

## ГИДРОБИОЛОГИЯ

УДК 551.465

## ОБИЛИЕ И ВИДОВОЙ СОСТАВ ФОТОАВТОТРОФНЫХ ПИКОЭУКАРИОТ ОНЕЖСКОГО ЗАЛИВА БЕЛОГО МОРЯ

Т.А. Белевич<sup>1,\*</sup>, Л.В. Ильяш<sup>1</sup>, И.А. Милютина<sup>2</sup>, М.Д. Логачева<sup>2</sup>, А.В. Троицкий<sup>2</sup><sup>1</sup>Кафедра гидробиологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;<sup>2</sup>НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40

\*e-mail: belevich@mail.bio.msu.ru

Численность, биомасса и состав фотоавтотрофных пикоэукариот (ФПЭ, размер клеток менее 3 мкм) оценены в Онежском заливе Белого моря в июне 2015 г. Наибольшие значения численности и биомассы ФПЭ были приурочены к слою 0–5 м, в котором средние значения этих показателей ФПЭ по акватории залива изменялись в пределах 0–36,8·10<sup>4</sup> кл/л и 0–117 мкг С/м<sup>3</sup>, соответственно. Метагеномное секвенирование области V4 гена 18S рРНК выявило присутствие таксонов ФПЭ, относящихся к восьми классам водорослей. По числу прочтений и операционных таксономических единиц преобладали Mamiellophyceae. До видового уровня идентифицированы зелёные водоросли *Bathycoccus prasinus*, *Ostreococcus tauri* и *Micromonas pusilla*, а также диатомеи *Skeletonema marinoi* и *Minidiscus trioculatus*.

**Ключевые слова:** пикопланктон, фототрофные пикоэукариоты, *Micromonas*, *Bathycoccus*, *Ostreococcus*, метагеномный анализ

Пикофракция планктона (размер клеток менее 2–3 мкм) состоит из фотосинтезирующих (пикофитопланктон) и гетеротрофных организмов. Пикофитопланктон (ПФП) представлен цианобактериями и эукариотами. Фотосинтезирующие пикоэукариоты (ФПЭ) являются одним из ключевых компонентов планктона, дающим существенный вклад в биомассу фитопланктона и первичную продукцию в разных районах Мирового океана [1, 2].

При всей значимости ФПЭ они являются наименее изученной по таксономическому составу группой фитопланктона. Малый размер, отсутствие у многих таксонов выраженных морфологических признаков, разрушение нежных форм при фиксации — всё это затрудняет идентификацию ФПЭ природного фитопланктона традиционными методами микроскопического анализа и ведёт к недооценке их видового богатства. В настоящее время для выявления таксономического разнообразия ФПЭ с успехом применяются молекулярно-генетические методы. Генетическое разнообразие ФПЭ исследовано во многих районах Мирового океана, включая Арктику [2–4], однако сведения о составе ФПЭ морей российской Арктики до настоящего времени отсутствовали. При наблюдаемом изменении климата, в высоких широтах [5] прогнозируется изменение видового состава всех размерных групп фитопланктона, включая ФПЭ, за счёт проникновения водорослей умеренных вод и исчезновения арктических эндемиков [6]. В связи с этим исследование ФПЭ субарктического Белого моря, по абиотическим условиям сочетающего

черты как арктических, так и умеренных морей [7], приобретает особую актуальность. К настоящему времени таксономический состав ФПЭ Белого моря определён только для подлёдного планктона Кандакшского залива [8], тогда как сведения о составе ФПЭ в летний период отсутствуют.

Цель настоящей работы состояла в оценке численности и биомассы пикофитопланктона, а также в выявлении с использованием метагеномного подхода таксономического состава фотоавтотрофных пикоэукариот в Онежском заливе Белого моря в третьей декаде июня 2015 г.

## Материалы и методы

Материалом для работы послужили пробы, отобранные на 20 станциях в Онежском заливе (рисунок) с 22 по 27 июня 2015 г. в ходе рейса научно-исследовательского судна “Эколог”. Сведения о гидрофизических условиях в заливе во время проведения рейса, концентрации биогенных элементов и хлорофилла *a*, суммарной биомассе всех размерных групп фитопланктона в поверхностном слое приведены в работе Белевич и др. [9]. Для оценки количественных параметров ПФП пробы воды отбирали 5-литровыми батометрами Нискина с горизонтов 0, 2, 4–5 м, а на глубоководных станциях — также с глубин 10 и 20 м. Подпробы воды объёмом 10 мл наливали в фильтрационную воронку, добавляли насыщенный раствор примулина, выдерживали 5–7 мин, затем фиксировали 2%-ным раствором глутаральдегида и осаждали на ядерные фильтры с диаметром пор 0,12 мкм, предва-

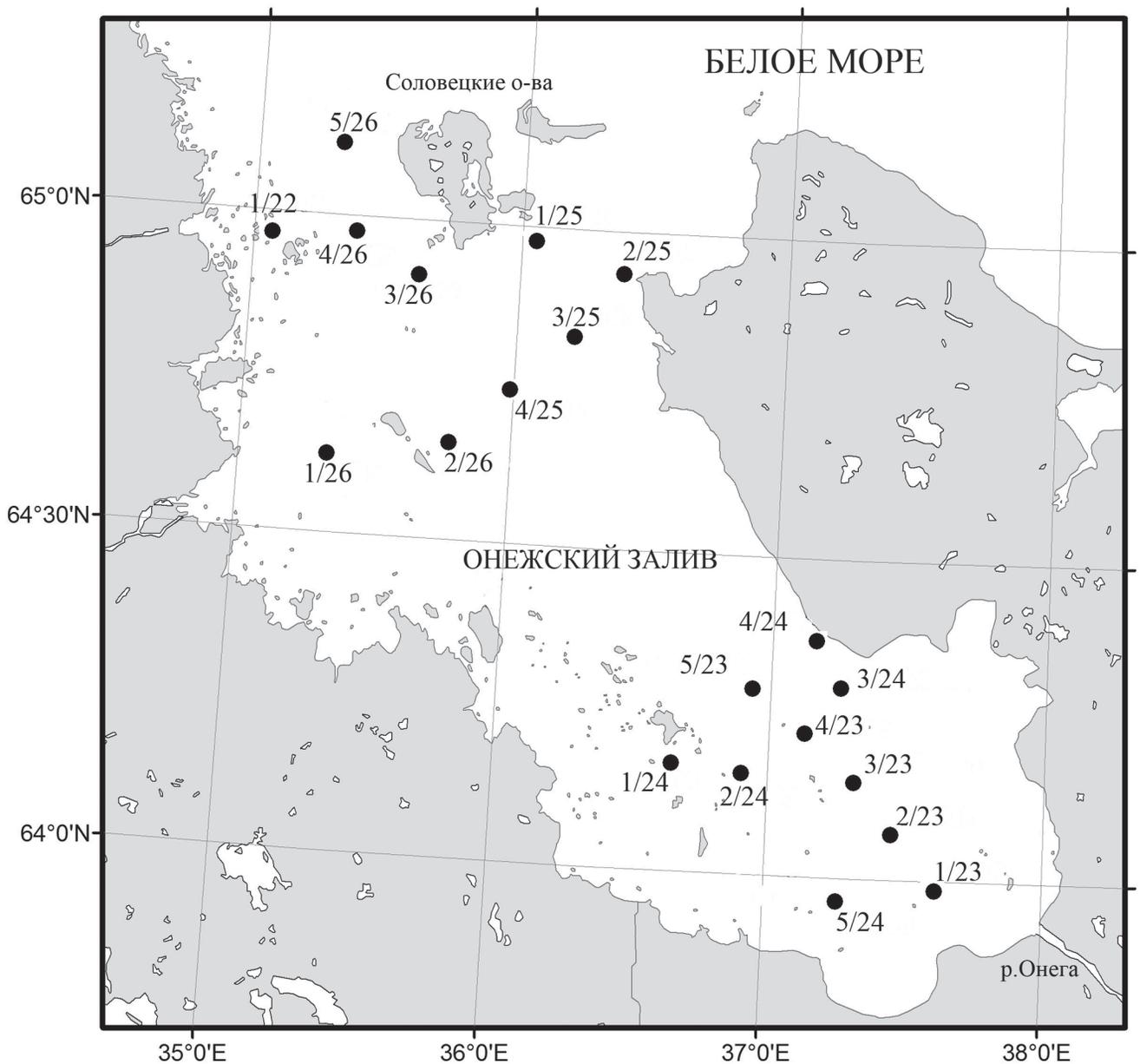


Рисунок. Схема расположения станций отбора проб пикофитопланктона в Онежском заливе

рительно окрашенные суданом чёрным. Подсчёт клеток фотоавтотрофных пикоэукариот и прокариот проводили под люминесцентным микроскопом (Leica DM5000B, Швейцария), разделяя эти группы по “типу” свечения (оранжевый – цианобактерии, красный – эукариотные водоросли). Объём клеток рассчитывали, исходя из объёма соответствующих стереометрических фигур [10]. Клеточное содержание углерода определяли по объёмам клеток с использованием аллометрических зависимостей [11].

Для оценки таксономического состава фотоавтотрофных пикоэукариот проба воды объёмом 10 л была отобрана на станции 3/24 с глубины 4 м, где флуоресценция хлорофилла достигала максимального значения. Температура воды на этом горизонте составила 11,2°C, солёность – 24,3‰, воды были слабо стратифицированы. Для удаления нано- и микропланктона 5 л морской воды

пропускали через камеру обратной фильтрации (диаметр пор фильтра 3 мкм), фильтрат осаждали на картридж Sterivex (Millipore, США) с диаметром пор 0,2 мкм, заполняли его лизирующим раствором [8], замораживали и хранили в жидком азоте до дальнейшего анализа.

Для выделения ДНК использовали набор “Nucleospin Plant” (Macherey-Nagel, Германия), амплификацию проводили с праймерами на область V4 гена 18S рРНК: прямой – EuF-V4 и обратный – rpsO2 [8], секвенирование ПЦР-продуктов осуществлялось на платформе “Illumina MiSeq” (США). Прямые и обратные прочтения были объединены, отфильтрованы по качеству и проверены на наличие химер при помощи программного продукта MOTHR [12]. Для идентификации операционных таксономических единиц (ОТЕ) нуклеотидные последовательности анализировали пакетом про-

грамм SILVAngs 1.2 (порог кластеризации 97%) [13], последовательности классифицировали при помощи BLASTn (версия 2.2.30+) со стандартными установками.

При использовании фракционной фильтрации в фильтрах помимо пикоформ регистрируются организмы нано- и микропланктона, что обусловлено разрушением нежных форм даже при самой мягкой фильтрации, прохождением через поры фильтра простейших с эластичной клеточной оболочкой, а также присутствием в воде пула растворенной ДНК разных размерных групп организмов [14]. Хотя фракционная фильтрация не дает полного отделения пикофракции от нано- и микроорганизмов, при метагеномном секвенировании она способствует снижению риска недоучета пикоформ из-за малого числа копий их генов [15]. В пикофракции планктона также присутствует значительное число гетеротрофных простейших [14]. Поскольку объектом настоящего исследования являлись фотоавтотрофные пикоэукариоты, то для дальнейшего анализа из выявленных в фильтрах таксонов были отобраны только те виды фотоавтотрофов, размеры клеток которых не превышают 3 мкм. Также в случаях идентификации до уровня рода и выше в анализ включали таксоны, в состав которых согласно опубликованным данным [14] входят виды, соответствующие по размерам пикофракции.

## Результаты

**Количественные показатели ФПЭ.** В третьей декаде июня 2015 г. в Онежском заливе численность и биомасса ФПЭ колебались в значительных пределах. На трёх станциях (5/23, 2/25, 2/26) ФПЭ не были обнаружены; возможно, их численность была меньше порога чувствительности метода. Максимальные значения численности ФПЭ ( $1,03 \cdot 10^6$  кл/л) зарегистрированы на глубине 2 м (станция 3/24), биомассы ( $440 \text{ мкг С/м}^3$ ) – на глубине 10 м (станция 3/25). Наибольшие значения биомассы ФПЭ и суммарной биомассы ПФП на всех станциях, кроме 3/25 и 2/25, были приурочены к слою 0–5 м. Пики биомассы ФПЭ и ПФП регистрировались на горизонтах 0, 2 и 5 м. В большинстве случаев биомасса ФПЭ на глубинах 2 и 5 м была выше, чем в поверхностном горизонте. Средние для слоя 0–5 м значения численности и биомассы ФПЭ, суммарной численности и биомассы ПФП приведены в табл. 1. На станциях 2/25 и 3/25 наибольшая биомасса ФПЭ выявлена на глубинах 10 и 20 м, соответственно.

Численность ФПЭ была на 1–2 порядка меньше, чем пикоцианобактерий. Благодаря большим клеточным размерам ФПЭ по сравнению с цианобактериями их вклад в суммарную биомассу ПФП был существенно выше вклада в суммарную численность, и на ряде станций ФПЭ доминировали по биомассе (табл. 1).

**Таксономический состав организмов, выявленных в фильтрате (фильтр с диаметром пор 3 мкм).** Число качественных последовательностей составило 45675, всего выявлено 2139 ОТЕ. К простейшим относились 1614 ОТЕ, соответствовавшим таксонам из филогенетических групп Chloroplastida, Stramenopila, Alveolata, Rhizaria, Cryptophyta, Haptophyta, Opisthokonta, Centrohelida, Telonema, Discoba и Incertae Sedis.

**Таксономический состав ФПЭ.** Число прочтенных ФПЭ ( $PR_{\text{ФПЭ}}$ ) и ОТЕ ФПЭ ( $OTE_{\text{ФПЭ}}$ ) составило 23083 и 484, соответственно. Выявленные ОТЕ соответствовали таксонам, относящимся к трём филогенетическим группам, включающим 8 классов водорослей (табл. 2).

По числу прочтений и ОТЕ преобладали Chloroplastida, представленные тремя классами Chlorophyta. Выявлены представители родов *Micromonas* (19%  $OTE_{\text{ФПЭ}}$ ), *Ostreococcus* (17%  $OTE_{\text{ФПЭ}}$ ), *Bathycoccus* (22%  $OTE_{\text{ФПЭ}}$ ) и *Pyramimonas* (2%  $OTE_{\text{ФПЭ}}$ ). Кроме того, часть последовательностей была идентифицирована на уровне классов Mamiellophyceae и Nephrophyceae.

Представители четырёх классов, относящихся к группе Stramenopila, совокупно составили 3%  $OTE_{\text{ФПЭ}}$  и 15%  $PR_{\text{ФПЭ}}$ . Выявленные ОТЕ Chrysochyceae были определены до уровня класса или порядка Chromulinales, класс Bolidophyceae представлен родом *Bolidomonas*, класс Mediophyceae – родами *Chaetoceros*, *Skeletonema*, *Thalassiosira*, *Minidiscus*, класс Pelagophyceae – родом *Pelagococcus*.

Haptophyta были идентифицированы на разных таксономических уровнях. Выявлены ОТЕ на уровне класса Prymnesiophyceae, а также ОТЕ двух родов – *Phaeocystis* и *Chrysochromulina*. Относительный вклад представителей каждого рода не превышал 1% от общего числа  $OTE_{\text{ФПЭ}}$ .

**ФПЭ, идентифицированные до вида.** До видового уровня идентифицированы зелёные водоросли *Bathycoccus prasinos* (33,5%  $PR_{\text{ФПЭ}}$ ), *Ostreococcus tauri* (30,8%  $PR_{\text{ФПЭ}}$ ) и *Micromonas pusila* (17,5%  $PR_{\text{ФПЭ}}$ ), а также диатомеи *Skeletonema marinoi* (0,1%  $PR_{\text{ФПЭ}}$ ) и *Minidiscus trioculatus* (0,01%  $PR_{\text{ФПЭ}}$ ).

Вид *M. pusila* был представлен 92 ОТЕ. Морфотип *M. pusila* включает шесть флотипов [16], четыре из которых присутствовали в водах Онежского залива: флотип С (более трети общего числа выявленных ОТЕ *Micromonas*), D, E1 и E2. Более половины от общего числа ОТЕ *Micromonas* составили ОТЕ, которые отличались по последовательности области V4 от ранее описанных флотипов и формировали отдельную кладу на филогенетическом дереве, построенном по консенсусным последовательностям ОТЕ Mamiellophyceae.

## Обсуждение

В третьей декаде июня 2015 г. в Онежском заливе численность и биомасса ФПЭ были относительно невысокими. Численность ФПЭ была

Таблица 1

Средние для слоя 0–5 м значения численности и биомассы фотоавтотрофных пикоэукариот (ФПЭ), суммарной численности и биомассы пикофитопланктона (ПФП) и вклада ФПЭ в суммарную биомассу пикофитопланктона (ФПЭ, %)

Станции	Численность		Биомасса		
	ФПЭ, 10 <sup>4</sup> кл/л	ПФП, 10 <sup>5</sup> кл/л	ФПЭ, мкг С/м <sup>3</sup>	ПФП, мкг С/м <sup>3</sup>	ФПЭ, %
1/22	1,21	1,27	52,57	81,3	64,7
1/23	0,60	7,07	1,92	177,2	1,1
2/23	7,86	7,01	66,55	222,2	30,0
3/23	0,91	6,98	49,79	222,0	22,4
4/23	0,60	2,78	33,19	101,2	32,8
5/23	0	3,26	0	81,6	0
1/24	0,60	0,85	11,58	31,2	37,1
2/24	1,21	2,36	23,16	79,1	29,3
3/24	36,87	7,31	117,21	207,9	56,4
4/24	0,60	17,77	11,58	454,3	2,5
5/24	2,42	34,99	79,88	948,7	8,4
1/25	0,60	1,99	11,58	59,9	19,3
2/25	0	0,60	0	15,1	0
3/25	0,60	0,54	1,92	14,0	13,7
1/26	4,83	1,15	89,96	106,6	84,4
2/26	0	1,15	0	28,7	0
3/26	1,81	0,97	15,42	35,1	44,0
4/26	1,21	2,05	13,50	61,9	21,8
5/26	1,21	9,67	3,84	242,6	1,6
1/27	1,81	5,32	46,69	175,1	26,7
Среднее	3,25	5,76	31,52	167,3	24,8
Стандартное отклонение	8,13	8,08	34,55	212,9	-

меньше значений, выявленных в умеренных водах северной Атлантики осенью [2] и поверхностных водах северо-западной части Тихого океана в июне [17]. Значения биомассы ФПЭ и суммарной биомассы ПФП в слое 0–5 м были достоверно (критерий Манна-Уитни,  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно) ниже средних (в столбе воды) значений этих показателей в июне 2012 г. [18].

По акватории залива значения численности и биомассы ФПЭ варьировали в широких пределах. Учитывая, что содержание биогенных элементов превышало пороги лимитирования развития планктонных водорослей [9], к факторам, определявшим пространственную изменчивость количественных характеристик ФПЭ, следует, по-видимому, отнести структуру и динамику вод, а также различия в экологических нишах отдельных представителей ФПЭ. У Соловецких островов и в центральной части залива располагались слабо стратифицированные воды с низкой температурой и повышенной солёностью поверхностного слоя. Слабая стратификация

Таблица 2

Относительное число (%) операционных таксономических единиц (ОТЕ) и прочтений таксономических групп в составе фотоавтотрофных пикоэукариот

Филогенетическая группа	Класс	ОТЕ	Прочтения
<b>Chloroplastida</b>	Mamiellophyceae	64,9	84,6
	Nephrophyceae	0,2	0,02
	Pyramimonadophyceae	1,7	0,6
<b>Stramenopila</b>	Bolidophyceae	8,7	4,7
	Chrysophyceae	20,2	9,2
	Mediophyceae	2,7	0,3
	Pelagophyceae	0,2	0,02
<b>Haptophyta</b>	Prymnesiophyceae	1,4	0,5

в этих районах обусловлена интенсивным приливным перемешиванием. В вершине залива отмечалась выраженная стратификация вследствие речного стока [9]. Зависимость количественных характеристик ФПЭ от структуры и динамики вод отмечена для разных районов Мирового океана [2].

Как и во многих районах умеренных и арктических вод [3, 4, 19], в Онежском заливе среди ФПЭ преобладали Chlorophyta. Наибольшее число прочтений принадлежало видам *Bathycoccus prasinus* и *Ostreococcus tauri*, что согласуется с фактом приуроченности наибольшего обилия этих космополитных видов к прибрежным водам [14, 20].

Филогенетические клады морфотипа *Micromonas pusilla*, как полагают, соответствуют отдельным видам [16]. *Micromonas* клады E2 ранее был выявлен только в арктических водах и рассматривался как арктический эндемик [6]. Недавно последовательности, практически идентичные таковым *Micromonas* E2, выявлены в антарктических водах; была выдвинута гипотеза о связи арктической и антарктической популяций *Micromonas* E2 посредством глубоководных океанических течений [21]. Регистрация *Micromonas* E2 в летнем планктоне субарктического Белого моря свидетельствует о более широком ареале этого филотипа, чем считалось ранее [6]. По числу прочтений среди *Micromonas* преобладали ранее не описанный (“новый”) филотип и филотип С, являющийся космополитом. Последовательности V4 варибельной области “нового” филотипа были на 99% схожи с последовательностью некультивируемых Prasinophyceae клона ДН114 ЗА06 (FJ032694), выявленной в планктоне Южной Атлантики. Преобладание филотипов *Micromonas* с широкими ареалами распространения отличает состав ФПЭ субарктического Белого моря от состава ФПЭ арктических морей, где доминирует филотип E2 [6].

Выявленное в водах Онежского залива относительно высокое число ОТЕ и последовательностей Chrysophyceae согласуется с регистрацией высокого разнообразия этого класса в пикопланктоне разных районов Мирового океана [2, 4, 17]. При этом, как и в случае беломорских ФПЭ, большинство ОТЕ не кластеризовалось с ОТЕ известных культивируемых видов. Этот класс является характерным для пресных вод, а число описанных морских видов Chrysophyceae невелико.

Из Volidophyceae в Онежском заливе выявлены ОТЕ, соответствующие роду *Bolidomonas*. Согласно последним филогенетическим исследованиям [22], ранее описанные виды *B. pacifica* и *B. mediterranea* рассматриваются как базисными видами рода *Tripartita* (*T. pacifica* (Guillou et Chrétiennot-Dinet) Ichinomiya et Lopes dos Santos и *T. mediterranea* (Guillou et Chrétiennot-Dinet) Ichinomiya et Lopes dos Santos).

Диатомея *Minidiscus trioculatus* является широко распространенным видом и в ряде случаев дости-

гает значительной численности [14]. Учитывая незначительное число выявленных прочтений *M. trioculatus*, а также тот факт, что ранее в планктоне Белого моря эта водоросль не была идентифицирована, её следует отнести к редким видам беломорского планктона. Число прочтений диатомеи *Skeletonema marinoi* также было невысоким. Однако это обусловлено тем, что размер колоний *Skeletonema* превышает 3 мкм и в пикофракцию попадают только отдельные клетки. В фитопланктоне на многих станциях залива доминировала *Skeletonema*, ранее идентифицированная как *S. costatum* s. l. [9]. Настоящее исследование позволило уточнить предыдущее определение и идентифицировать вид как *S. marinoi*. Это первая регистрация *S. marinoi* в планктоне Белого моря.

Выявленная незначительная доля *Phaeocystis* в ФПЭ аналогична ситуациям, отмеченным в Беринговом проливе и морях Чукотском, Бофорта [23]. Однако в атлантическом секторе Арктики [4] обнаружено значительное количество Phaeocystaceae.

Структура ФПЭ летнего планктона Онежского залива существенно отличалась от таковой весеннего подледного планктона Кандалакшского залива Белого моря [8]. Летом доля Chlorophyta была выше в 1,5 раза, а вклад Stramenopila был в 3 раза ниже, чем весной. Выявленные различия могут быть обусловлены тем, что исследования проведены в разных заливах. Однако аналогичное увеличение доли Chlorophyta в летний период показано для сезонной динамики планктона арктического фьорда в западной части Шпицбергена [24]. Это даёт основание полагать, что и для Белого моря характерно возрастание доли зелёных водорослей среди ФПЭ летом.

Полученные данные по таксономическому составу ФПЭ актуальны в свете наблюдаемых изменений морских экосистем Арктики под влиянием глобальных климатических изменений [5]. Преобладание в летний период таксонов с широкими ареалами распространения, незначительная доля арктического *Micromonas* E2 среди ФПЭ Белого моря, сочетающего черты водоема умеренной зоны и арктических шельфовых морей, подтверждает высказанное ранее предположение о возможном изменении состава ФПЭ арктических вод за счет проникновения и преимущественного развития водорослей умеренных вод и исчезновения арктических эндемиков [6]. Доминирование в фотоавтотрофном пикопланктоне субарктического Белого моря цианобактерий свидетельствует о возможной экспансии последних в арктические воды.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-17-00800 — экспедиционные работы, проект № 14-50-00029 — молекулярно-генетический анализ) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-05-00502 — количественная обработка проб).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Li W.K., McLaughlin F.A., Lovejoy C., Carmack E.C. Smallest algae thrive as the Arctic Ocean freshens // *Science*. 2009. Vol. 326. N 5952. P. 539.
2. Kirkham A.R., Lepère C., Jardillier L.E., Not F., Bouman H., Mead A., Scanlan D.J. A global perspective on marine photosynthetic picoeukaryote community structure // *The ISME J*. 2013. Vol. 7. N 5. P. 922–936.
3. Kilias E.S., Nöthig E.-M., Wolf C., Metfies K. Picoeukaryote plankton composition off West Spitsbergen at the entrance to the Arctic Ocean // *J. Eukaryot. Microbiol.* 2014. Vol. 61. N 6. P. 569–579.
4. Metfies K., von Appen W.-J., Kilias E., Nicolaus A., Nöthig E.-M. Biogeography and photosynthetic biomass of arctic marine pico-eukaryotes during summer of the record sea ice minimum 2016 // *PLoS ONE*. 2016. Vol. 11. N 2. e0148512.
5. Intergovernmental panel on climate change. Working group I 2007. Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change / Eds. S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor, and H.L. Miller. Cambridge Univ. Press, 2007. 996 pp.
6. Lovejoy C., Vincent W.F., Bonilla S., Roy S., Martineau M.J., Terrado R., Potvin M., Massana R., Pedros-Alio C. Distribution, phylogeny, and growth of cold-adapted picoprassinophytes in arctic seas // *J. Phycol.* 2007. Vol. 43. N 1. P. 78–89.
7. Berger V., Dahle S., Galaktionov K., Kosobokova X., Naumov A., Rat'kova T., Savinov V., Savinova T. White Sea. Ecology and Environment. St-Petersburg: Zoological Institute Russian Academy of Sciences, 2001. 157 p.
8. Belevich T.A., Ilyash L.V., Milyutina I.A., Logacheva M.D., Goryunov D.V., Troitsky A.V. Metagenomic analyses of White Sea picoalgae: first data // *Biochemistry*. 2015. Vol. 80. N 11. P. 1514–1521.
9. Belevich T.A., Ilyash L.V., Zimin A.V., Kravchishina M.D., Novikhin A.E., Dobrotina E.D. Peculiarities of summer phytoplankton spatial distribution in Onega Bay of the White Sea under local hydrophysical conditions // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2016. Vol. 71. N 3. P. 135–140.
10. Hillebrand H., Dürselen C.-D., Kirschtel D., Pollinger U., Zohary T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae // *J. Phycol.* 1999. Vol. 5. N 2. P. 403–424.
11. Verity P.G., Robertson C.Y., Tronzo C.R., Andrews M.G., Nelson J.R., Sieracki M.E. Relationship between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton // *Limnol. Oceanogr.* 1992. Vol. 37. N 7. P. 1434–1446.
12. Schloss P.D., Westcott S.L., Ryabin T. et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities // *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. Vol. 75. N 23. P. 7537–7541.
13. Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P., Peplies J., Glockner F.O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools // *Nucleic Acids Res.* 2013. Vol. 41. N D1. P. D590–D596.
14. Vaillot D., Eikrem W., Viprey M., Moreau H. The diversity of small eukaryotic phytoplankton ( $\leq 3 \mu\text{m}$ ) in marine ecosystems // *FEMS Microb. Rev.* 2008. Vol. 32. N 5. P. 795–820.
15. Zhu F., Massana R., Not F., Marie D., Vaillot D. Mapping of picoeukaryotes in marine ecosystems with quantitative PCR of the 18S rRNA gene // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2005. Vol. 52. N 1. P. 79–92.
16. Worden A.Z., Lee J.-H., Mock T. et al. Green evolution and dynamic adaptations revealed by genomes of the marine picoeukaryotes *Micromonas* // *Science*. 2009. Vol. 324. N 5924. P. 268–272.
17. Choi D.Y., An S.M., Chun S., Yang E.C., Selph K.E., Lee C.M., Noh J.H. Dynamic changes in the composition of photosynthetic picoeukaryotes in the northwestern Pacific Ocean revealed by high-throughput tag sequencing of plastid 16S rRNA genes // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2016. Vol. 92. N 2. fiv170.
18. Ilyash L.V., Belevich T.A., Stupnikova A.N., Drits A.V., Flint M.V. Effects of local hydrophysical conditions on the spatial variability of phytoplankton in the White Sea // *Oceanology*. 2015. Vol. 55. N 2. P. 216–225.
19. Zhang F., He J., Lin L., Jin H. Dominance of picophytoplankton in the newly open surface water of the central Arctic Ocean // *Polar Biol.* 2015. Vol. 38. N 7. P. 1081–1089.
20. Clayton S., Lin Y.-C., Follows M.J., Worden A.Z. Coexistence of distinct *Ostreococcus* ecotypes at an oceanic front // *Limnol. Oceanogr.* 2017. Vol. 62. N 1. P. 75–88.
21. Simmons M.P., Bachy C., Sudek S., van Baren M.J., Sudek L., Ares M. Jr., Worden A.Z. Intron invasions trace algal speciation and reveal nearly identical Arctic and Antarctic *Micromonas* populations // *Mol. Biol. Evol.* 2015. Vol. 32. N 9. P. 2219–2235.
22. Ichinomiya M., Lopes dos Santos A., Gourvil P., Yoshikawa S., Kamiya M., Ohki K., Audic S., Vargas C. de Noël M.-H., Vaillot D., Kuwata A. Diversity and oceanic distribution of the Parmales (Bolidophyceae), a picoplanktonic group closely related to diatoms // *ISME J*. 2016. Vol. 10. N 10. P. 2419–2434.
23. Balzano S., Marie D., Gourvil P., Vaillot D. Composition of the summer photosynthetic pico and nanoplankton communities in the Beaufort Sea assessed by T-RFLP and sequences of the 18S rRNA gene from flow cytometry sorted samples // *The ISME J*. 2012. Vol. 6. N 8. P. 1480–1498.
24. Marquardt M., Väder A., Stübner E.I., Reigstad M., Gabrielsen T.M. Strong seasonality of marine microbial eukaryotes in a high-Arctic fjord (Isfjorden, West Spitsbergen) // *Appl. Environ. Microbiol.* 2016. Vol. 82. N 6. P. 1868–1880.

Поступила в редакцию  
21.03.2017

Принята в печать  
15.06.2017

## HYDROBIOLOGY

PHOTOTROPHIC PICOEUKARYOTES OF THE ONEGA BAY, THE WHITE SEA:  
ABUNDANCE AND SPECIES COMPOSITION

*T.A. Belevich*<sup>1,\*</sup>, *L.V. Ilyash*<sup>1</sup>, *I.A. Milyutina*<sup>2</sup>, *M.D. Logacheva*<sup>2</sup>, *A.V. Troitsky*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Hydrobiology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University,  
Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;*

<sup>2</sup>*A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University,  
Leninskiye gory 1–40, Moscow, 119234, Russia*

\**e-mail: belevich@mail.bio.msu.ru*

The abundance, biomass and species composition of phototrophic picoeukaryotes (PPE, cells size less than 3 µm) were studied in Onega Bay of the White Sea in June 2015. The highest PPE abundance and biomass were registered in the 0–5 m water layer. In the bay the average (in the 0–5 m water layer) abundance and biomass varied from 0 to  $36,8 \cdot 10^4$  cell/l and from 0 to 117 µg C/m<sup>3</sup>, respectively. The Illumina sequencing of V4 region of 18S rRNA gene revealed eight classes of PPE. Mamiellophyceae dominated both in number of reads and operational taxonomic units. The green algae *Bathycoccus prasinos*, *Ostreococcus tauri* and *Micromonas pusila*, as well as diatoms *Skeletonema marinoi* and *Minidiscus trioculatus* were identified to species level.

**Keywords:** *picoplankton, phototrophic picoeukaryotes, Micromonas, Bathycoccus, Ostreococcus, Illumina sequencing*

**Сведения об авторах**

*Белевич Татьяна Алексеевна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел: 8-495-939-27-91; e-mail: belevich@mail.bio.msu.ru

*Ильяш Людмила Васильевна* – докт. биол. наук, проф. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел: 8-495-939-27-91; e-mail: ilyashl@mail.ru

*Милютин Ирина Алексеевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского. Тел: 8-495-939-31-93; e-mail: iramilyutina@yandex.ru

*Логачева Мария Дмитриевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского. Тел: 8-495-939-31-93; e-mail: maria.log@gmail.com

*Троицкий Алексей Викторович* – докт. биол. наук, зав. отделом НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского. Тел: 8-495-939-31-93; e-mail: bobr@belozersky.msu.ru