

Определение таксономической принадлежности пыльцы и спор растений и грибов в аэриобиологических образцах методом метабаркодинга

Я.В. Деменчук¹, О.В. Никитина², Е.Э. Северова², А.А. Криницына^{2*}

¹ Высшая школа экономики, Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* ankrina@gmail.com

Растительная пыльца и споры некоторых видов грибов могут обладать различной степенью аллергенности и служить факторами развития респираторных заболеваний человека, таких как поллиноз, хроническая обструктивная болезнь легких, приводить к обострению астмы. Пыльца и споры довольно широко распространены в воздушной среде, поэтому мониторинг и прогнозирование динамики изменений концентрации пыльцы различных видов растений, а также спор грибов в воздухе во всем мире является важной задачей для защиты населения от вызываемых ими аллергических реакций, играет немаловажную роль в прогнозах вспышек заболеваний растительных культур в сельском хозяйстве и защите окружающей среды. Среди методов, применяемых для идентификации таксономической принадлежности пыльцы и спор растений, традиционным является световая микроскопия. Однако для растений ряда систематических групп, таких как маревые или злаковые, морфология пыльцевого зерна позволяет с уверенностью определить его таксономическую принадлежность только до уровня семейства. Определение видовой принадлежности спор грибов по морфологии споры довольно затруднительно. По мере развития технологий секвенирования и биоинформатических инструментов анализа получаемых данных, для решения задач, связанных с установлением таксономической принадлежности организма, начали активно применять ДНК-метабаркодинг – определение таксономической принадлежности образца по строению определенных участков генома, например, межгенных спейсеров в генах рПНК (ITS1 и ITS2). Одним из ключевых успехов анализа данных секвенирования указанных областей является наличие реферируемой и максимально полной базы данных. В 2020 году была создана база данных растительных ITS (PLANiTS), главной особенностью которой является разделение на три структурные части, содержащих ITS1, ITS2 и весь регион ITS соответственно. Однако последнее обновление данной базы проводилось несколько лет назад.

Цель: С использованием обновленной нами базы PLANiTS провести анализ данных секвенирования участков межгенных спейсеров ITS1 и ITS2 с дальнейшей оценкой корректности определения таксономической принадлежности растительных образцов.

Материалы и методы: В работе использовали аэриобиологические образцы, собранные при помощи пыльцевой ловушки типа Херста в Москве и в Рязани, в период активного цветения злаков. Всего за три года наблюдений был отобран 131 образец – 47 из Москвы и 84 из Рязани. Выделение ДНК из смывов с пленок аэриобиологических образцов проводили при помощи модифицированного СТАВ-метода. Нарработку участков межгенных спейсеров ITS1 и ITS2 проводили с использованием высокоточной смеси полимераз Encyclo (Евроген, Россия). После очистки продукты амплификации использовали для приготовления библиотек для дальнейшего секвенирования на платформе Illumina. Обработку полученных результатов проводили при помощи пакета QIIME 2 и обновленной нами базы данных PLANiTS.

Результаты: Обновление базы происходило при помощи данных из NCBI. В результате очистки массива данных от последовательностей, относящихся к растениям, содержащих в своей аннотации ‘predicted’, ‘putative’, ‘uncharacterized’, ‘unverified’, ‘scaffold’, ‘protein’, ‘hypothetical’, ‘TSA’ и ‘mRNA sequence’, из базы были удалены 58% всех импортированных записей. Для оставшихся записей был проведен поиск и удаление химерных последовательностей, которые составили 8,14 и 5,97% для ITS1 и ITS2 соответственно. При анализе данных секвенирования аэриобиологических образцов были выявлены прочтения, относящиеся как к ветроопыляемым растениям, таким как крапива (*Urtica*), злаковые – *Poa*, *Apera*, *Agrostis*, *Lolium*, *Calamagrostis*, щавель (*Rumex*), береза (*Betula*), подорожник (*Plantago*), так и к насекомоопыляемым – сирень (*Syringa*), таволга (*Filipendula*). Наличие в образцах пыльцы березы, пик цветения которой приходится на более ранние сроки, может быть связано с попаданием на ловушку пыльцы, сохранившейся на почве. Пыльца насекомоопыляемых растений могла попасть вместе с насекомыми, которые также могут быть пойманы в пыльцевую ловушку.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М.В. Ломоносова.