

ВИКОРИСТАННЯ ДАНИХ МЕТАГЕНОМНОГО АНАЛІЗУ ДЛЯ ОЦІНКИ ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ ЧОРНОГО МОРЯ

М.О. ПАВЛОВСЬКА,

аспірантка, Національний університет біоресурсів
і природокористування України, науковий співробітник,
Державна Установа Національний антарктичний науковий центр МОН України
<https://orcid.org/0000-0003-2050-5973>

E-mail: mawwwa88@gmail.com

А.В. КЛЕПКО,

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник кафедри
загальної екології, радіобіології та безпеки життєдіяльності,
Національний університет біоресурсів і природокористування,
Київ, Україна

E-mail: alla.klepko@gmail.com

Є.П. ПРЕКРАСНА-КВЯТКОВСЬКА,

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Державна
Установа Національний антарктичний науковий центр МОН України

E-mail: prekrasna@gmail.com

Анотація. Згідно з Рамковою директивою про морську стратегію оцінка екологічного стану морської екосистеми здійснюється з урахуванням 11 дискрипторів, в основі яких лежать біологічні, хімічні та фізичні показники. Біологічні параметри традиційно оцінюються за допомогою аналізу таксономічного складу та розподілу еукаріотичних організмів. Водночас, угруповання бактеріопланктону є чутливими до антропогенних змін, а тому вважаються перспективними індикаторами стану водного середовища.

Нами було проведено експериментальне дослідження розрахунку індексу екологічного тиску на середовище (P_i) на основі даних хімічного аналізу вод Чорного моря та індексу екологічного стану середовища за даними метагеномного аналізу мікробних угруповань водного стовпа (microgAMBI).

Було встановлено суттєву різницю показників P_i залежно від класу забруднюючих речовин, що вказує на необхідність використання широкого спектру ксенобіотиків у комплексній оцінці екологічного стану Чорного моря.

За розрахунками microgAMBI води Чорного моря характеризувались переважно “добрим” екологічним станом. На трьох станціях було встановлено “задовільний”, “поганий” та “дуже поганий” стан, однак регіональних відмінностей між екологічним станом шельфової зони та відкритих вод зафіксовано не було.

Частка *Actinomycetales*, *Halomonadaceae* та *Shewanella* в досліджуваному угрупованні асоціювалась із вищими показниками *microgAMBI* та, відповідно, гіршим екологічним станом вод. Водночас було встановлено позитивну кореляцію між часткою *Synechococcus*, *Acidimicrobiaceae*, *Pelagibacteraceae*, *Rhodobacteraceae*, *Microbacteriaceae*, *Polaribacter*, *Rhodothermaceae* та *Chloroflexi* та “добрим” екологічним станом.

Отже, використання даних метагеномного аналізу угруповань бактеріо-планктону є перспективною складовою комплексної оцінки екологічного статусу вод Чорного моря, однак даний підхід потребує додаткових валідаційних досліджень. Доповнення баз метагеномних даних призведе до покращення точності оцінки екологічного стану вод за індексом *microgAMBI*.

Ключові слова: екологічний стан, індекси, угруповання мікроорганізмів, ксенобіотики, Чорне море

Актуальність та огляд попередніх досліджень

Водна Рамкова Директива визначає екологічний стан водного об'єкта як вираження якості структури і функціонування водних екосистем, що пов'язані з поверхневими водами і класифіковані відповідно до біологічної складової якості, а також гідроморфологічної, хімічної та фізико-хімічної складових якості, які підтримують біологічну” (Water Framework Directive, 2000).

За Рамковою Директивою про морську стратегію екологічний стан - це «загальний стан морського середовища з урахуванням структури, функції та процесів морських екосистем, включно з природними фізико-географічними, географічними, біологічними, геологічними та кліматичними чинниками, а також з фізичними, акустичними та хімічними умовами, що виникають, зокрема, в результаті людської діяльності» (Directive 2008/56/EC).

Водна Рамкова Директива про морську стратегію пропонує визначати екологічний стан поверхневих вод за шкалою з п'ятьох категорій: відмінний,

добрий, задовільний, поганий та дуже поганий. Відповідно, за Рамковою Директивою про морську стратегію межа між “гарним екологічним станом” (GES) та поганим екологічним станом (non-GES) проходять між категоріями “добрий” та “задовільний”.

Згідно з Рамковою Директивою про морську стратегію оцінка екологічного стану морського середовища здійснюється з урахуванням 11 дискрипторів, що охоплюють біологічні, хімічні та фізичні параметри. Традиційно, оцінка біологічних дескрипторів ґрунтується на аналізі угруповань еукаріотичних організмів – фітопланктону та фітобентосу, зоопланктону та зообентосу, а також риб та морських ссавців. Водночас, таксономічні та функціональні параметри мікроорганізмів у традиційній оцінці екологічного стану морських екосистем не враховуються (Caruso, G. et al., 2003, Aylagas, E. et al., 2017). Відомо, що бактерії водної товщі та донних осадів є чутливими до природних та антропогенних змін середовища і реагують на них дуже швидко, модифікуючи таксономічне різноманіття, а також фізіологічні і функціональні особливості (Zhang, Y. et al., 2014,

Stoeck, T. et al., 2017). Так, за даними Laroche et al. бактерії є більш чутливим індикатором стану довкілля, ніж макробентос. Причиною обмеженого використання мікроорганізмів як індикаторів стану довкілля є складність їхніх угруповань і пов'язана з цим проблематичність проведення повноцінного таксономічного аналізу (Aylagas, E. et al, 2017).

Розвиток технологій метагеномного аналізу обумовив використання цього підходу під час оцінки та моніторингу угруповань мікроорганізмів, включно зі значною часткою некультивованих (Caruso, G. et al, 2016). Екологічна геноміка дала можливість проводити розробку потенційних індикаторів стану довкілля, базуючись на даних щодо поширеності, розподілу та функціональних характеристик угруповань мікроорганізмів, які виконують важливі екосистемні функції (Lanzén, A. et al, 2021].

Нами було проведено розрахунок індексу microgAMBI (microbial genomic Marine Biotic Index) та Pi

(Pressure index) на основі, відповідно, даних таксономічного складу угруповань бактерій водної товщі та донних осадів, а також концентрації забруднюючих речовин у зразках.

Матеріали і методи дослідження.

Дані для розрахунку індексів було отримано в рамках проєкту EMBLAS-II шляхом аналізу зразків морської води, відібраних під час дослідницького рейсу в серпні-вересні 2017 року на станціях 1a, 1b, 1-10 (Рис.1).

Індекс екологічного тиску (Pi) було розраховано аналогічно до (Aylagas et al., 20017) на основі даних хімічного аналізу, проведеного в рамках проєкту ЕМБЛАС-II (Slobodnik, J. et al., 2020). Шкала значень Pi мала діапазон від 0 до 5, де 0 - повна відсутність забруднюючої речовини, а 5 - максимальне значення екологічного тиску. Максимальне значення екологічного тиску розраховувалось за пороговими показниками, визначеними Директи-

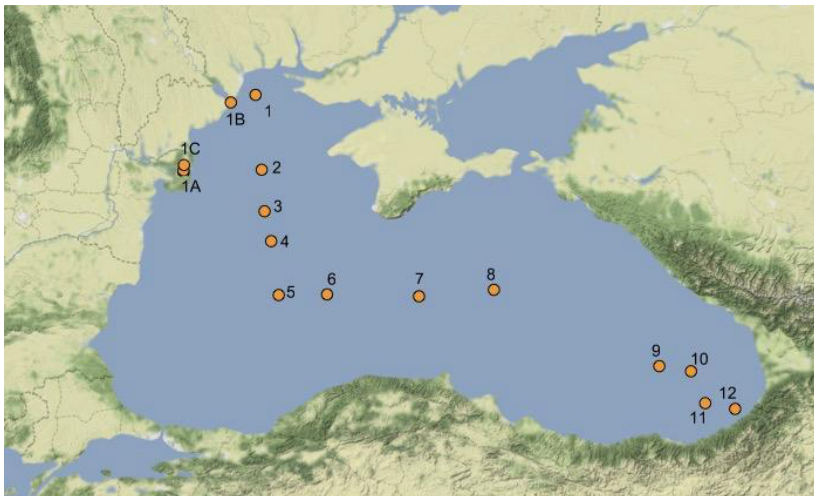


Рис. 1. Розташування станцій моніторингу екологічного стану Чорного моря в рамках дослідницького рейсу JOSS

вою ЄС (2013/39/EU AA-EQS Marine, ER_UA, 2013). У шкалі Рі порогові показники екологічного тиску (межа між прийнятним та неприйнятним рівнем забруднення) відповідали значенню 2.

Рі було розраховано для окремих забруднюючих речовин, всередньому для класу ксенобіотиків - металів, поліхлорбіфенілів (ПХБ), хлороорганічних сполук (ХОС) - і загалом для кожної станції, на якій проводився відбір зразків.

Для оцінки екологічного стану на основі даних таксономічної структури мікроорганізмів було розраховано індекс microgAMBI за методикою, що описана у (Aylagas et al. 2017). Даний індекс було розроблено на основі AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) (Borja, A., et al. 2011) за яким проводять оцінку водного середовища на основі даних щодо різноманіття угруповань зообентосу.

MicrogAMBI базується на розрахунку співвідношення таксономічних груп, які чутливі до забруднення середовища (екологічна група I - EG I) та опортуністичних, тобто толерантних до надходження ксенобіотиків (екологічна група III - EG III). Критеріями для віднесення мікробного таксону до EG III є: (i) домінування у середовищі із високим вмістом органічних речовин, (ii) експериментально доведена відповідь на присутність органічного забруднення, (iii) домінування у безкисневому середовищі з високим вмістом метану, (iv) здатність до окиснення нітриту і попередньо зафіксована реакція на надходження сполук азоту, (v) присутність у стічних водах з високим вмістом сульфідів, (vi) участь у метаногенному розкладі алканів, (vii) здатність до розкладу поліароматичних вуглеводнів, (viii) при-

належність до потенційних патогенів (Aylagas, E., et al. 2017). Решту таксономічних груп складають аероби, мікроорганізми, що зазвичай трапляються у незабруднених донних осадах та водах, а тому належать до EG I. У випадку відсутності даних з приводу функціональних особливостей певного таксону у попередніх дослідженнях, таксономічна група потрапляла у "невизначену" категорію.

Таксономічну структуру мікробного угруповання було визначено за даними сиквенування 16S рРНК з подальшим порівнянням їх із базою даних, створеною на основі метааналізу даних попередніх досліджень з приводу функціональної ролі та поширення мікроорганізмів (Aylagas, E., et al. 2017, Borja, A. (2018). На момент нашого аналізу база даних охоплювала 693 таксономічні групи різного ієрархічного рівня (порядок, клас, родина, рід та вид), з яких 373 належали до EG I, а 297 - до EG III.

Індекс microgAMBI розраховували за формулою:

$$\text{microgAMBI} = [(\% \text{EG I} \times 0) + (\% \text{EG III} \times 6)] \div 100$$

Діапазон даного індексу від 0 до 6, де 0 відповідає 100% мікробних послідовностей у EG I, а 6 - 100% послідовностей у EG III. (Aylagas et al., 2017) було запропоновано співвідношення між індексом microgAMBI та екологічною оцінкою водного середовища за критеріями Водної Рамкової Директиви (Water Framework Directive, 2000). Так, межею між "добрим" та "задовільним" екологічним станом вважається значення microgAMBI = 2,4, що відповідає комбінації з 60% таксонів у групі EG I і 40% у групі EG III (Таблиця 1).

З метою визначення таксонів, що є потенційними індикаторами погір-

1. Співвідношення між microgAMBI та екологічним станом навколишнього середовища за Водною Рамковою Директивою

Межа класу за microgAMBI	Внесок екологічної групи	Екологічний стан (WFD)
$0 < \text{microgAMBI} \leq 1,2$	$> 80\% \text{ EG I}$	“відмінний”
$1,3 < \text{microgAMBI} \leq 2,4$	$60\% \text{ EG I}, 40\% \text{ EG III}$	“добрий”
$2,5 < \text{microgAMBI} \leq 3,6$	$40\% \text{ EG I}, 60\% \text{ EG III}$	“задовільний”
$3,7 < \text{microgAMBI} \leq 4,8$	$20\% \text{ EG I}, 80\% \text{ EG III}$	“поганий”
$4,9 < \text{microgAMBI} \leq 6$	$> 80\% \text{ EG III}$	“дуже поганий”

2. Значення індексу тиску на навколишнє середовище, розраховане для водної товщі Чорного моря за різними параметрами

Станція	Рі (умовні одиниці)			
	Метали	ХОС	ПХБ	Загальний
1a	1	1	3	2
1b	1	3	5	3
1	0	1	3	1
2	0	1	4	2
3	0	0	3	1
4	0	2	5	2
5	0	3	5	3
6	0	4	5	3
7	0	2	5	2
8	0	2	4	2
9	0	2	4	2
10	0	4	4	3

шення екологічного стану Чорного моря, було проведено непараметричний кореляційний аналіз за Спірменом між таксономічним складом угруповань мікроорганізмів водної товщі Чорного моря та розрахованими індексами microgAMBI.

Результати дослідження та їх обговорення.

Визначення індексу екологічного тиску Рі для вод Чорного моря.

Загальний індекс Рі для кожної

станції відбору було обчислено як середнє з індексів по окремих класах забруднюючих речовин.

Було виявлено значну різницю у показниках Рі, для окремих класів забруднюючих речовин. Так, найнижчі значення мав Рі, розрахований за концентрацією металів у морській воді, що свідчить про відсутність екологічного тиску за цим параметром. Індекс тиску за ХОС був вищим на деяких станціях відбору, зокрема на станціях 1б, 5, 6 та 10 він перевищував межу допустимих значень. Найвищі

3. Зміни величини індексу microgAMBI у водах Чорного моря в залежності від місця розташування станцій відбору

Станція	microgAMBI (умовні одиниці)	Екологічна група (EG, цифрова градація)	Екологічний стан (умовна оцінка)
1a	1,867	2	Добрий
1б	1,661	2	Добрий
1	1,734	2	Добрий
2	3,750	4	Поганий
3	2,341	2	Добрий
4	2,251	2	Добрий
5	2,479	3	Задовільний
6	4,602	5	Дуже поганий
7	1,473	2	Добрий
8	2,345	2	Добрий
9	1,711	2	Добрий
10	2,253	2	Добрий

показники P_i було зафіксовано для ПХБ, що, на нашу думку, пов'язано із високими концентраціями стійких ПХБ у воді Чорного моря (Slobodnik, J., 2020). Так, P_i за ПХБ становив 5 на станціях 4, 5, 6, 7, що, напряду, свідчить про високий рівень екологічного тиску.

Загальне значення P_i , що було отримане усередненням по різних класах ксенобіотиків, становило від 1 до 3 із найвищими показниками на станціях 1b, 6 та 10 (Таблиця 2).

Отже, розподіл P_i у морській воді мав мозаїчний характер, водночас не було виявлено тенденції до максимальних показників даних індексів в прибережних зонах порівняно із відкритими водами.

Розрахунок індексу microgAMBI для угруповань мікроорганізмів водної товщі Чорного моря.

Згідно отриманих результатів, переважна частина досліджуваної акваторії характеризувались “добрим” екологічним станом. В районі станції

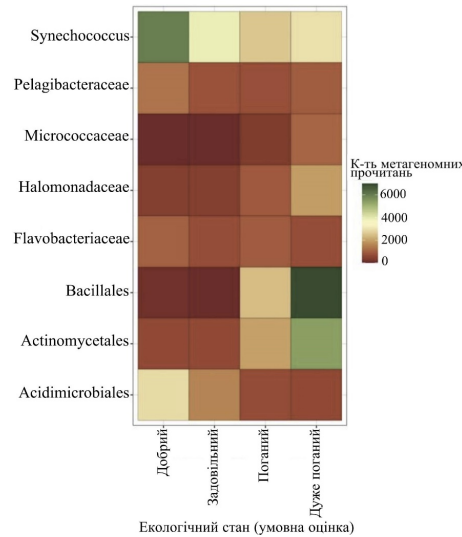


Рис. 2 Таксономічний склад угруповань мікроорганізмів водної товщі Чорного моря (чисельність перевищує 1000 метагеномних послідовностей) у відповідності до екологічного стану

5 було встановлено “задовільний” екологічний стан, біля станції 2 - “поганий” і, біля станції 6 - “дуже поганий” (Таблиця 3).

Було встановлено, присутність негативної кореляції між екологічним статусом вод та часткою *Actinomycetales* у досліджуваному угрупованні ($p=0,6$, $p=0,04$), котрі відомі високим рівнем толерантності до присутності ксенобіотиків у довкіллі, навіть пропонуються до використання для біоремедіації (Hamedi, J., et al. 2013, Devanshi, S., et al. 2022) Середня частка *Actinomycetales* зростала від 0,03 на станціях із “добрим” екологічним станом до 0,22 на станціях із “дуже поганим” екологічним станом (Рис. 1).

Аналогічно спостерігалась статистично достовірна негативна кореляція між часткою *Halomonadaceae*, частка яких становила від 0,02 на станціях із низькими значеннями *microgAMBI* до 0,08 для високих значень *microgAMBI*, та екологічним станом середовища ($p=0,6$, $p=0,04$) (Рис. 2). Дана таксономічна група є опортуністичною та толерантною до присутності органічних забруднюючих речовин та токсинів у середовищі (Kalaitzidou, M.P. et al. 2022). Згідно попередніх досліджень *Halomonadaceae* здатні до деградації ПАВ (Dong, C., et al., 2015). Високу чисельність представників *Halomonadaceae* було встановлено у районах із хронічним забрудненням

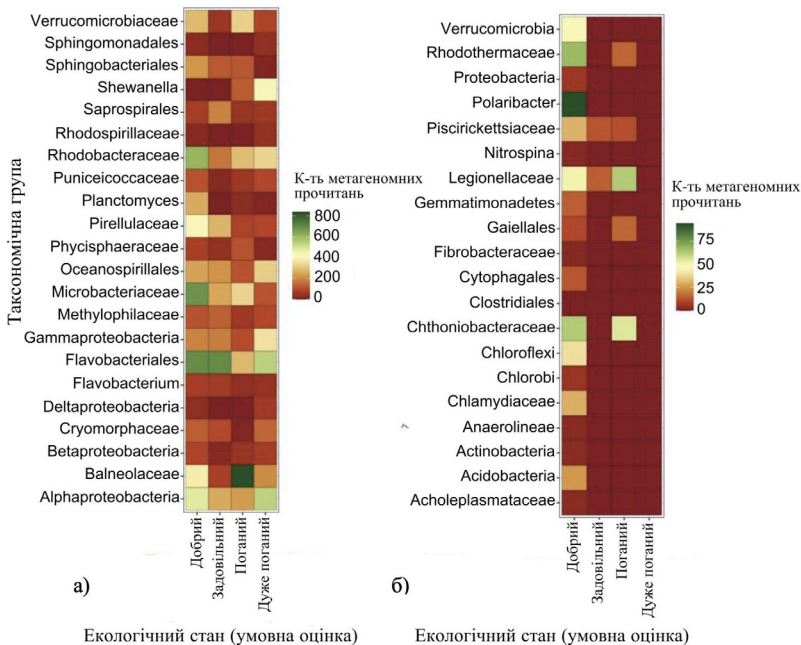


Рис. 3 Таксономічний склад угруповань мікроорганізмів водної товщі Чорного моря (а) чисельність більша за 100 метагеномних послідовностей, б) чисельність менша за 100 метагеномних послідовностей) у відповідності до екологічного стану

та під час масового розвитку фітопланктону, що супроводжувався надходженням значної кількості органічних речовин до морських вод (Пері, М. et al., 2017, Catania, V., et al., 2018).

Серед таксонів бактеріопланктону із нижчою часткою в угрупованні *Shewanella* характеризувались достовірною негативною кореляцією із екологічним станом вод ($p=0,6$, $p=0,03$). Так, частка даної таксономічної групи коливалась в межах від 0,00 до 0,018 за умови “доброго” або “дуже поганого” стану вод, відповідно (Рис.3а). На нашу думку це пояснюється тим, що, згідно попередніх даних представники *Shewanella* здатні до розщеплення ПАВ та детокси-

кації інших ксенобіотиків (Dong, C., et al., 2015, Lemaire, O. N. et al., 2021).

Крім зазначених таксономічних груп, нами було відмічено динамічні зміни серед інших представників бактеріопланктону у відповідності до екологічного стану вод, однак статистично достовірних кореляцій тут встановлено не було. Так, із “добрим” екологічним станом, як правило, асоціювалось зростання частки *Synechococcus*, *Acidimicrobiaceae*, *Pelagibacteraceae* (Рис.2), *Rhodobacteraceae*, *Microbacteriaceae* (Рис.3а), *Polaribacter*, *Rhodothermaceae*, *Chloroflexi* (Рис.3б).

Дані попередніх досліджень та проведеного нами кореляційного ана-

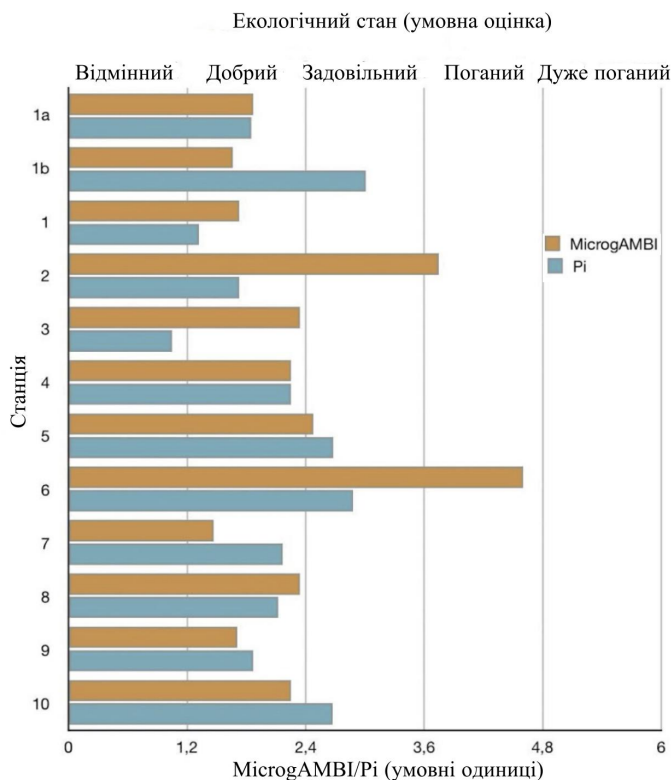


Рис. 4 Порівняння індексів Pi та microgAMBI для визначення екологічного стану вод Чорного моря

лізу вказують на потенційну можливість використання *Actinomycetales*, *Halomonadaceae* та *Shewanella*, як можливих індикаторів стану вод Чорного моря. Подальші дослідження у Чорноморському регіоні дозволять розширити цей список.

Порівняння значень індексу тиску на навколишнє середовище та індексу екологічного стану microgAMBI.

Індекси тиску на навколишнє середовище та індекси екологічного стану, розраховані для водної товщі Чорного моря характеризувалися подібним розподілом (Рис. 4), хоча значення microgAMBI були переважно вищими. Екологічний стан вод визначався ідентично за microAMBI та Pi для всіх станцій, крім 16 та 3.

Як бачимо, розраховані індекси мають певні розбіжності, водночас показано, що microgAMBI дозволяє уточнювати висновки щодо екологічного стану, як вод, так і донних осади. Через те на даному етапі доцільним є застосування microgAMBI, як складової комплексного підходу до моніторингу стану екосистеми Чорного моря.

Розрахований індекс є експериментальним, оскільки на даний момент його не впроваджено у програми регулярного моніторингу морських вод через брак досліджень із його застосуванням. Крім того, відомо, що функціональна відповідь бактерій на антропогенне навантаження характеризується значним різноманіттям, що, разом зі швидкими змінами геному бактерій під дією стрес-фактору, ускладнює інтерпретацію даних (Borja, A. 2018, Haggerty, J. M., & Dinsdale, E. A. 2017).

Саме тому, актуальним є впровадження даного підходу для водних об'єктів із різним ступенем та типом

антропогенного впливу. Також, варто зазначити, що точність розрахунків microgAMBI залежить від двох факторів: 1) наповненості баз даних, за якими визначається таксономічна приналежність операційних таксономічних одиниць, отриманих внаслідок метагеномного секвенування, 2) наявності досліджень щодо реакції мікробного угруповання на надходження певного типу ксенобіотиків до середовища, як в лабораторних, так і в реальних умовах довкілля. На даний момент, методи метагеномного секвенування набувають все більшого поширення, особливо для аналізу прокариот, що призводить до постійного покращення точності таксономічного та функціонального аналізу. З огляду на це, розробка та валідація індексів якості довкілля із використанням даних метагеномного аналізу мікроорганізмів стає дуже перспективним напрямком наукових досліджень.

Висновки.

Нами було проведено розрахунок індексу екологічного тиску на середовище (Pi) та індексу екологічного стану середовища за даними метагеномного аналізу мікробних угруповань водного стовпа (microgAMBI). Показники Pi різнилися залежно від класу забруднюючих речовин, за якими їх було розраховано, що вказує на необхідність використання широкого спектру ксенобіотиків під час екологічної оцінки стану вод. Розрахунки microgAMBI показали, що екологічний стан вод Чорного моря переважно “добрий”. Лише на трьох станціях було зафіксовано “задовільний”, “поганий” та “дуже поганий” стан. Було також зафіксовано позитивну коре-

ляцію між часткою *Actinomycetales*, *Halomonadaceae* та *Shewanella* в угрупованнях бактеріопланктону та високими показниками microGAMBI, що свідчило про незадовільний екологічний стан морських вод. Висока частка *Synechococcus*, *Acidimicrobiaceae*, *Pelagibacteraceae*, *Rhodobacteraceae*, *Microbacteriaceae*, *Polaribacter*, *Rhodothermaceae* та *Chloroflexi* у воді асоціювалася із “добрим” екологічним станом.

Використання даних метагеномного аналізу щодо таксономічної та функціональної структури угруповань мікроорганізмів для моніторингу морських екосистем є перспективним напрямком, оскільки дозволяє суттєво доповнити традиційну морфо-таксономічну оцінку і не потребує такого рівня реплікації, як аналіз еукаріотичних бентосних угруповань. Водночас, розвиток та впровадження даної методології у регулярний моніторинг потребує додаткових досліджень та валідації існуючих індексів в оцінці регіональних водних екосистем.

References

1. Water Framework Directive (Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community action in the field of water policy, Official Journal (OJ L 327) on 22 December 2000
2. Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive). 17 June 2008 establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive) (Text with EEA relevance) (OJ L 164, 25.6.2008) 27 pp.
3. Caruso, G., La Ferla, R., Azzaro, M., Zoppini, A., Marino, G., Petochi, T., Corinaldesi, C., Leonardi, M., Zacccone, R., Fonda, S., Caroppo, C., Monticelli, L., Azzaro, F., Decembri, F., Maimone, G., Cavallo, R., Stabili, L., Todorova, N., Karamfilov, V., ... Danovaro, R. (2016). Microbial assemblages for environmental quality assessment: Knowledge, gaps and usefulness in the European marine strategy framework directive. In Critical Reviews in Microbiology. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2015.1087380>
4. Aylagas, E., Borja, Á., Tangherlini, M., Dell'Anno, A., Corinaldesi, C., Michell, C. T., Irigoien, X., Danovaro, R., & Rodríguez-Ezpeleta, N. (2017). A bacterial community-based index to assess the ecological status of estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.050>
5. Zhang, Y., Chen, L., Sun, R., Dai, T., Tian, J., Liu, R., & Wen, D. (2014). Effect of wastewater disposal on the bacterial and archaeal community of sea sediment in an industrial area in China. *FEMS Microbiology Ecology*. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12298>
6. Stoeck, T., Frühe, L., Forster, D., Cordier, T., Martins, C. I. M., & Pawlowski, J. (2018). Environmental DNA metabarcoding of benthic bacterial communities indicates the benthic footprint of salmon aquaculture. *Marine Pollution Bulletin*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.065>
7. Laroche, O., Pochon, X., Tremblay, L. A., Ellis, J. I., Lear, G., & Wood, S. A. (2018). Incorporating molecular-based functional and co-occurrence network properties into benthic marine impact assessments. *FEMS Microbiology Ecology*. <https://doi.org/10.1093/FEMSEC/FIY167>
8. Lanzén, A., Mendibil, I., Borja, Á., & Alonso-Sáez, L. (2021). A microbial mandala for environmental monitoring: Predicting multiple impacts on estuarine prokaryote communities of the Bay of Biscay. *Molecular Ecology*. <https://doi.org/10.1111/mec.15489>

9. Slobodnik, J., Alexandrov, B., Komorin, V., Mikaelyan, A., Guchmanidze, A., Arabidze, M., Korshenko, A. National Pilot Monitoring Studies and Joint Open Sea Surveys in Georgia, Russian Federation and Ukraine, 2017: Final Scientific Report / J. Slobodnik, B. Alexandrov, V. Komorin, A. Mikaelyan, A. Guchmanidze, M. Arabidze, A. Korshenko. – Dnipro: Seredniak T.K., 2020.
10. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy Text with EEA relevance (OJ L 226 24.08.2013, p. 1, ELI: <http://data.europa.eu/eli/dir/2013/39/oj>)
11. Borja, A., Franco, J., & Pérez, V. (2000). A marine Biotic Index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(00\)00061-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00061-8)
12. Borja, A. (2018). Testing the efficiency of a bacterial community-based index (microg-AMBI) to assess distinct impact sources in six locations around the world. *Ecological Indicators*. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.11.018>
13. Hamed, J., Mohammadipanah, F., & Ventosa, A. (2013). Systematic and biotechnological aspects of halophilic and halotolerant actinomycetes. In *Extremophiles*. <https://doi.org/10.1007/s00792-012-0493-5>
14. Devanshi, S., R. Shah, K., Arora, S., & Saxena, S. (2022). Actinomycetes as An Environmental Scrubber. In *Crude Oil - New Technologies and Recent Approaches*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99187>
15. Kalaitzidou, M. P., Alvanou, M. V., Papa-georgiou, K. V., Lattos, A., Sofia, M., Kritas, S. K., Petridou, E., & Giantsis, I. A. (2022). Pollution Indicators and HAB-Associated Halophilic Bacteria Alongside Harmful Cyanobacteria in the Largest Mussel Cultivation Area in Greece. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. <https://doi.org/10.3390/ijerph19095285>
16. Dong, C., Bai, X., Sheng, H., Jiao, L., Zhou, H., & Shao, Z. (2015). Distribution of PAHs and the PAH-degrading bacteria in the deep-sea sediments of the high-latitude Arctic Ocean. *Biogeosciences*. <https://doi.org/10.5194/bg-12-2163-2015>
17. Pepi, M., Heipieper, H. J., Balestra, C., Borra, M., Biffali, E., & Casotti, R. (2017). Toxicity of diatom polyunsaturated aldehydes to marine bacterial isolates reveals their mode of action. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.031>
18. Catania, V., Cappello, S., Di Giorgi, V., Santisi, S., Di Maria, R., Mazzola, A., Vizzini, S., & Quatrini, P. (2018). Microbial communities of polluted sub-surface marine sediments. *Marine Pollution Bulletin*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.015>
19. Lemaire, O. N., Méjean, V., & Iobbi-Nivol, C. (2021). The *Shewanella* genus: Ubiquitous organisms sustaining and preserving aquatic ecosystems. In *FEMS Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1093/FEMSRE/FUZ031>
20. Haggerty, J. M., & Dinsdale, E. A. (2017). Distinct biogeographical patterns of marine bacterial taxonomy and functional genes. *Global Ecology and Biogeography*. <https://doi.org/10.1111/geb.12528>

Pavlovskaya M., Klepko A., Prekrasna-Kviatkovskaya YE. (2023).

THE UTILITY OF METAGENOMIC DATA FOR THE BLACK SEA ECOLOGICAL STATUS ASSESSMENT.

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 14(1-2): 61-72.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/42709>

[https://doi.org/10.31548/biologiya14\(1-2\).2023.006](https://doi.org/10.31548/biologiya14(1-2).2023.006)

Abstract. According to Marine Strategy Framework Directive the assessment of marine ecosystems' environmental status is performed with 11 Descriptors, which are based on biological, physical and chemical parameters. The biological indexes are calculated based on taxonomic structure and distribution of eukaryotic communities. Meanwhile, bacterioplankton is sensitive to anthropogenic impact and is thus a promising indicator of aquatic environment status.

We have tested the utility of ecological pressure index (Pi) calculated with chemical data and bacterial community-based index (microgAMBI) for the assessment of Black sea waters ecological status. According to our estimations Pi varied depending on the chemical data used for its calculation, which indicates the necessity of using a wide range of xenobiotics in complex ecological status assessment. MicrogAMBI indicated that the Black sea surface waters can be characterized by "good" environmental status. "Moderate", "poor" and "bad" ecological status was shown for 3 stations, yet there were no significant region-specific differences between the shelf zone and the open water.

Actinomycetales, Halomonadaceae and Shewanella relative abundance was associated with higher microgAMBI estimations and respectively with worse ecological status. Meanwhile, positive correlation was found between Synechococcus, Acidimicrobiaceae, Pelagibacteraceae, Rhodobacteraceae, Microbacteriaceae, Polaribacter, Rhodothermaceae and Chloroflexi abundance and "good" ecological status.

Microbial metagenomic data is promising for the complex assessment of Black sea waters ecological status, however, more research is needed to validate this approach. The development of metagenomic databases will contribute to increase in precision of microgAMBI calculation and subsequent ecological status analysis.

Keywords: ecological status, index, microbial communities, xenobiotics, Black sea
