

Резистом и мобилом почвенных микробиомов агроэкосистем Западной Сибири: метагеномный анализ

А.Е. Скотарева^{1*}, Е.А. Соколова¹, Е.Н. Воронина¹

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре, ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия

***Email:** skotareva04@mail.ru

Актуальность

- Почвенные микробиомы агроэкосистем - крупнейший резервуар генов антибиотикорезистентности (АБР) и мобильных генетических элементов (МГЭ)
- Активация МГЭ под антропогенным воздействием создаёт риск горизонтального переноса детерминант устойчивости в патогены
- Для Западной Сибири - региона с интенсивным сельским хозяйством - метагеномные данные о резистоме и его мобилизационном потенциале практически отсутствуют

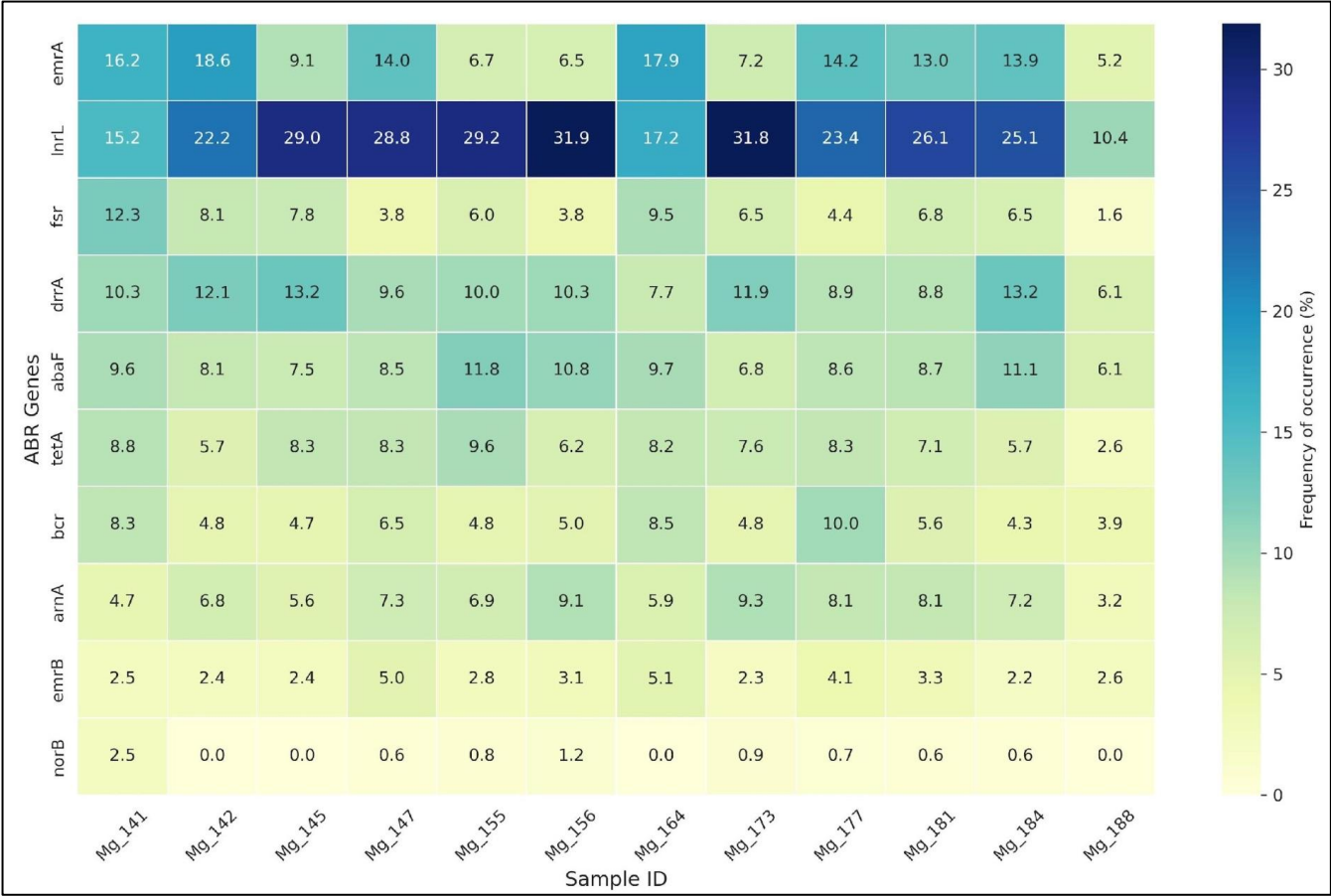
Цель

Комплексная характеристика резистома и мобилома почв агроэкосистем Западной Сибири для оценки мобилизационного потенциала генов АБР и риска их горизонтального переноса в клинически значимые бактерии.

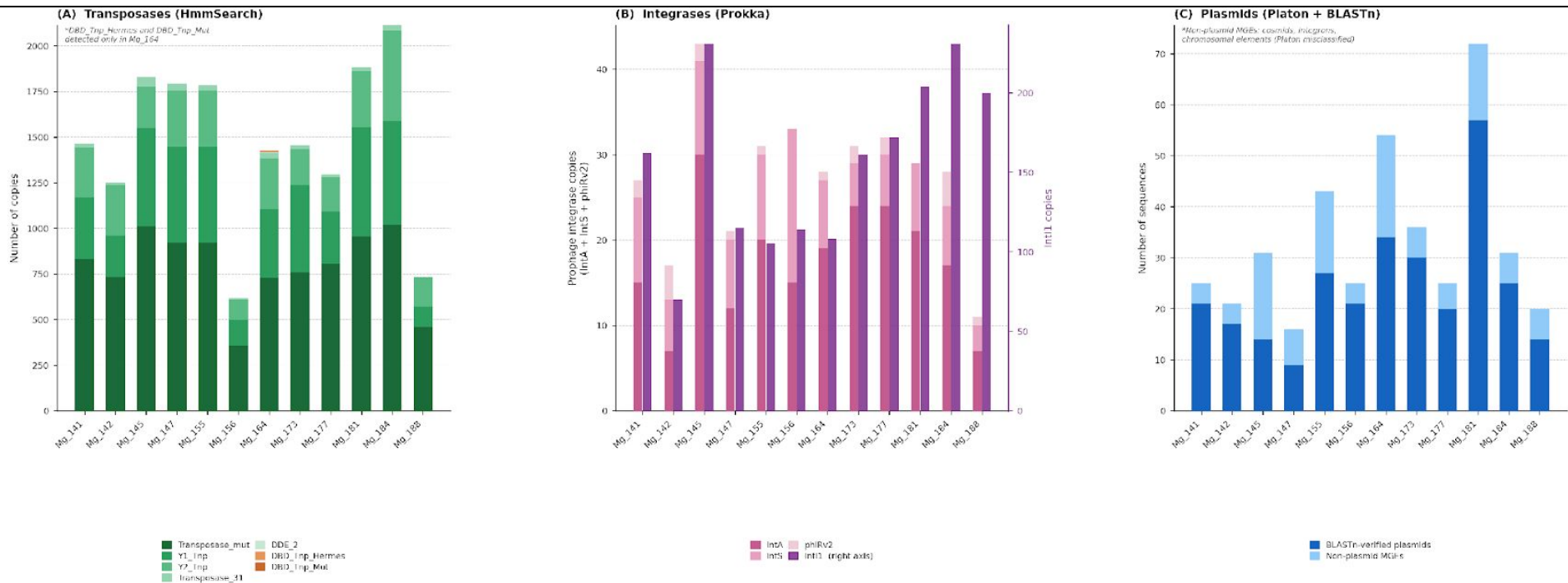
Материалы и методы

1. **Образцы:** 12 композитных проб почв, отобранных в агроэкосистемах юга Западной Сибири (сентябрь 2022) под семью типами культур на различных типах почв
2. **Секвенирование:** тотальная ДНК, Illumina NovaSeq 6000 (парные прочтения 151 + 151 п.н.)
3. **Сборка и таксономия:** SPAdes; Kraken2/Bracken (база RefSeq)
4. **Аннотация генов АБР:** DeepARG (идентичность $\geq 70\%$, вероятность $\geq 0,8$), Prokka/ABRicate верификация
5. **Идентификация МГЭ:** Platon (плазмиды), HMMER-поиск по Pfam-доменам (транспозазы), Prokka-аннотация (интегразы *IntA*, *IntS*, *phiRv2*)
6. **Нормировка:** по гену *groB*
7. **Ассоциации АБР-МГЭ:** колокализация на одном контиге < 10 т.п.н.
8. **Статистика:** PCoA (Брей-Кёртис), PERMANOVA

Высокое содержание эффлюксных генов (*emrA*, *drmA*) и гена модификации мишени (*InrL*) отражает таксономический состав сообществ (доминирование *Streptomycetaceae*, *Nitrobacteraceae*, *Sphingomonadaceae*) и свидетельствует о природном, а не антропогенном происхождении резистома.



Интегразы *IntA* - основной вектор мобилизации: профаговые интегразы доминируют над транспозазами и плазмидами в большинстве образцов, что указывает на активные процессы лизогенизации и потенциально высокую роль профаговой трансдукции в распространении генов АБР

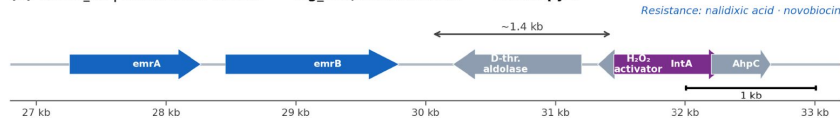


Множественные события профаг-опосредованного переноса: в образце Mg_155 (кукуруза, чернозём) гены устойчивости к пяти классам антибиотиков (*emrA-emrB*, *bcr*, *arnA*, *InrL*) независимо ассоциированы с профаговой интегразой *IntA* в *Pseudomonas*, что документирует параллельные события горизонтального переноса.

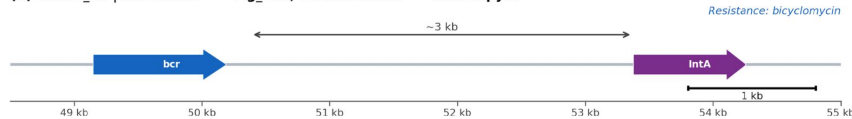
Genomic context of ARG-MGE associations — Sample Mg_155, *Pseudomonas*

NODE_16: *emrA-emrB* (A) and *bcr* (B) each associated with a separate *IntA* integrase · NODE_6: two *arnA* loci (C, D) and *InrL* (E) each associated with *IntA*

(A) NODE_16 | *emrA-emrB* cluster · Mg_155, *Pseudomonas* · *IntA* copy 1



(B) NODE_16 | *bcr* cluster · Mg_155, *Pseudomonas* · *IntA* copy 2



(C) NODE_6 | *arnA* — region 1 (contig start) · Mg_155, *Pseudomonas*



(D) NODE_6 | *arnA* — region 2 (~212 kb) · Mg_155, *Pseudomonas*



(E) NODE_6 | *InrL* region (~271 kb) · Mg_155, *Pseudomonas*



■ *IntA* — prophage integrase (lambda-type)
■ MFS efflux pump (*emrA*, *emrB*, *bcr*)
■ Polymyxin resistance / lipid-A modification (*arnA*)
■ Target modification — lincosamide/oxazolidinone resistance (*InrL*)
■ Intermediate / flanking genes

Выводы

1. Умеренное антропогенное давление ($N/rpoB = 2,30-5,37$) - уровень, характерный для агроэкосистем с минеральными удобрениями, в 2,5 раза ниже интенсивно удобряемых органическими производными почв.
2. Сформированная мобилизационная инфраструктура - $int11/rpoB > 1$ в 9 из 12 образцов, ассоциации АБР-МГЭ в 11 из 12 образцов.
3. Активная профаг-опосредованная мобилизация - в Mg_155 (кукуруза, чернозем) гены устойчивости к пяти классам антибиотиков ассоциированы с *IntA* в *Pseudomonas*.
4. Природное происхождение большинства генов - доминирование *Streptomycetaceae*, *Nitrobacteraceae* и *Sphingomonadaceae* объясняет высокое содержание генов, кодирующих эффлюксные насосы. Эти семейства таксономически предрасположены к наличию эффлюксных систем как части их природного метаболизма (защита от токсичных соединений, вторичных метаболитов и тяжёлых металлов).
5. Отсутствие влияния факторов среды - РCoA-анализ не выявил значимого влияния типа почвы и возделываемой культуры на структуру микробных сообществ ($p > 0,05$).