

Российская академия наук
Научный Совет РАН по физической химии
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина
Российской академии наук
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Морской гидрофизический институт РАН»
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт биологии южных морей» имени А.О. Ковалевского РАН



ВСЕРОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ И
ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
«ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
В МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫХ
ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ»

СБОРНИК ТРУДОВ СИМПОЗИУМА

27 ОКТЯБРЯ – 3 НОЯБРЯ, 2021

г. СЕВАСТОПОЛЬ

УДК 631.4:550.4:911.52(597.253)

КОМПЛЕКСНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И БАРКОДИРОВАНИЯ ДНК ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ТОЧНОСТИ БИОГЕОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МАЛОИЗУЧЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ (НА ПРИМЕРЕ СРЕДНЕГОРНЫХ ТЕРРИТОРИЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО ВЬЕТНАМА)^{1,2}

**Лебедев Я.О.^{1,3,4}, Дрыгваль А.В.^{2,3,4}, Гусев Е.С.⁵, Мартыненко Н.А.⁵,
Горбунов Р.В.^{2,3,4}, Горбунова Т.Ю.^{2,3,4}, Кузнецов А.Н.^{3,4},
Кузнецова С.П.^{3,4}**

¹ Московское представительство федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского
РАН», г. Москва, Российская Федерация, 119991; e-mail: ya.o.lebedev@yandex.ru

² ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»,
г. Севастополь, Российская Федерация, 299011;

e-mail: drygval95@mail.ru, karadag_station@mail.ru, gorbunovatyu@gmail.com

³ Совместный Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический
центр, г. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам; e-mail: ya.o.lebedev@yandex.ru,
drygval95@mail.ru, karadag_station@mail.ru, gorbunovatyu@gmail.com, forestkuz@mail.ru

⁴ ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
г. Москва, 119071; e-mail: forestkuz@mail.ru

⁵ ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,
г. Москва, Российская Федерация, 127276; e-mail: algogus@yandex.ru

В работе рассматриваются особенности проведения биогеохимических исследований разных природных объектов на малоизученных территориях. Проблема точной идентификации растений (род, вид) определена как фактор, снижающий точность биогеохимических исследований. Предложен способ комплексного применения методов баркодирования ДНК и масс-спектрометрии для повышения точности биогеохимических исследований разных природных объектов на малоизученных территориях.

The paper considers the peculiarities of conducting biogeochemical studies of various natural objects in poorly studied territories. The problem of accurate identification of plants (genus, species) is defined as a factor that reduces the accuracy of biogeochemical studies. A method of complex application of DNA barcoding and mass spectrometry methods to improve the

¹ Работа выполнена в рамках Научно-исследовательской работы Совместного Российско-Вьетнамского тропического научно-технологического центра - ЭКОЛАН Э-1.2 «Сохранение, восстановление и устойчивое использование экосистем тропических лесов на основе изучения их структурной и функциональной организации», раздел «Изучение структуры и функционирования низинных и горных экосистем Вьетнама (Национальный парк Бидуп-Нуйба)», а также в рамках научно-исследовательской работы Института биологии Южных морей им. А. О. Ковалевского РАН - «Изучение пространственно-временной организации водных и наземных экосистем с целью разработки системы оперативного мониторинга на основе данных дистанционного зондирования и ГИС-технологий» регистрационный номер: 121040100327-3.

² Работа по ДНК-метабаркодированию тропических растений выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-14-00211).

accuracy of biogeochemical studies of various natural objects in poorly studied territories is proposed.

Биогеохимические исследования являются важным инструментом для достижения отдельных глобальных целей концепции устойчивого развития, ориентированных на реализацию процесса сбалансированных социально-экономических изменений в части благоприятного экологического состояния окружающей среды. Биогеохимические исследования объектов биосферы позволяют выявлять факторы функционирования, развития, восстановления и поддержания экосистем различных уровней. Биогеохимический круговорот вещества позволяет оценить влияние миграции химических элементов и природно-климатических условий на состояние отдельных объектов экосистемы. Исследование биогеохимических миграций предполагает точную идентификацию объектов исследования. Исследования, проводимые на малоизученных территориях, осложняются высокой мозаичностью растительности (произрастающей в горных условиях местности), а также высоким видовым разнообразием и схожестью растений (в ярусе подроста).

Экспедиционные исследования функционирования ландшафтов среднегорных муссонных (в т.ч. туманных) лесов проводились в пределах ландшафтно-экологического стационара на территории Национального парка Бидуп-Нуйба и прилегающих к нему горных массивах (г. Хонджао) с целью изучения процессов биогеохимических миграций химических элементов в системе «растительность-опад-почва» с последующим речным сбросом. Объектами лабораторных исследований выступали генетические горизонты почв соподчинённых ландшафтов, поверхностные (речные) воды, а также материал растительного опада (молодые побеги, листья) и вегетирующие части растений (молодые побеги, листья). В рамках исследований возникали существенные сложности при определении родовой (и видовой) принадлежности опадного и вегетирующего материала.

Применение методики масс-спектрометрии позволяет определять количественные характеристики исследуемых объектов с высокой точностью и широким диапазоном диагностируемых элементов. Содержание тяжелых металлов в почвах, поверхностных водах и золе растений (вегетирующих частях и опаде) определялось как в валовой, так и в лабильной формах. Был оценен дебет потенциальной миграции при определенных природно-климатических условиях (в т.ч. ландшафтно-геохимических обстановках, геологическом строении территории). Определение элементов и тяжёлых металлов проводили с помощью масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой PlasmaQuant MS Elite S-NR:11-6000ST043 в научно-образовательном центре коллективного пользования «Спектрометрия и хроматография» ФГБУН Институт

биологии Южных морей им. А.О. Ковалевского РАН. Вместе с тем, это не решило проблему идентификации растений (род, вид), что не позволило оценить вклад отдельно взятых растительных организмов в процессы биогеохимической миграции вещества.

С целью идентификации растений был применен метод ДНК-баркодинга – идентификации организмов на основе короткой нуклеотидной последовательности. Из биомассы растения (части листа) выделяли ДНК, из которой амплифицировали и секвенировали короткий фрагмент, нуклеотидная последовательность которого использовалась для отнесения организма к тому или иному таксону. Несмотря на высокую точность, данный подход имеет определённые недостатки, которые учитывались при его применении. К таковым следует отнести: недостаточность молекулярно-генетических данных для описанных видов растений, недостаточную изученность разнообразия и филогении групп растений, выбор используемого маркера (штрих-кода). Это актуально для тропического региона с его высоким биоразнообразием и недостаточной изученностью. Для успешного применения ДНК-баркодинга использовались базы данных BOLD и GenBank, а также двуакторная идентификация посредством применения универсального и специфичного маркеров.

Примененный молекулярно-генетический метод позволяет быстро и точно провести идентификацию организма в различные фазы развития, а также при недостатке необходимых признаков (виды с высокими кронами), что, в комплексе с методом масс-спектрометрии, значительно упрощает проведение биогеохимических исследований на малоизученных территориях.