



УДК 579.262: 593.437(282.256.341)

## Генетическое разнообразие бактериальных сообществ, ассоциированных с большими губками озера Байкал

А. Ю. Краснопеев<sup>1</sup>, Н. А. Букшук<sup>1</sup>, С. А. Потапов<sup>1</sup>,  
Н. Дамдинсурэн<sup>2</sup>, И. В. Ханаев<sup>1</sup>, В. В. Дрюккер<sup>1</sup>, О. И. Бельх<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лимнологический институт СО РАН, Иркутск

<sup>2</sup>Монгольский государственный университет, Улан-Батор

E-mail: [belykh@lin.irk.ru](mailto:belykh@lin.irk.ru)

**Аннотация.** С помощью высокопроизводительного секвенирования выявлены таксономический состав и структура микробных сообществ байкальских эндемичных губок, отобранных во время массовой гибели этих животных. В бактериальном сообществе *L. baicalensis* определены 23 филы, в сообществе *B. intermedia* – 19 фил, мажорными были филы Cyanobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia. В исследуемых сообществах преобладали филотипы хлоропластных геномов водорослей, нитчатых цианобактерий, образующих биоплёнки на поверхности губок, пурпурных, хемоорганогетеротрофных, метанотрофных, сульфат- и нитратредуцирующих бактерий. Состав и структура мажорных и минорных фил, доминирующих филотипов в микробиомах больных губок значительно отличались от таковых у здоровых животных.

**Ключевые слова:** губки, *Lubomirskia baicalensis*, *Baikalospongia intermedia*, бактерии, цианобактерии, высокопроизводительное секвенирование.

### Введение

Губки (тип Porifera) – одни из самых древних многоклеточных организмов. Губки характеризуются модульным строением и представляют собой ассоциированный комплекс с автофототрофными (водоросли, цианобактерии) и гетеротрофными (бактерии, археи, простейшие и грибы) микроорганизмами. Симбиотические связи между губками и микроорганизмами образовались более 500 млн лет назад [17]. Гетеротрофные бактерии составляют значительную часть губки, иногда до 40 % биомассы, их численность достигает  $10^8$ – $10^9$  кл./г веса губки [15]. В настоящее время с помощью генетических исследований и методов культивирования выявлены три экологических типа бактерий, образующих микробные сообщества губок. Это облигатные видоспецифичные бактерии; бактерии, обитающие в разных видах губок, но не обнаруженные в воде; бактерии-космополиты, живущие в губках и в окружающей их среде [6]. Практически все жизненные функции губок тесно связаны с осуществлением непрерывного тока воды через тело. Губка прокачивает через себя значительные объёмы воды, извлекая из неё пищевые частицы, кислород и выбрасывая продукты жизнедеятельности [21].

Губки – одна из доминирующих групп бентосной фауны оз. Байкал. Они встречаются здесь практически повсеместно и заселяют глубины от 0,5 м до 1 450 м [2; 3]. Биомасса губок может достигать значительных величин – до 4 кг/м<sup>2</sup>, что превышает общую биомассу всех прочих донных животных [5]. В Байкале наиболее широко распространены представители эндемичного семейства *Lubomirskiidae*, включающего роды *Lubomirskia*, *Baikalospongia* и *Swartschewskia*.

Скорость фильтрации воды байкальской губкой *Lubomirskia baicalensis* составляет 4–5 л воды в сутки на 1 кг веса губки [7], что говорит о весомом вкладе этих животных в очищение воды. С другой стороны, непрерывный ток воды через тело губки обеспечивает активный контакт с окружающей средой. В связи с этим именно губки могут оказаться наиболее подверженными влиянию неблагоприятных факторов, таких как повышение концентрации биогенов, патогенные микроорганизмы, различного рода загрязнения.

Начиная с 2011 г. на оз. Байкал наблюдается массовое заболевание губок, при этом во многих случаях на поверхности губок в большом количестве развивались нитчатые цианобактерии, в том числе продуценты токсинов [10; 20]. Доля поражённых ветвистых губок *L. baicalensis* на разных точках отбора проб составила от 30 до 100 % особей [20].

Первое исследование состава микробных сообществ байкальских губок *L. baicalensis* и *Baikalospongia* sp. с помощью высокопроизводительного секвенирования выполнено в 2010 г. [1]. В 2012 г. кроме представителей этих двух родов методом NGS проведено изучение микробиома губки *Swartschewskia papyracea* [9]. Полученные данные дали возможность сравнить микробиомы здоровых губок и губок, отобранных во время их массовой гибели в 2015 г.

Цель настоящей работы – оценить таксономический состав и структуру бактериальных сообществ больных губок *L. baicalensis* и *B. intermedia*.

### **Материалы и методы**

Ветвистая губка *L. baicalensis* и корковая губка *B. intermedia* собраны водолазами-исследователями в марте 2015 г. в Южном Байкале в бух. Бол. Коты с глубины 4–10 м. Для анализа отобраны фрагменты тела губок, покрытые биоплёнками бордово-фиолетового цвета.

Для качественной оценки цианобактерий и водорослей образцы губок и биоплёнок фиксировали формалином (конечная концентрация 2 %) и наблюдали в световой микроскоп, как описано в [10]. Фиксацию губок для определения видов проводили 70%-ным этанолом. Препараты скелета и спикул готовили согласно ранее опубликованным методикам [2; 3].

Суммарную ДНК из образцов губок выделяли с помощью набора “ДНК-Сорб В” («ИнтерЛабСервис», Россия) согласно протоколу производителя. Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК, содержащего вариабельные районы V1-V3, проводили с использованием праймеров 343F (5'-CTCCTACGGRRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'). Секвенирование выполнено на платформе «Illumina» с набором реагентов MiSeq 500-cycle PE kit в приборном центре коллективного пользова-

ния СО РАН «Геномика» (Новосибирск). Максимальная длина полученных последовательностей составила 450 нуклеотидов, средняя длина 434 п. н., химерные последовательности, синглтоны и последовательности короче 300 нуклеотидов были исключены из анализа.

Обработка данных секвенирования проведена на базе ЦКП «Иркутский суперкомпьютерный центр СО РАН».

Для анализа массивов последовательностей использовали программу Mothur v.1.36.0 [22]. Полученные последовательности были классифицированы с использованием референсной базы данных последовательностей 16S рРНК SILVA Release 123 (<http://www.arb-silva.de/>).

Кластеризацию осуществляли на разных уровнях, характеризующихся различными расстояниями между кластерами (от 0 до 0,1 с шагом 0,01). Выделение филотипов (Operational Taxonomic Unit, OTU) проводили при кластерном расстоянии 0,03; оценку таксономической сложности сообществ – на разных уровнях сходства, соответствующих следующим таксонам: вид – 0,03, род – 0,05, семейство – 0,1. Поиск и определение ближайших гомологов для выделенных репрезентативных последовательностей каждой OTU проводили при помощи инструмента BLAST базы данных нуклеотидных последовательностей GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

### **Результаты и обсуждение**

Отобранные образцы губок по данным микроскопического наблюдения были определены как *L. baicalensis* и *B. intermedia*. Обрастающие губки, состояли из нитчатых цианобактерий и диатомовых водорослей, среди которых доминировали цианобактерии порядка Oscillatoriales с трихомами буро-фиолетового цвета. В теле губки наблюдали цианобактерии и водоросли шаровидной формы размером менее 3 мкм.

В составе бактериальных сообществ исследуемых губок выявлено 90 079 последовательностей гена 16S рРНК: для *L. baicalensis* количество последовательностей достигло 44 660, для *B. intermedia* – 45 419. Оценка таксономической сложности сообществ на основе анализа кривых накопления видов показала, что выполненный объем секвенирования достаточен для полного описания сообщества губок (рис. 1). Согласно индексам Chao1, ACE, Shannon и количеству OTU наибольшим видовым богатством и более сложной структурой сообщества характеризуется *L. baicalensis* (табл.). Полученные показатели у байкальских губок были ниже в период массовой гибели, чем у здоровых, отобранных в июне 2010 г. [1] и в августе 2012 г. [9].

В ходе филогенетического анализа последовательностей, полученных из образцов больных губок и их последующей кластеризации, в бактериальном сообществе *L. baicalensis* определены 23 филы, у *B. intermedia* выявлено 19 фил (рис. 2, 3). В микробиомах обеих губок доминировали Cyanobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia (см. рис. 2). У здоровых байкальских губок обнаружили меньшее разнообразие бактериальных фил, а в число мажорных входили также Bacteroidetes и Planctomycetes [1; 4; 6].

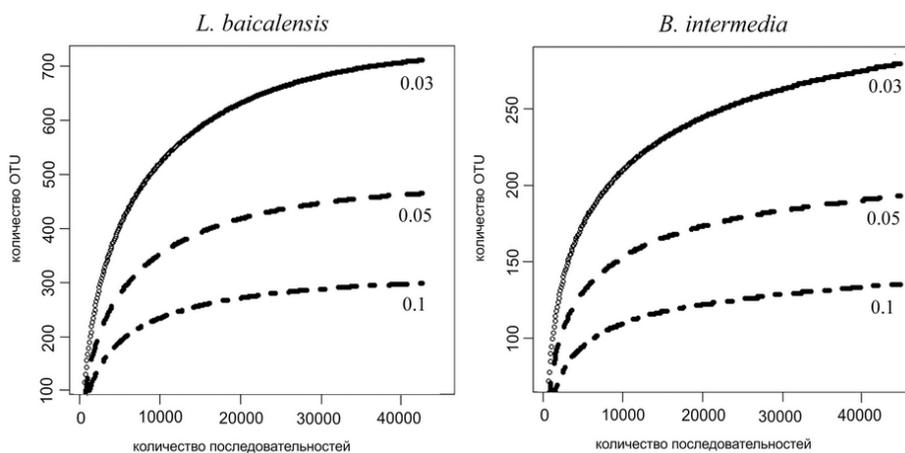


Рис. 1. Кривые насыщения на разных уровнях кластеризации последовательностей от 0,03 (вид) до 0,1 (семейство) для образцов больных губок *L. baicalensis* и *B. intermedia*

Таблица

Оценка видового разнообразия и таксономической сложности микробных сообществ больных губок *L. baicalensis* и *B. intermedia*

| Образец               | Кластерное расстояние | Число последовательностей | Число OTU | ACE | Chao1 | Shannon |
|-----------------------|-----------------------|---------------------------|-----------|-----|-------|---------|
| <i>L. baicalensis</i> | 0,03                  | 44 660                    | 718       | 739 | 727   | 3,42    |
|                       | 0,05                  |                           | 686       | 482 | 477   | 3,06    |
|                       | 0,1                   |                           | 304       | 310 | 307   | 2,86    |
| <i>B. intermedia</i>  | 0,03                  | 45 419                    | 285       | 307 | 306   | 2,4     |
|                       | 0,05                  |                           | 259       | 208 | 220   | 2,22    |
|                       | 0,1                   |                           | 140       | 150 | 163   | 2,04    |

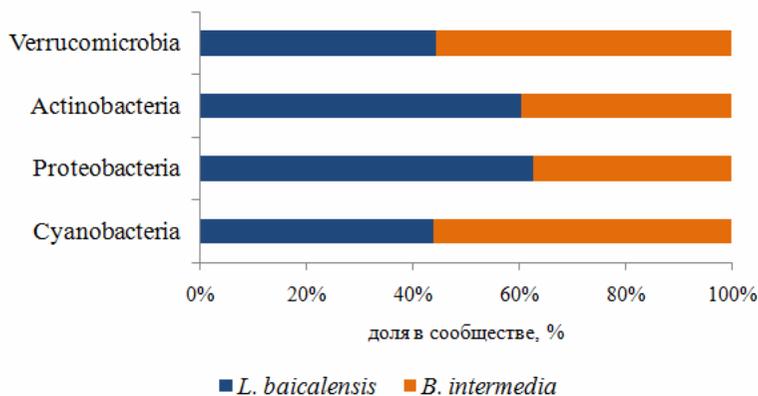


Рис. 2. Доминирующие филы (общая доля > 98 %) в бактериальных сообществах больных губок *L. baicalensis* и *B. intermedia*

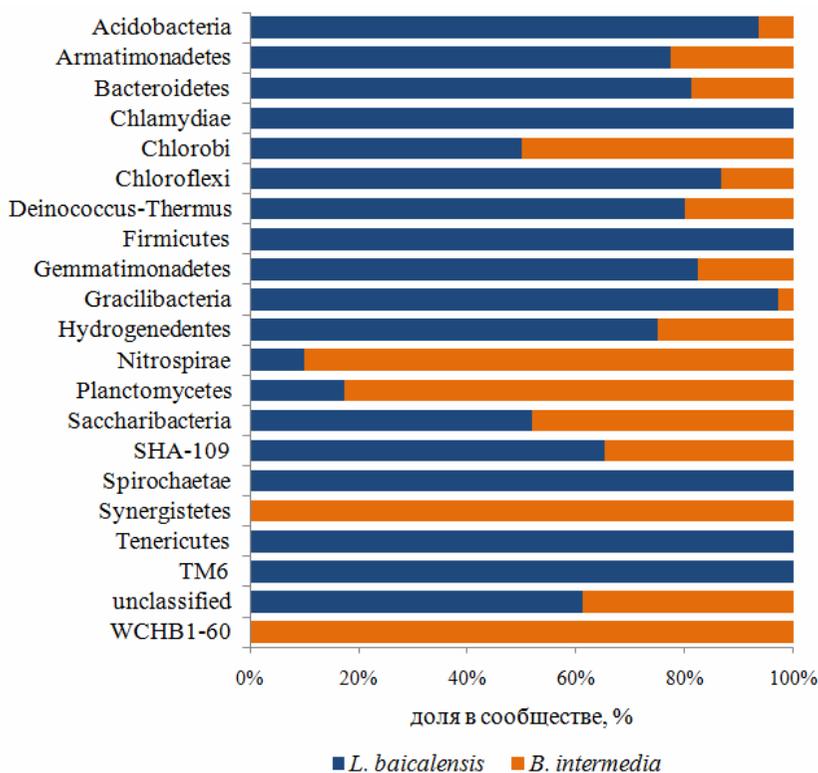


Рис. 3. Минорные филы в бактериальных сообществах больных губок *L. baicalensis* и *B. intermedia*

Самой многочисленной филей в сообществах поражённых губок оказалась Cyanobacteria (56,6 % для *L. baicalensis* и 72 % для *B. intermedia*), к которой также отнесены последовательности хлоропластных геномов зелёных, диатомовых и эустигматофициевых водорослей. Широко представлена фила Proteobacteria, составляя у *L. baicalensis* 22 %, у *B. intermedia* 13 % от всех последовательностей микробиома. Вклад филы Actinobacteria в бактериальное сообщество губок достигал 6,7 % и 4,4 % для *L. baicalensis* и *B. intermedia* соответственно. Менее обильной была фила Verrucomicrobia, доля которой у *L. baicalensis* составляла 5,3 %, у *B. intermedia* – 6,6 %. Последовательности Bacteroidetes присутствовали в небольшом количестве в бактериальном сообществе губки *B. intermedia* (0,87 %), однако у *L. baicalensis* они были более многочисленны (3,7 %).

Минорные филы, вклад каждой из которых в микробиомах не превышал 1 %, отличались разнообразием, особенно у *L. baicalensis*. Только у ветвистой губки обнаружены Chlamydiae, TM6, Spirochaetae, Tenericutes, Firmicutes, в свою очередь, у корковой *B. intermedia* определены Synergistetes и WCHB1-60 (см. рис. 3). В отличие от больных, у здоровых животных присутствовали такие минорные филы, как OD1, Armatimonadetes, GN02, WS5, у обеих губок отсутствовали Acidobacteria, Gemmatimonadetes, у *L. baicalensis* не встречены Tenericutes, у *B. intermedia* – TM7 [1; 9].

В результате кластерного анализа в микробиомах губок было выделено суммарно 718 OTU. Первые 30 доминирующих OTU в бактериальных сообществах губок приведены на рис. 4.

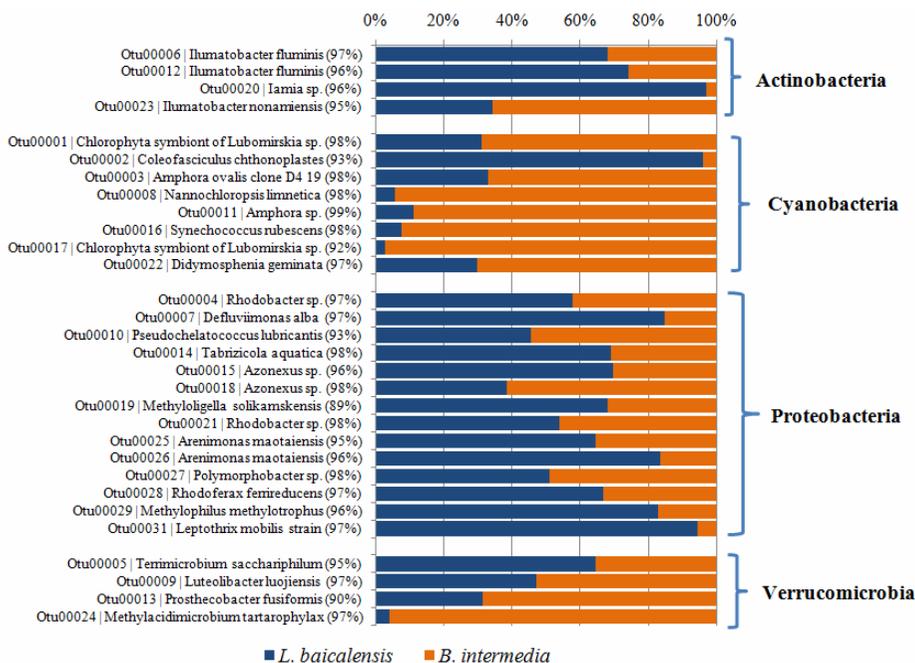


Рис. 4. Доминирующие филоциты (OTU) в сообществах больных губок *L. baicalensis* и *B. intermedia*. На графике представлены первые 30 OTU

В бактериальных сообществах больных губок доминировали последовательности 16S гена хлоропластного генома зелёных водорослей (26,4–58,4%), гомологичные клону, выявленному ранее из здоровых *L. baicalensis* [6]. В небольшом количестве (до 1,3%) присутствовал филоцит зелёных водорослей-симбионтов, сходный с последовательностью GU936926, найденной в 2010 г. в *L. baicalensis*. В отличие от больных, у здоровых губок доля филоцитов зелёных водорослей была низкой (1–3%) [9].

Диатомовые водоросли, присутствующие на поверхности губок, образовывали два крупных кластера рода *Amphora* (*A. ovalis* и *Amphora* sp.) и кластер *Didymosphenia geminata*. Очень интересен факт обнаружения в микробиомах губок водорослей Eustigmatophyceae (до 3,2%), репрезентативный вид кластера родствен *Nannochloropsis limnetica*. Этот вид выявили в составе автотрофного пикопланктона оз. Байкал [11].

Второй по численности кластер, на долю которого приходилась почти половина всех последовательностей филогенетического массива Cyanobacteria и четверть из общего массива, формировали последовательности, сходные с *Coleofasciculus chthonoplastes*. В связи с низким процентом сходства (93%) в настоящее время не представляется возможным отнести выделенный филоцит к этому

роду, можно говорить лишь о его принадлежности к порядку осцилляториевых, как и нитчатых цианобактерий, образующих биоплёнки на поверхности губок.

Цианобактерии с коккоидным морфотипом представлены небольшим кластером (0,1–1,4 %) с репрезентативным видом, гомологичным на 98 % *Synechococcus rubescens*, обитающему повсеместно в пресноводном планктоне. Ранее в микробиомах здоровых губок филоотипы, сходные с *C. chthonoplastes*, не обнаруживали [1; 9]. Значительную долю микробиома здоровых губок (до 37–52 %) составляли цианобактерии, близкородственные *Prochlorococcus* и *S. rubescens* [9].

Изменение состава и увеличение числа представителей филы Verrucomicrobia у больных животных произошло за счёт последовательностей классов Spartobacteria и Verrucomicrobiae, формирующих три кластера: *Tertrimicrobium sacchariphilum*, *Luteolibacter luojiensis* и *Prostheco bacter*. Представители этих родов – хемоорганогетеротрофы, утилизирующие углеводы, обладают широким спектром ферментативной активности, некоторые виды *Luteolibacter* способны к нитратредукции [13; 26]. В меньшем количестве последовательностей выявлен кластер метанотрофов рода *Methylacidimicrobium*. В здоровых губках филоотипы Verrucomicrobia были иными, здесь преобладал класс Opitutae [1; 9].

Среди Proteobacteria доминировал класс Alphaproteobacteria с преобладанием филоотипов семейства Rhodobacteraceae – пурпурных бактерий (7,9 % от всего микробиома). Наиболее многочисленными были два кластера, принадлежащих роду *Rhodobacter* – фототрофов, способных к сульфатредукции [14]. Другие два кластера: *Defluvimonas alba* и *Tabrizicola aquatic* – хемоорганогетеротрофные бактерии, не содержащие фотосинтетических пигментов. *D. alba* обладает каталазной и оксидазной активностями. *T. aquatic* характеризуется также хемолитоавтотрофией [25].

Показано, что бактерии семейства Rhodobacteraceae в консорциуме с грибами рода *Rhodocline* вызывают отмирание тканей у морских губок [24]. Как известно, обилие пурпурных несерных бактерий говорит о высокой степени эвтрофикации водоёмов, в нашем случае свидетельствует о высокой доступности в больных губках веществ, необходимых для роста этой группы микроорганизмов [14]. Следует отметить, что в микробиоме здоровых байкальских губок представители Rhodobacteraceae встречаются редко (0,1 %), у них развиваются другие фототрофные бактерии – Rhodospirillaceae (2 %).

В число доминирующих входят кластеры порядков Rhizobiales с репрезентативным родом *Pseudochelatococcus*, обладающим способностью деградировать углеводороды, Sphingomonadales с филоотипом *Polymorphobacter* – аэробными олиготрофами, содержащими сфинголипид SGL-1 и каротиноиды, и Rickettsiales с метиловобактерией *Methyloligella solikamskensis*.

Класс Betaproteobacteria представлен филоотипами хемолитотрофных бактерий. Выделены два кластера диазотрофов рода *Azonexus* [19], кластер железовосстанавливающих бактерий *Rhodoferrax ferrireducens*. Присутствовали метилотрофные *Methylophilus methylotrophus*. Небольшую долю в микробиомах губок занимали последовательности, близкородственные алкало-

фильному виду *Leptothrix mobilis* [18]. Класс Gammaproteobacteria включал два кластера нитратредуцирующих бактерий, сходных с *Arenimonas maotaiensis* [16].

У здоровых губок наиболее многочисленными были флотипы, принадлежащие классу Betaproteobacteria. В 2010 г. в бактериальном сообществе байкальских губок доминировал кластер семейства Burkholderiaceae с репрезентативным видом *P. necessarius*. Данное семейство преобладало и в планктоне [4]. В губках, отобранных в 2012 г., наиболее многочисленными были флотипы семейства Comamonadaceae. Из альфапротеобактерий обильными были NuPhomicrobiaceae – олигокарбофилы и хемогетеротрофы.

Фила Actinobacteria в сообществах обеих губок представлена классом Acidimicrobia, в состав которого входили кластеры родов *Ilumatobacter* и *Iamia*. Репрезентативными видами кластеров являлись *I. fluminis*, *I. nonamiensis* и *Iamia* sp. К роду *Ilumatobacter* принадлежат бактерии с широким спектром ферментативной активности. Бактерии рода *Iamia* отличаются способностью к редукции нитратов [12], последовательности этого рода в сходном количестве найдены у здоровых губок.

Состав доминирующих флотипов актинобактерий значительно различался в больных и здоровых губках. У последних преобладали флотипы семейства Sporichthyaceae с репрезентативным видом *Planktophila limnetica* [1], обильно развивающимся в планктоне при повышении концентрации растворённых органических веществ [23].

### **Заключение**

С помощью высокопроизводительного секвенирования выявлено высокое генетическое и таксономическое разнообразие микробных сообществ байкальских эндемичных губок, отобранных во время массового заболевания этих животных. В микробном сообществе губки *L. baicalensis* описано 23 бактериальных филы, в сообществе губки *B. intermedia* – 19 фил, из них доминировали в сообществах обеих губок четыре филы: Cyanobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia, на их долю приходилось 98 % всех последовательностей.

Анализ метагеномных сообществ больных губок, покрытых цианобактериальными обрастаниями, показал кардинальную смену состава микробных сообществ как на уровне фил, так и на уровне флотипов по сравнению со здоровыми животными. У обоих видов поражённых губок в микробиоме увеличивается доля цианобактерий и веррукомикробий и снижается количество бактериоидов и планктомицетов. Значительные различия выявлены в составе минорных фил.

Основное отличие между больными и здоровыми животными среди автототрофных микроорганизмов состоит в том, что у повреждённых губок количество коккоидных морфотипов родов *Synechococcus* и *Cyanobium* – типичных представителей байкальского автотрофного пикопланктона – значительно уменьшилось, но появились нитчатые цианобактерии порядка осцилляториевых. У больных губок, особенно у *B. intermedia*, велика доля зе-

лѐных водорослей–симбионтов, диатомовых водорослей, обрастающих поверхность губок, впервые выявлены эустигматофициевые водоросли.

Значительную роль в бактериальном сообществе поражѐнных губок играли протеобактерии, в первую очередь пурпурные фототрофные *Rhodobacter* и разнообразные рода хемолитотрофных бактерий, участвующих в циклах серы, азота, метана. Многочисленными были *Verrucomicrobia* с доминированием родов, способных к денитрификации, метанотрофии и сбраживанию сахаров. Большой вклад в микробиом вносили актинобактерии, представленные родом *Pumato bacter*, разлагающим органические соединения.

В настоящее время только одно среди множества проведенных для выяснения причин заболевания губок и кораллов исследований смогло выявить патогенный агент заболевания, поражающего морские и пресноводные организмы – это «болезнь черной полосы» (Black Band Disease, BBD), обнаруженная у кораллов [8]. Эту болезнь вызывает консорциум нитчатых цианобактерий вместе с сульфидокисляющими и сульфатредуцирующими бактериями, которые доминируют в микробном сообществе больных кораллов. В нашем случае мы наблюдали похожий случай изменения структуры микробного сообщества в пользу повышения численности микроорганизмов, нехарактерных в таком количестве для здоровых особей.

*Работа выполнена в рамках госзадания VI.55.1.3. № 0345-2014-0004 и проекта РФФИ № 16-54-44035. Авторы выражают благодарность сотрудникам ЦКП СО РАН «Геномика» (г. Новосибирск) и ЦКП «Иркутский суперкомпьютерный центр СО РАН» за предоставленные вычислительные ресурсы.*

#### Список литературы

1. Анализ бактериального сообщества двух эндемичных видов губок из озера Байкал / А. С. Гладких [и др.] // Микробиология. – 2014. – Т. 83, № 6. – С. 682–693.
2. Букшук Н. А. Экологические особенности эндемичных губок озера Байкал: распределение и жизненные циклы : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Н. А. Букшук. – Иркутск, 2014 – 21 с.
3. Ефремова С. М. Губки. Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна / С. М. Ефремова ; отв. ред. О. А. Тимошкин. – Новосибирск : Наука, 2001. – Т. 1. – С. 177–190.
4. Калюжная О. В. Филогенетическое разнообразие микроорганизмов, ассоциированных с глубоководной губкой *Baikalospongia intermedia* / О. В. Калюжная, В. Б. Ицкович // Генетика. – 2014. – Т. 50, № 7 – С. 765–776.
5. Кожов М. М. О бентосе Южного Байкала / М. М. Кожов // Бентос и планктон Южного Байкала / Изв. БГНИИ при ИГУ. – Т. 23, вып. 1. – 1970. – С. 3–12.
6. Микробное сообщество пресноводных губок озера Байкал / В. В. Парфенова [и др.] // Изв. РАН. Сер. Биол. – 2008. – Т. 4. – С. 435–445.
7. Оценка фильтрационной способности байкальских губок по поглощению микроорганизмов и одноклеточных водорослей / Т. Ф. Казаринова [и др.] // Оценка состояния водных и наземных экологических систем: Экологические проблемы Прибайкалья. – Новосибирск : Наука, 1994. – С. 30–32.
8. Bacterial community associated with black band disease in corals / Frias–Lopez [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. – 2004. – Vol. 70. – P. 5955–5962.

9. Comparison of bacterial diversity and species composition in three endemic Baikalian sponges / Eun-Young Seo [et al.] // *Ann. Limnol. Int. J. Lim.* – 2016. – Vol. 52. – P. 27–32.
10. First detection of benthic cyanobacteria in Lake Baikal producing paralytic shellfish toxins / O. I. Belykh [et al.] // *Toxicon.* – 2016. – Vol. 121. – P. 36–40.
11. First record of *Nannochloropsis limnetica* (*Eustigmatophyceae*) in the autotrophic picoplankton from lake Baikal / A. Fietz [et al.] // *J. Phycol.* – 2005 – Vol. 41. – P. 780–790.
12. *Iamia majanohamensis* gen. nov., sp. nov., an actinobacterium isolated from sea cucumber *Holothuria edulis*, and proposal of Iamiaceae fam. nov. / M. Kurahashi [et al.] // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2009. – Vol. 4. – P. 869–73.
13. *Luteolibacter luojiensis* sp. nov., isolated from Arctic tundra soil, and emended description of the genus *Luteolibacter*. / F. Jiang [et al.] // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2012. – Vol. 62, N. 9. – P. 2259–2263.
14. Magnin J.-P. Zinc biosorption by the purple non-sulfur bacterium *Rhodobacter capsulatus* / J.-P. Magnin, N. Gondrexon, J. C. Willisone // *Canadian J. of Microbiology.* – 2014. – Vol. 60, N 12. – P. 829–837.
15. Molecular evidence for a uniform microbial community in sponges from different oceans. / U. Hentschel [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2002. – Vol. 68. – P. 4431–4440.
16. Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica / M. Fűrnkranz [et al.] // *The ISME Journal.* – 2008. – Vol. 2 – P. 561–570.
17. Phylogeny of bacterial and cyanobacterial symbionts in marine sponges / C. R. Wilkinson // *Endocytobiology.* – 1983. – Vol. 2. – P. 993–1002.
18. Polyphasic Characterization of the Genus *Leptothrix*: New Descriptions of *Leptothrix mobilis* sp. nov. and *Leptothrix discophora* sp. nov. nom. rev. and Emended Description of *Leptothrix cholodnii* emend / S. Spring. [et al.] // *System. Appl. Microbiol.* – 1996. – Vol. 19. – P. 634–643.
19. Quan Z.-X. *Azonexus caeni* sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from sludge of a wastewater treatment plant / Z.-X. Quan, W.-T. Im, S.-T. Lee // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2006. – Vol. 56. – P. 1043–1046.
20. Rapid ecological change in the coastal zone of Lake Baikal (East Siberia): Is the site of the world's greatest freshwater biodiversity in danger? / O. A. Timoshkin [et al.] // *J. Great Lakes Res.* – 2016. – Vol. 42, Issue 3. – P. 487–497.
21. Reisinger H. Water transport, respiration and energetics of three tropical marine sponges / H. Reisinger // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* – 1974. – Vol. 14. – P. 231–249.
22. Schloss P. D. A High-Throughput DNA Sequence Aligner for Microbial Ecology Studies / P. D. Schloss // *PLoS ONE.* – 2009. – Vol. 4. – e8230.
23. Structuring of bacterioplankton communities by specific dissolved organic carbon compounds / L. Gómez-Consarnau [et al.] // *Environ Microbiol.* – 2012. – Vol. 14(9). – P. 2361–78.
24. Sweet M. A novel sponge disease caused by a consortium of micro-organisms / M. Sweet, Ma. Bulling, C. Cerrano // *Coral Reefs.* – 2015. – Vol. 34, N 3. – P. 871–883.
25. *Tabrizicola aquatica* gen. nov. sp. nov., a novel alphaproteobacterium isolated from Qurugol Lake nearby Tabriz city / V. Tarhriz [et al.] // *Antonie van Leeuwenhoek.* – 2013 – Vol. 104. – P. 1205–1215.
26. *Terrimicrobium sacchariphilum* gen. nov., sp. nov., an anaerobic bacterium of the class 'Spartobacteria' in the phylum *Verrucomicrobia*, isolated from a rice paddy field / Y. L. Qiu [et al.] // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 1718–1723.

## Genetic Diversity of Bacterial Communities Associated with Sick Sponges in Lake Baikal

A. Yu. Krasnopeev<sup>1</sup>, N. A. Bukshuk<sup>1</sup>, S. A. Potapov<sup>1</sup>, N. Damdinsuren<sup>2</sup>,  
I. V. Khanaev<sup>1</sup>, V. V. Drucker<sup>1</sup>, O. I. Belykh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Limnological Institute RAS SB, Irkutsk*

<sup>2</sup>*National University of Mongolia, Ulaanbaatar*

**Abstract.** Taxonomic composition and structure of microbial communities of Baikalian endemic sponges sampled during mass mortality of these animals were identified using high-performance sequencing. In bacterial community of *L. baicalensis* 23 phyla were determined, in *B. intermedia* – 19 ones, phyla of Cyanobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia were major ones. The studied communities were dominated by phylotypes of chloroplast genes of algae, of cyanobacteria forming films on sponges' surface, of purple, chemoorganoheterotrophic, methanotrophic, sulphate- and nitrate-reducing bacteria. Composition and structure of major and minor phyla and of dominant phylotypes in microbiomes of sick sponges considerably differed from ones in healthy animals.

**Keywords:** sponges, *Lubomirskia baicalensis*, *Baikalospongia intermedia*, bacteria, cyanobacteria, high-performance sequencing.

*Краснопеев Андрей Юрьевич*

*инженер*

*Лимнологический институт СО РАН*

*664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3*

*тел. (3952) 42–54–15*

*e-mail: andrewkrasnopeev@gmail.com*

*Krasnopeev Andrei Yurievich*

*engineer*

*Limnological Institute SB RAS*

*3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033*

*tel.: (3952) 42–54–15*

*e-mail: andrewkrasnopeev@gmail.com*

*Букишук Наталья Александровна*

*кандидат биологических наук,*

*научный сотрудник*

*Лимнологический институт СО РАН*

*664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3*

*тел.: (3952) 42–54–15*

*e-mail: 7t@lin.irk.ru*

*Bukshuk Nataliya Aleksandrovna*

*Candidate of Sciences (Biology), Research*

*Scientist*

*Limnological Institute SB RAS*

*3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033*

*tel.: (3952) 42–54–15*

*e-mail: 7t@lin.irk.ru*

*Потапов Сергей Анатольевич*

*аспирант*

*Лимнологический институт СО РАН*

*664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3*

*тел.: (3952) 42–54–15*

*e-mail: poet1988@list.ru*

*Potapov Sergey Anatolyevich*

*Postgraduate*

*Limnological Institute SB RAS*

*3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033*

*tel.: (3952) 42–54–15*

*e-mail: poet1988@list.ru*

*Дамдинсурэн Нарантуяа*

*научный сотрудник*

*Национальный университет Монголии*

*210646, Улан-Батор, пл. Сухэ-Батора*

*а/я 46А/523*

*тел.: (976)950–90–03*

*e-mail: narantuya@num.edu.mn*

*Damdinsuren Narantuya*

*Research Scientist*

*National University of Mongolia*

*Sukhbaatar Sq., Ulaanbaatar, 210646*

*P.O.Box 46A/523*

*tel.: (976) 950–90–03*

*e-mail: narantuya@num.edu.mn*

*Ханаев Игорь Вениаминович*  
старший научный сотрудник  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
тел.: (3952) 42–26–95  
e-mail: igkhan@lin.irk.ru

*Khanaev Igor Veniaminovich*  
Senior Research Scientist  
Limnological Institute SB RAS  
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033  
tel.: (3952) 42–26–95  
e-mail: igkhan@lin.irk.ru

*Дрюккер Валентин Валерианович*  
доктор биологических наук, профессор,  
главный научный сотрудник  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
тел. (3952) 42–54–15  
e-mail: drucker@lin.irk.ru

*Drucker Valentin Valerianovich*  
Doctor of Sciences (Biology), Professor,  
Principal Research Scientist  
Limnological Institute SB RAS  
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033  
tel.: (3952) 42–54–15  
e-mail: drucker@lin.irk.ru

*Белых Ольга Ивановна*  
кандидат биологических наук,  
заведующий лабораторией  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
тел.: (3952) 42–54–15  
e-mail: belykh@lin.irk.ru

*Belykh Olga Ivanovna*  
Candidate of Sciences (Biology),  
Head of Laboratory  
Limnological Institute SB RAS  
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033  
tel.: (3952) 42–54–15  
e-mail: belykh@lin.irk.ru