского моря, пробуренных в нем скважин и вытекающего из одной из них ручья, а также контрольные образцы почвы с плато Устюрт, не подвергавшиеся влиянию Аральского моря и процесса его обмеления.

Исследованные сообщества очень сильно различались между собой даже на уровне филумов (рис. 2).

Наименьшим разнообразием отличались сообщества воды Аральского моря (AW1, AW2), причем отличительной их чертой была значительная представленность галофильного архейного филума *Halobacterota*. В осадках Аральского моря (AD1–4) число присутствующих филумов значительно возросло; наибольшим разнообразием отличались осадки оз. Судочье (SD).

Из исследованных сообществ почвы резко выделяется сообщество грунта, ранее являвшегося дном Аральского моря (AS). Как и в воде, там доминируют представители *Halobacterota*; общее разнообразие филумов незначительно превышает разнообразие в образцах воды. Остальные образцы

почвы, включая ризосферу терескена, выросшего на бывшем дне Аральского моря, были близки между собой и характеризовались важным признаком почвенных сообществ — присутствием значительного количества представителей *Actinomycetota*.

Исходно низкое разнообразие филумов в образцах подземной воды (WW1–3) сменяется значительным их разнообразием в образцах мата и грунтов по течению ручья, вытекающего из скважины № 1 (WW1), подложкой которому служит бывшее дно Аральского моря (WM, WD1 и WD2). Сообщества осадков по составу филумов не напоминают ни воду скважин, ни грунт бывшего Аральского моря, а оказываются наиболее близкими осадкам оз. Судочье. Здесь хорошо представлены *Cyanobacteriota* (образцы MW и WD2); также особенностью сообществ ручья является присутствие значительного количества представителей филума *Nitrospirota*.

Во всех без исключения образцах доминируют представители филума *Pseudomonadota*, однако, учитывая высокое филогенетическое и метаболическое разнообразие внутри этого филума, его высокая представленность не поддается интерпретации.

Разнообразие и количественная характеристика исследованных микробных сообществ на уровне наиболее представленных родов иллюстрируется тепловой картой (рис. 3).

В целом родовое разнообразие подтверждает выводы, сделанные на уровне филумов, однако дает более конкретную информацию о присутствующих в сообществе группах микроорганизмов.

Вода и осадки Аральского моря и оз. Судочье. Образцы воды Аральского моря (AW1 и AW2; рис. 3 и рис. S2), оказались качественно схожими и различались лишь в относительных долях доминирующих групп. Галобактерии оказались представлены членами семейства *Haloferacaceae* (24 и 43% соответственно), включающими три ASV филотипа, до сих пор не полученные в лабораторной культуре. Среди бактерий доминировали бактерии рода *Spiribacter* (семейство *Nitrosococcaceae*) (43 и 36% от общего числа прокариот), представленные во всех образцах тремя ASV филотипами. Также в обоих образцах с долей 6 и 9% присутствовал один ASV филотип бактерии рода *Psychroflexus* (*Bacteroidota*, порядок *Flavobacteriales*). В небольших долях (3% и ниже) присутствовали и другие бактерии, представляющие культивируемые и некультивируемые таксоны, в частности, семейств *Rhodobacteraceae* (9 ASV филотипов) и *Balneolaceae* (4 филотипа).

Образцы осадков более существенно различались по составу на родовом уровне (рис. 3 и рис. S2). В образце, отобранном в приливной зоне и покрытом сверху минеральной коркой (AD1), доминировали разнообразные бактерии (77% от общего числа прокариот), среди которых следует отметить

представителей рода *Guyparkeria* (8%, один ASV фило-тип) и сульфатредуцирующих бактерий филума “*Desulfobacterota*” (29%). Среди них наиболее многочисленными были некультивируемые группы — *Desulfosarcinaceae* (9%), состоящие из 17 фило-типов, и три фило-типа группы SEEP-SR81 (6%). Архей было только 17%, и среди них преобладали некуль-тивируемые *Woesearchaeales* — SCGC AAAB11-D5, всего 33 ASV фило-типа.

В другом образце осадков из приливной зоны (AD2), доминировали представители двух ASV фило-типов рода *Fusibacter* (39%) и 12 ASV фило-типов *Halanaerobium* (11%), а также девять ASV фило-типов “*Candidatus Omnitrophus*” (6%). Археи состав-ляли только 2%, но были достаточно разнообра-зны и представлены 23 ASV фило-типами; среди них можно отметить 12 ASV фило-типов *Halobacterales* и 5 фило-типов некультивируемых предстawi-телей порядка *Woesearchaeales* — группа SCGC AAAB11-D5.

В образцах осадков, взятых в 10 м от берега, также доминировали бактерии: в верхнем слое (AD3) присутствовали два ASV фило-типа бак-терий рода *Guyparkeria* (21%), пять фило-типов *Marinobacter* (12%), три фило-типа *Idiomarina* (9%), один фило-тип *Thiomicrospira* (5%) и два фило-типа *Fusibacter* (7%), а также 17 фило-типов “*Candidatus Omnitrophus*” (5%). В нижнем слое осадков (AD4) состав бактерий был примерно таким же, но зна-чительно возрастали доли *Guyparkeria* (34%), пред-ставленного одним фило-типом, и *Thiomicrospira* (28%, 1 фило-тип); доля рода *Marinobacter* (11%), состоящего из четырех фило-типов, снижалась не-значительно, *Idiomarina* (3 фило-типа) и *Fusibacter* (2 фило-типа) исчезли совсем, в то время как по-явился новый член сообщества — *Salinivibrio* (7%, 1 фило-тип).

Осадки оз. Судочье (SD) существенно отлича-лись от осадков Аральского моря, в первую оче-редь присутствием цианобактерий, причем помимо *Synechococcus* (1 фило-тип) и *Cyanobium* (4 фило-типа), значительную часть всех *Cyanobacteriota* (23%) составляли семь разных видов (фило-типов) хлоро-пластов (рис. 3 и рис. S2). Класс *Alphaproteobacteria* (12% от всех прокариот, 36 фило-типов) был представлен разнообразными родами, среди ко-торых доминировали *Tropicimonas* (1 фило-тип), *Rubribacterium* (2 фило-типа) и *Porphyrobacter* (2 фи-ло-типа). Среди *Gammaproteobacteria* (33 фи-ло-типа) выделялись микроорганизмы цикла серы: *Thiobacillus* (1 фило-тип) и семейство *Chromatiaceae* (10 фило-типов), в том числе *Thiocapsa* (2 фи-ло-типа), *Thiohalocapsa* (1 фило-тип) и некультиви-руемые роды. Филум “*Desulfobacterota*”, включав-ший 28 фило-типов, в образце SD был представлен разнообразными сульфатредуцирующими бак-териями: родом *Desulfatiglans* (7 фило-типов) и се-мейством *Desulfosarcinaceae*, в котором наиболее

значительную долю (21%) занимала некультиви-руемая группа SVA 0081 (2 фило-типа). Также до-статочно многочисленными были представите-ли семейства *Desulfocapsaceae* (3% от всех прока-риот, 6 фило-типов). Интересно, что 12% от всех “*Desulfobacterota*” приходилось на бактерии *incertae cedis* — микроорганизмы неопределенного таксо-номического положения, по всей видимости, пред-ставляющие глубокие филогенетические линии. Филум *Planctomycetota* включал 19 фило-типов (4% от всех прокариот) и был в равной доле представ-лен классами *Planctomycetia* (38%, 9 фило-типов) и *Phycisphaerae* (37%, 8 фило-типов); оставшиеся 25% составляли некультивируемые планктоми-цеты (4 глубоких линий уровня класса). Филум *Verrucomicrobiota* (12 фило-типов), также был пред-ставлен в основном некультивируемыми организ-мами, в том числе “*Candidatus Omnitrophus*” (1 фи-ло-тип) и пятью фило-типами класса *Kiritimatiellae* (1% от общего числа прокариот). Археи оз. Су-дочье составляли 1.6% от всего сообщества прока-риот и были представлены тремя ASV фило-ти-пами *Woesearchaeales* (62%), двумя фило-типами *Thermoplasmata* (18%), причем основным компо-нентом *Thermoplasmata* были представители Marine Benthic Group D и DHVEG-1, и одним фило-типом *Bathymarchaeia* (12%). *Halobacterota* (1 фило-тип) со-ставили 5% от всех архей и были представлены ро-дом *Haladaptatus* (1 фило-тип).

Грунты и почвы. В образце бывшего дна Араль-ского моря (AS) археи были в основном (95%) пред-ставлены разнообразнейшими *Halobacterota* (12%, 65 фило-типов), среди которых наиболее массовыми были представители семейства *Haloferacaceae*: роды *Halonotius* (10% от всех прокариот, 5 фило-типов) и *Halorubrum* (5%, 3 фило-типа), оба относящиеся к семейству (рис. 3 и рис. S3). Также значительная доля микробиома приходилась на 6 фило-типов не-культивируемых архей семейства *Halomicrobiaceae* (всего 24 фило-типа; 4% от всех прокариот). 1.9% всего сообщества приходилось на пять фило-типов *Nanosalinaceae*, которые характеризуются нано-размерными клетками и, возможно, симбиотиче-ским образом жизни (Zhao et al., 2022). Бактерии были очень разнообразны: наиболее массовой фор-мой (15% от всех прокариот, три ASV фило-типа) были некультивируемые представители семейства *Nitrococcaceae* (класс *Gammaproteobacteria*); по 3% приходилось на роды из 5 фило-типов *Halomonas*, 1 фило-тип *Aquisalimonas*, *Aliidiomarina* (4.8%, 1 фи-ло-тип), также относящиеся к этому классу.

В образце почвы, являвшемся ризосферой те-рескена (*K. ewresmanniana*), профиль сообщества абсолютно изменялся. Археи составляли все-го 4%, и на 99% были представлены семейством *Nitrososphaeraceae* (9 фило-типов) (рис. 3 и рис. S3). Остальные 96% были представлены бакте-риями, причем *Pseudomonadota* составляли только 24% от общего числа прокариот, среди которых

доминировали не *Gamma*-, а *Alfaproteobacteria*. Единственным родом в этой группе, доля которого достигала 4% от общего числа прокариот, был род *Skermanella* (сем. *Azospirillaceae*). 8% от всех прокариот приходилось на филум *Bacteroidota* (23 филотипа), 33% — на филум *Actinomycetota* (57 филотипов), представленный родом *Rubrobacter* (класс *Rubrobacteria*, 6 филотипов, 5.6%), а также некультивируемыми представителями класса *Acidimicrobia* и семейства *Solirubrobacteraceae* (класс *Thermoleophilia*, 3 филотипа). В филуме *Chloroflexota* (10% от всех прокариот в образце) доминировали некультивируемые *Thermomicrobiales* (7 филотипов), относящиеся к группе JG30-KFCM45. *Planctomycetota* (18 филотипов) составляли 5% от всех прокариот и были представлены классами *Planctomyces* (75%, в основном некультивируемые представители семейств *Pirellulaceae*, 9 филотипов), *Isosphaeraceae* (3 филотипа), *Gemmataceae* (3 филотипа), а также тремя филотипа *Phycisphaerae* (WD2101 soil group).

Микробные профили образцов почв плато Устюрт неожиданно оказались сходными с микробным сообществом ризосферы *K. ewersmanniana*. Главной общей чертой всех почвенных образцов и образца ризосферы оказалось присутствие тех же представителей филума *Actinomycetota* — *Rubrobacter*, некультивируемых *Acidimicrobia* и *Solirubrobacteraceae*. Среди *Chloroflexi* во всех образцах существенное место занимали *Thermomicrobiales*, представленные некультивируемым таксоном JG30-KF-CM45. В образце US2, так же как и в ризосфере терескена, присутствовали бактерии рода *Bradirhizobium*, в образце US1 — бактерии рода *Skermaniella* (рис. S4).

Подземные воды и ручьи. Подземные воды локализованы на глубине 560–630 м под бывшим дном Аральского моря и обладают крайне низкой минерализацией. В этих образцах преобладали бактерии филума *Pseudomonadota* (от 83 до 88% от общего числа прокариот), причем во всех трех случаях это были бактерии класса *Gammaproteobacteria*. Доминирующие организмы при этом в каждом случае были различными (рис. 3 и рис. S5). В образце воды WW1 43% от общего микробного разнообразия приходилось на четыре филотипа рода *Thiobacillus*, 25% — на некультивируемые *Gammaproteobacteria*; в этом образце присутствовали также представители 34 филотипов *Bacillota* (7%), *Actinomycetota* (3%, 19 филотипов), два филотипа *Desulfobacterota* (2%). В образце WW2 доминирующим родом с долей 60% был род *Acinetobacter* в виде трех филотипов; присутствовали также представители родов, *Thiobacillus* (6%, 4 филотипа), один филотип *Aquabacterium* (4%), один филотип *Bradyrhizobium* (5%). В образце WW3 первое место занимает семейство *Comamonadaceae* (65%), за ним следуют два филотипа *Hydrogenophaga* (6%) и два филотипа *Sphingomonas* (4%).

На изливе воды из скважины K1 развивается зеленый мат (образец WM). Основными продуцентами органического вещества в нем являются цианобактерии (15% от всех прокариот), причем доминирует среди них один филотип — *Leptococcus*. Другой массовой группой в образце зеленого мата является филум *Nitrospirota*, представленный практически единственным родом — *Nitrospira*, в состав которого входят три филотипа (18% от всех прокариот). Вместо *Gammaproteobacteria* в цианобактериальном мате доминируют *Alfaproteobacteria*, доля которых возросла до 26%; наиболее массовой формой там является “*Candidatus Alysiosphaera*”, представленные тремя филотипами (11%; семейство *Genuinicoccaceae*).

В сообществе черно-рыжего осадка, находящегося под цианобактериальным матом (образец WD1), снова обнаруживается высокое содержание бактерий филума *Nitrospirota* (29%), в том числе представителей собственно рода *Nitrospira*, включающего в себя два филотипа (20%), один филотип *Thermodesulfovibrio* (5%) и пять некультивируемых филотипов класса *Thermodesulfovibronia* (3.3%). Помимо *Thermodesulfovibrio*, в цикле серы в этом сообществе могут участвовать шесть некультивируемых филотипов некультивируемой группы Sva0485 (11%), для которой была показана способность к сульфатредукции, и бактерии рода *Sulfurifustis* (6%, 1 филотип), окисляющие соединения серы. Интересно также присутствие в сообществе бактерий рода “*Candidatus Brocadia*” (1 филотип, 2.7%), осуществляющих анаэробное окисление аммония.

И еще больше возрастает разнообразие прокариот в образце WD2 — черном осадке в 50 м от излива скважины — большинство прокариот в нем представлены долями менее 3%. Исключение составляют хлоропласты, говорящие о присутствии в сообществе эукариотных водорослей — 15%. Следует отметить также присутствие в сообществе пяти филотипов некультивируемых *Gammaproteobacteria*, обозначаемых индексом Run-SP154 (2%), и десяти некультивируемых ASV филотипов *Anaerolineaceae* (6.4%). На *Desulfobacterota* приходился 21 филотип, что составляет 8.5% от всего сообщества.

ОБСУЖДЕНИЕ

В этой работе мы исследовали разнообразие прокариот в трех группах местообитаний: (1) водоемов — современного Западного Аральского моря и озера Судочье, в прошлом соединенного с морем протокой (вода и осадки); (2) почвы, являвшейся ранее дном Аральского моря, в том числе в области ризосферы произрастающего на ней растения; (3) сообществ, развивающихся на бывшем дне Аральского моря при увлажнении его водой, вытекающей из пробуренной скважины. В результате анализа варибельного участка гена 16S рРНК

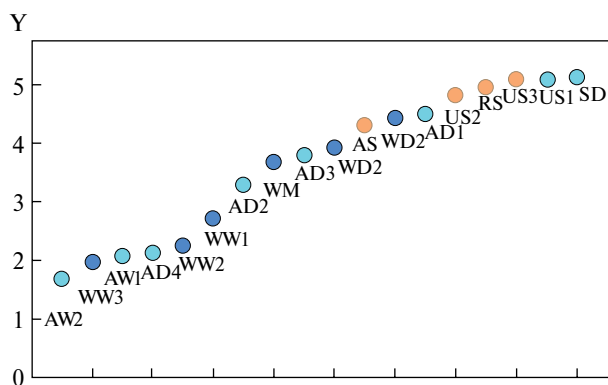


Рис. 4. Индекс разнообразия Шеннона (ось Y). Наименьшее разнообразие ASV филотипов наблюдается в образцах AW2, WW3, AW1, AD4 и WW2. Наибольшее разнообразие ASV филотипов выявлено в образцах ризосферы (RS), с плато Устюрт и из оз. Судочье (SD).

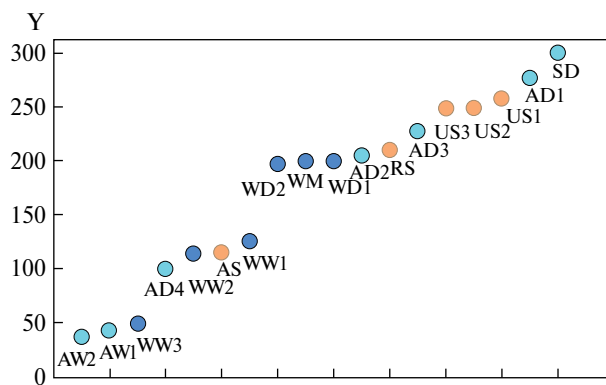


Рис. 5. Богатство (Richness) ASV филотипов. Ось Y — количество ASV филотипов. Наименьшее количество филотипов представлено в образцах AW2, AW1 и WW3. Наибольшее количество филотипов представлено в образце SD (оз. Судочье).

архей и бактерий исследованные сообщества были охарактеризованы по уровню имеющегося в них разнообразия прокариот. На рис. 4 представлены значения индекса Шеннона для исследованных местообитаний.

Наименьшим разнообразием отличаются сообщества воды Аральского моря с минерализацией 22%. Значительную часть обитающих в воде Аральского моря прокариот составляют некультивируемые археи семейства *Haloferacaceae* — их средняя доля, вычисленная на основании двух независимых измерений, составляла 33%. Представители *Haloferacaceae* являются облигатными аэробами и органотрофами, экстремальными галофилами, растущими в интервале солености от 2.5 до 5.2 мМ. Бактериальная часть сообщества воды Аральского моря представлена разнообразными бактериями, также аэробами и органотрофами. И в том, и в другом исследованном образце доминировали три фило типа бактерий рода *Spiribacter* (среднее содержание 39%), типовой вид которого был выделен из солеварни в Испании (Leon et al., 2014). Этот организм также является аэробным органотрофом, но уже умеренным галофилом, растущим в интервале 10–25% NaCl. Из других обнаруженных в воде Аральского моря бактерий (8.5% от всего сообщества) можно отметить один фило тип представителей рода *Psychroflexus* (Bowman et al., 1998) — аэробных органотрофов, среди которых имеются и мезофильные, умеренно-галофильные виды (Donachie et al., 2004). Следует отметить полное отсутствие фототрофных прокариот в образцах воды Аральского моря; можно предположить, что энергетическими субстратами эту экосистему обеспечивают микроскопические эукариоты, не учтенные в этом исследовании.

Еще одной группой образцов с низким значением индекса Шеннона были образцы воды из глубинных скважин, что соответствует представлению

о подземной биосфере как крайне разреженной. Наконец, низкое разнообразие было выявлено в одном из образцов донных осадков (AD4), представляющем собой нижнюю часть 40 см керна, что, видимо, объясняется малым притоком энергетических субстратов в нижние слои осадков. Те же самые образцы, которые характеризуются низкими значениями индекса Шеннона, оказались наиболее бедными с точки зрения видового богатства (рис. 5).

Оба использованных индекса возрастают в случае трех оставшихся образцов осадков Аральского моря (рис. 4 и 5). В образцах AD1–3 архей значительно меньше, чем в воде (от 2 до 17%), и среди них доминируют некультивируемые представители *Woesearchaeales*, причем везде одной и той же группы — SCDC AAA B11-D5. Среди бактерий, обитающих в осадках Аральского моря, присутствуют аэробные (*Marinibacter*, *Idiomarina*), факультативно-анаэробные (*Salinivibrio*) и облигатно-анаэробные (*Halanaerobium*, *Fusibacter*) органотрофы. Разнообразие и обилие сульфатредуцирующих (*Desulfobacterota*) и сероокисляющих (*Thiomicrospira*, *Guyparkeria*) свидетельствует об активно протекающем в осадках Арала цикле серы, что коррелирует с высоким содержанием в них сульфатов (от 8 до 29 г/л).

Нельзя не обратить внимание на присутствующую в некоторых образцах осадков некультивируемую бактерию “*Candidatus Omnitrophus*”. Ее доля составляет 5–6% от общей численности прокариот, и появляется она в осадках с преобладанием анаэробных условий — черном сероводородном или прибрежной зоны (образец AD2) или нижнем горизонте осадков, отобранных в 10 м от берега (AD3). “*Omnitrophota*” — недавно описанная глубокая линия уровня филума, которая повсеместно распространена, однако обычно ее доля не превышает 0.1%. Культивировать эти бактерии до сих пор не удавалось, однако сведения об

их метаболизме и образе жизни удалось воссоздать путем single-cell секвенирования (Perez-Molphe-Montoya et al., 2022). Исследованные нами местообитания с относительно высоким содержанием “*Omnitrophota*” могут стать оптимальным полигоном для их исследования.

Микробное сообщество бывшего дна Аральского моря, представляющего теперь засоленный песок, по своему составу оказались ближе к сообществам воды Арала, чем к осадкам, в первую очередь по примерно равным долям архей и бактерий и доминированию *Halobacterota*. Оно находится в середине графика, характеризующего индекс Шеннона (рис. 4) и в нижней части графика, иллюстрирующего видовое богатство исследуемых сообществ (рис. 5). Однако проведенные нами исследования того же грунта, но подвергнутого влиянию произрастающего на нем растения или изливающейся из глубинной скважины воды, показывают, как легко возвращается микробное разнообразие при снижении минерализации. Так, в ризосфере растущего на этом же засоленном песке растения минерализация резко падает, и одновременно меняется состав сообщества, приобретая черты почвы, характерной для плато Устюрт (рис. 4 и 5). Точно так же увлажнение песка водой из скважины, содержащей крайне бедный микробиом, дает возможность развиваться цианобактериальным матам и сопутствующим им органотрофам, осуществляющим разложение новообразованного органического вещества (рис. 4 и 5).

Наконец, самым богатым из всех исследованных образцов с точки зрения разнообразия является озеро Судочье. Ранее оно подпитывалось водами Амударьи и соединялось протокой с Аральским морем. Так же как и Аральское море, в связи с развитием системы оросительных каналов оз. Судочье стало пересыхать, однако затем его водный режим был восстановлен, в основном за счет отвода воды из Амударьи через систему коллекторов. Согласно нашим данным, сейчас минерализация воды в оз. Судочье составляет 1%, что соответствует минерализации Аральского моря до его обмеления. В осадках озера Судочье мы обнаружили большое разнообразие бактерий. Прежде всего, здесь, в отличие от осадков Аральского моря, присутствовали значительно более разнообразные фототрофы, в том числе пурпурные несерные бактерии рода *Rubribacterium* (9%), ранее найденные в содовых озерах (Болдарева и соавт., 2009). Цианобактерии — главным образом *Synechococcus* и *Cyanidium* — также присутствовали в значительном количестве (7%); можно предположить, что доля фототрофных прокариот в толще воды озера была еще выше. Аэробные и анаэробные органотрофы и бактерии цикла серы в оз. Судочье были гораздо разнообразнее, чем в Аральском море, в результате чего явно доминирующие группы практически отсутствовали. Как и в осадках Аральского моря, археи в оз.

Судочье были немногочисленны; доминировали те же *Woesearchaeales*, в то время как на *Halobacterota* приходилась лишь малая часть архей. Таким образом, в оз. Судочье сохраняется богатство таксонов, видимо, свойственное Аралу до его обмеления.

Итак, наиболее бедными с точки зрения разнообразия оказались местообитания с высоким содержанием соли: вода Аральского моря и его бывшее дно. Одновременно любое снижение солености — в ризосфере растения или за счет излива подземной воды из скважины — немедленно отражается в увеличении микробного разнообразия, как филогенетического, так, вероятно, и метаболического.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность С. С. Буриеву и А. И. Кулонову за помощь в организации экспедиции и отборе природных образцов, Н. Ю. Бешко за идентификацию растений-галофитов и А. Р. Строевой за помощь в выделении ДНК.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Основные работы выполнены при поддержке проекта А-ФА-2021–428 “Микробные сообщества современного Арала и зон Приаралья: разнообразие, свойства и биотехнологический потенциал”. Работы по анализу результатов секвенирования были выполнены при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались люди или животные.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Отбор образцов — Н. А. Черных, А. Ю. Меркель, А. И. Слободкин, Ж. Э. Алимов; физико-химическая характеристика — К. В. Кондрашева; выделение метагеномной ДНК — Н. А. Черных, А. Ю. Меркель; баркодирование и пулирование библиотек генов 16S рРНК — А. А. Клюкина; секвенирование библиотек генов 16S рРНК — А. Ю. Меркель; профилирование микробного сообщества на основе результатов секвенирования — А. Ю. Меркель; анализ данных и подготовка статьи — Н. А. Черных, А. Ю. Меркель, А. И. Слободкин, К. Д. Давранов, Е. А. Бонч-Осмоловская;

руководство проектом — К. Д. Давранов, Е. А. Бонч-Осмоловская. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Alexyuk M., Bogoyavlensky A., Alexyuk P., Molakhanov Y., Berezin V., Diegel I. Epipelagic microbiome of the Small Aral Sea: metagenomic structure and ecological diversity // *Microbiol. Open*. 2021. V. 10. Art. e1142 <https://doi.org/10.1002/mbo3>
- Aripov T. F., Kukanova S. I., Zaynitdinova L. I., Tashpulatov J. J. Microorganisms of the extreme zones of the Southern Aral Sea region // *BioTechnology: an Indian Journal*. 2016. V. 12. P. 1–7.
- Bowman J. P., McCammon S. A., Lewis T., Skerratt J. H., Brown J. L., Nichols D. S., McMeekin T. A. *Psychroflexus torquis* gen. nov., sp. nov., a psychrophilic species from Antarctic sea ice, and reclassification of *Flavobacterium gondwanense* (Dobson et al. 1993) as *Psychroflexus gondwanense* gen. nov., comb. nov. // *Microbiology (Reading)*. 1998. V. 144. P. 1601–1609.
- Callahan B. J., McMurdie P. J., Rosen M. J., Han A. W., Johnson A. J., Holmes S. P. Dada2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data // *Nat. Methods*. 2016. V. 13. P. 581–587.
- Callahan B., McMurdie P., Holmes S. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis // *ISME J*. 2017. V. 11. P. 2639–2643.
- Caruso V., Song X., Asquith M., Karstens L. Performance of microbiome sequence inference methods in environments with varying biomass // *mSystems*. 2019. V. 4. Art. e00163–18. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00163-18>
- Donachie S. P., Bowman J. P., Alam M. *Psychroflexus tropicus* sp. nov., an obligately halophilic Cytophaga–Flavobacterium–Bacteroides group bacterium from an Hawaiian hypersaline lake // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2004. V. 54. P. 935–940.
- Fadrosh D. W., Ma B., Gajer P., Sengamalai N., Ott S., Brotman R. M., Ravel J. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform // *Microbiome*. 2014. V. 2. Art. 6. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-6>
- Jiang H., Huang J., Li L., Huang L., Manzoor M., Yang J., Wu G., Sun X., Wang B., Egamberdieva D., Panosyan H., Birkeland N. K., Zhu Z., Li W. Onshore soil microbes and endophytes respond differently to geochemical and mineralogical changes in the Aral Sea // *Sci. Total Environ.* 2021. V. 765. Art. 142675. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142675>
- Lagkouvardos I., Fischer S., Kumar N., Clavel T. Rhea: a transparent and modular R pipeline for microbial profiling based on 16S rRNA gene amplicons // *PeerJ*. 2017. V. 5. P. 2836–2840.
- León M. J., Fernández A. B., Ghai R., Sánchez-Porro C., Rodríguez-Valera F., Ventosa A. From metagenomics to pure culture: isolation and characterization of the moderately halophilic bacterium *Spiribacter salinus* gen. nov., sp. nov. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80. P. 3850–3857.
- Merkel A. Y., Tarnovetskii I. Y., Podosokorskaya O. A., Toshchakov S. V. Analysis of 16S rRNA primer systems for profiling of thermophilic microbial communities // *Microbiology (Moscow)*. 2019. V. 88. P. 671–680.
- Perez-Molphe-Montoya E., Küsel K., Overholt W. A. Redefining the phylogenetic and metabolic diversity of phylum *Omnitrophota* // *Environ. Microbiol.* 2022. V. 24. P. 5437–5449.
- Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P., Peplies J., Glöckner F. O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. P. 590–596.
- Shurigin V., Hakobyan A., Panosyan H., Egamberdieva D., Davranov K., Birkeland N. K. A glimpse of the prokaryotic diversity of the Large Aral Sea reveals novel extremophilic bacterial and archaeal groups // *Microbiology Open*. 2019. V. 8. P. 850–865.
- Stulina G., Verkhovtseva N., Gorbacheva M. Composition of the microorganism community found in the soil cover of the dry seabed of the Aral Sea // *J. Geosci. Environ. Prot.* 2019. V. 7. P. 1–23. <https://doi.org/10.4236/gep.2019.78001>
- Zhao D., Zhang S., Kumar S., Zhou H., Xue Q., Sun W., Zhou J., Xiang H. Comparative genomic insights into the evolution of *Halobacteria*-associated “*Candidatus* Nanohaloarchaeota” // *mSystems*. 2022. V. 7. P. 669–691. <https://doi.org/10.1128/msystems.00669-22>

At Shores of a Vanishing Sea: Microbial Communities of Aral and Southern Aral Sea Region

N. A. Chernyh^{1, *}, A. Yu. Merkel¹, K. V. Kondrasheva¹, Zh. E. Alimov³, A. A. Klyukina¹,
E. A. Bonch-Osmolovskaya^{1, 3}, A. I. Slobodkin¹, K. D. Davranov²

¹Winogradsky Institute of Microbiology, FRC Fundamentals of Biotechnology,
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²Institute of Microbiology, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

³International Agricultural University, Tashkent, Uzbekistan

⁴Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*e-mail: chernyh3@yandex.com

Abstract—Since the early 60s of the 20th century, as a result of agricultural development in the irrigated areas of Uzbekistan, the area of the Aral Sea has decreased by 90%, while the water salinity has increased from 1‰ to 20‰. The aim of our work was to investigate the diversity of microbial communities of water and sediments of the Western Aral Sea, as well as of the adjacent soils and reservoirs using high-throughput sequencing of the 16S rRNA genes variable V4 region. It was found that the Aral Sea water with a salinity of 22‰ was dominated by uncultured *Archaea* of the family *Haloferacaceae* (22–43%), as well as by bacteria of the genera *Spiribacter* and *Psychroflexus*. In the Aral Sea sediments the share of archaea was much lower (2–17%), and among them the uncultured *Woesearchaeales* predominated. Among bacteria, dominating in Aral sediments, there were sulfate reducers of the phylum ‘*Desulfobacterota*’, as well as representatives of the genera *Fusibacter*, *Halanaerobium*, *Guyparkeria*, *Marinobacter*, *Idiomarina* and *Thiomicrospira*. In soil samples of the former Aral Sea bed with salinity of 8.2‰, a variety of archaea of the phylum *Halobacterota* were present, as well as uncultured bacteria of the family *Nitrosococcaceae*. However, in the rhizosphere of Ewresmann’s teresken plant (*Kraschenninikovia ewresmanniana*) growing there, archaea accounted for only 4% and mainly represented the family *Nitrososphaeraceae*. 33% of all prokaryotes in the rhizosphere microbiome were the uncultured representatives of the phylum *Actinomycetota*. The microbial community of the teresken rhizosphere turned out to be similar to the microbial communities of the soil of the Ustyurt plateau, located in 3 km from the Aral Sea shore. The fresh water flowing along the former Aral Sea bed from an artificially drilled well also causes significant changes in the microbial communities: cyanobacterial mats and associated organotrophic bacteria develop along the stream bed with the increasing salinity (0.5–2‰). Finally, the greatest diversity of prokaryotes was found in the microbial community of Sudochie Lake sediment with salinity of 1‰, which is probably a modern analogue of the Aral Sea microbiome before its shallowing.

Keywords: Aral Sea, 16S rRNA gene sequencing, microbial communities, halophilic microorganism

