



Информация за изпълнение на етап на проект

Наименование на конкурса:
Конкурс за финансиране на научни изследвания – 2017 г.
Основна научна област:
Биологични науки
№ на договор:
ДН11/4/14.12.2017
Начална и крайна дата на проекта:
14.12.2017г. – 14.12.2020 г.
Заглавие на проекта:
МИКРОБИОМЪТ НА ПОЧВАТА КАТО ИНДИКАТОР ЗА БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ЕВОЛЮЦИЯ НА МИКРОБНИ СЪОБЩЕСТВА ПРИ ТРАЙНО ЗАМЪРСЯВАНЕ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ
Базова организация:
Институт по молекулярна биология „Акад. Р. Цанев“, БАН
Партньорски организации:
СУ „Св. Кл. Охридски“-Физически факултет; СУ „Св. Кл. Охридски“-Биологически факултет; ИПАЗР «Н. Пушкиров»
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
Доц. д-р Галина Радева
Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:
60 000 BGN
Интернет страница на проекта (ако има такава):
не
Научни публикации по проекта:
1. M. Aleksova , D. Palov, R. Karastoyanova, M. Nikolova, N. Dinev, , A. Kenarova, S. Boteva, R. Dimitrov, G. Radeva. 2018. DISTRIBUTION OF SOIL BACTERIAL ABUNDANCE ALONG THE GRADIENT OF HEAVY METALS CONTAMINATION IN THE REGION OF CHELOPECH. INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE KLIMENT'S DAYS,8th – 9th November 2018, Sofia,постер
2..2019. INFLUENCE OF LONG-TERM CONTAMINATION WITH HEAVY METALS ON SOIL BACTERIAL COMMUNITY STRUCTURE. INTERNATIONAL SEMINAR OF ECOLOGY,18-19 April, 2019, Sofia, доклад
3. S. Boteva, A. Kenarova, N. Dinev, G. Radeva, M. Aleksova, R. Dimitrov, N. Mishkina. 2019. ASSESSMENT OF BACTERIAL CAPACITY TO TAKE PART IN SOIL CARBON CYCLING UNDER THE IMPACT OF HEAVY METALS POLLUTION, INTERNATIONAL SEMINAR OF ECOLOGY,18-19 April, 2019, Sofia
4. G.Radeva. 2019. METAGENOMICS APPROACH TO STUDYING THE MICROBIOME IN HEAVY METALS-CONTAMINATED SOILS.19 th international Symposium and Summer School on Bioanalysis, 07.07-13.07.2019, Cluj, Romania, пленарна лекция
5. Д. Палов.2019.Влияние на тежките метали върху структурата на бактериалните съобщества. Дипломна работа за образователната-квалификационна степен“магистър“,



БФ, СУ „Св. Кл. Охридски“.

Б. М. Николова.2019 Влияние на почвените параметри на трайно замърсени почви върху структурата на бактериалните съобщества. Дипломна работа за образователната-квалификационна степен „бакалавър“. БФ, СУ „Св. Кл. Охридски“.



Описание на очакваните резултати по проекта (до 1 стр. в рамките на полето по-долу):

Научната цел е да се анализира и определи еволюцията и механизмите на адаптация (конвергентен или дивергентен) на бактериалните съобщества към условия на трайно замърсяване с тежки метали почви в България, за която ще анализираме последователности от характеристики от почвени проби взети по две пътеки по градиента на замърсяване с тежки метали от районите на Челопеч (Етап1) и на КЦМ-Пловдив (Етап2).

1. Очаквани резултати от изпълнението на работните пакети (РП) на Етап1:

РП1: Пробонабиране и определяне съдържанието на тежките метали в почвите, ръководител: проф. Н. Динев

Дейност (Д) 1.1 и 1.2 Установени са моделните пътеки по градиента на замърсяване в Челопеч, пълна колекция на почвени проби, събрани по тази пътека.

Д 1.3. Данни за концентрациите на тежките метали във всяка от пробите по градиента на замърсяване по пътеката в Челопеч.

РП 2: Характеристики на почвените проби, метаболитен капацитет и физиологичен профил на почвените микробни съобщества, ръководител: доц. А. Кенарова

Д2.1 Данни за основните почвени характеристики за всяка от почвените проби по градиента на замърсяване по пътеките в Челопеч.

Д2.2 Данни за метаболитна активност и физиологичен профил на почвените микробни съобщества.

РП3: Разнообразие и структура на бактериалните съобщества, ръководител: доц. Г. Радева

Д3.1. Получаване на високомолекулна, пречистена и концентрирана ДНК, която ще се използва за 16S рДНК и Illumina ридове библиотеки.

Д3.2. Готови библиотеки от секвенции на 16S рДНК по градиента на пътеката на Челопеч. Тези библиотеки, заедно с пълния статистически профил на почвени характеристики ще послужат за определяне на пълния таксономичен профил на ниво вид и нагоре на микробните съобщества.

Д3.3. Готови библиотеки от секвенциите на Illumina ридове за всяка проба (>200 000 ридове за всяка проба) за моделната пътека на Челопеч. Тези библиотеки, заедно с пълния статистически профил на почвени характеристики ще послужат за определяне на пълния таксономичен профил от род нагоре на микробните съобщества.

РП 4: Биоинформатични анализи, ръководител: доц. Р. Димитров

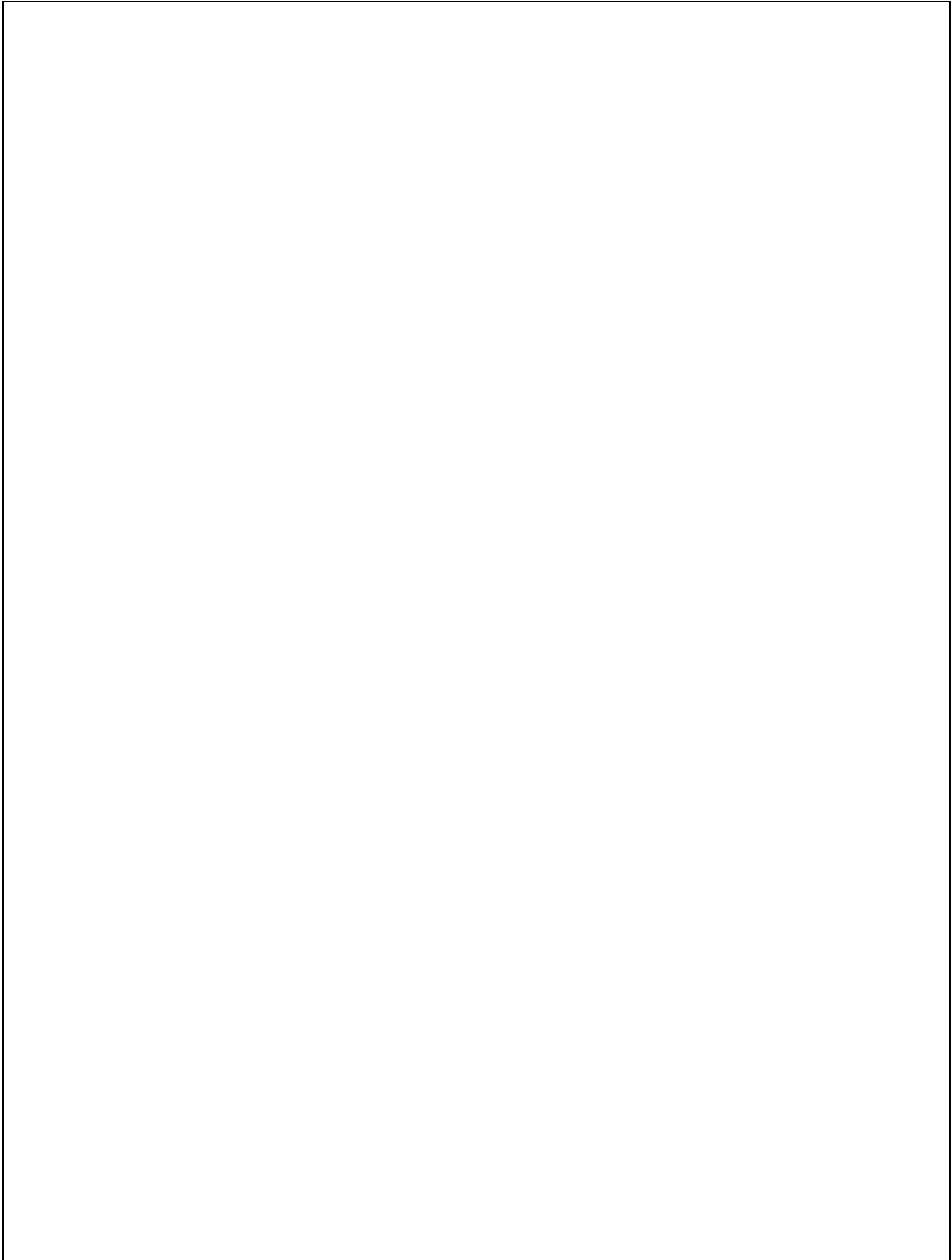
Д 4.1. Готови достоверни секвенции на 16S рДНК на пробите по градиента на моделната пътека от Челопеч. Пълна картина на измененията на таксономичния и статистически профил на моделната пътека. Разделителната способност на целия 16S рДНК ген ще позволи да идентифицираме нови, некултивируеми бактериални видове, които могат да бъдат доминиращи или не, в рамките на микробното съобщество.

2. Очаквани научно-приложени резултати- разработка на методика за получаване на Илумина библиотеки за NGS за изучаване на структурата на микробните съобщества.



ФОНД
НАУЧНИ
ИЗСЛЕДВАНИЯ

Министерство на образованието и науката





Членове на научния колектив

<i>Организации/участници¹</i>	<i>Бележка²</i>
<i>Базова организация:</i>	
Институт по молекулярна биология „Акад. Р. Цанев“, БАН	
<i>Ръководител на научния колектив</i>	
Доц. д-р Галина Радева	
<i>Участници:</i>	
Михаела Алексова Магдалена Николова, ФН 10715	ДО СТ
<i>Партньорска организация:</i>	
СУ „Св. Кл. Охридски“-Физически факултет	
<i>Участници:</i>	
Доц. д-р Румен Димитров	
<i>Партньорска организация:</i>	
СУ „Св. Кл. Охридски“-Биологически факултет	
<i>Участници:</i>	
Доц. д-р Анелия Кенарова Гл.ас. д-р Силвена Ботева	
<i>Партньорска организация:</i>	
ИПАЗР «Н. Пушкиров»	
<i>Участници:</i>	
Проф. Николай Динев, дбн Виктория Кънчева	ДО

¹ Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник като включите и участниците, които са работили по проекта не през целия период за изпълнение на проекта

² Отбележете дали участникът в колектива е млад учен (МУ), постдокторант (ПД), докторанти (ДО) или студенти (СТ), или учен от чужбина (УЧ).



Постигнати резултати от изпълнението на проекта и кратък анализ на тяхната приложимост (до 1 стр. в рамките на полето по-долу)

Резултати, постигнати от изпълнението на работната програма на Етап 1 от проекта.

РП1, Д. 1.1., 1.2. и 1.3. По определените точки по мониторинговата мрежа по градиента на замърсяване с тежки метали Cu, Zn, Pb, в района на с.Челопеч е налична колекция от 14 проби от две дълбочини (0-20 см, 20-40 см) по концентрационния градиент на замърсяване с мед. Според концентрацията на тежките метали и изчисляване на индекса на замърсяване (Average pollution index API) оценката на замърсяването на обработваемите земи в района е умерено (4 проби), значително замърсени са 2 от пробите и 1 ниско замърсена проба;

РП2. Д2.1 Физико-химичните параметри на почвата: рН, влажност, съдържание на йони, структура на почвата, общ въглерод на 14 проби, показват, че всички те имат пясъкливо-глинеца структура, основно с кисело рН. Метаболитната активност на почвените микробни съобщества е оценена чрез активността на почвения дехидрогеназен комплекс и чрез функционалното им разнообразие (Biolog assay). Повърхностният почвен слой се характеризира средно с около 3.5 пъти по-висока дехидрогеназна активност в сравнение с по-долния почвен слой. Дехидрогеназната активност на замърсените с тежки метали почви е с 4 до 7 пъти по-ниска от тази на контролата. Метаболитната активност на бактериалните съобщества е с 1.5 – 3.0 пъти по-ниска в сравнение с тази на контролата, като най-силно е редуцирана в проба P120 (0 – 20 см) и P54 (20 – 40 см). В проба P120 в сравнение с контролата най-силно е намален капацитета на бактериалното съобщество да асимилира амини (с 52%), а най-слабо да усвоява аминокиселини (с 20%). В проба P54 в сравнение с контролата, най-силно е намалена асимилацията на въглехидрати (с 49%), а асимилирането на аминокиселини е слабо стимулирано (с 5%).

РП3. Д3.1., 3.2. Налични са 16S рДНК библиотеки на 8 проби по моделната пътека на с. Челопеч (716 клона), с налични секвенции (250 бр.) на 16S рРНК гена, които ще определи таксономичния профил на бактериалните съобщества на ниво вид и нагоре.

Д3.3. Разработен е протокол за 16S метагеномно секвениране на вариабилния участък V3-V4 на 16S рРНК гена за MiSeq платформа и въз основа на него са направени и секвенирани 24 Илумина библиотеки от 14 почвени проби (някои от тях бяха повторени). Получихме >300 000 ридове за всяка библиотека, което е достатъчно за комплексно микробно съобщество, каквото е почвата.

РП. 4. Д4.1. На три 16S рДНК библиотеки на базата на секвенциите (~1500 бд) са построени филогенетични дървета и е определен таксономичния профил от вид нагоре на микробните съобщества.

-Филогенетичният и таксономичният анализи показват, че структурата на бактериалните съобщества се променя от клас нагоре в зависимост от концентрацията на тежките метали в пробите. На ниво клас бактериалното разнообразие намалява в пробите с по-висока концентрация на тежките метали.

-Клъстерният анализ на местата на пробовземане определи три основни клъстера: I (P19, P61), II (P36, P54), III (P120), според концентрациите на Cu, Pb и Zn. Клъстерният анализ на свойствата на почвата определи също три основни клъстера: I (рН, глина), II [тиня, (Zn, Cu, Pb)] и III [(16S, физична глина), (пясък, съдържание на общ въглерод (ТОС)).

-Корелационният анализ показва, че бактериалното обилие (16S rRNA gene copies) корелира



значително и положително с физичната глина, и отрицателно, но много слабо с рН, и силно с ТОС и процента на глината. Следователно, обилието на почвените бактерии силно корелира с физико-химичните свойства, а не с нивата на замърсяване на почвата с тежките метали (Cu, Zn и Pb).

2. За първи път в страната е разработен и приложен протокол за 16S метагеномни библиотеки за секвениране на Илумина MiSeq платформа на проби от околната среда. Така разработеният протокол за Илумина секвениране може да се прилага в микробната геномика и клиничната микробиология, както и за установяване на патогени в храните.