

Egy asztatikus szikes tó planktonikus mikrobaközösségének taxonómiai és funkcionális genomikai analízise

Szabó Attila¹, Korponai Kristóf¹, Somogyi Boglárka², Vörös Lajos², Jurecska Laura¹, Márialigeti Károly¹, Felföldi Tamás¹

¹ELTE Mikrobiológiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C. (tamas.felfoldi@gmail.com)

²MTA Ökológiai Kutatóközpont, Balatoni Limnológiai Intézet, 8237 Tihany, Klebelsberg Kuno u. 3.

Kivonat: A Kárpát-medence asztatikus szikes tavai a nagy lebegőanyagtartalom és/vagy az oldott színes szervesanyagtartalom miatt fénylimitáltak. Ennek és sajátos kémiai összetételüknek, valamint nagy tápanyagtartalmuknak köszönhetően világviszonylatban egyedülálló élőhelyeknek tekinthetők. Jellegzetes fizikai-kémiai karakterisztikájuknak megfelelően a tavakat benépesítő mikrobaközösségek is különlegesen. Az itt élő mikroorganizmusok kapcsolatrendszerének és a közösségben betöltött szerepük mélyebb megértése érdekében kétféle nagyfelbontású genomikai megközelítéssel vizsgáltuk egy kiszáradás közeli állapotban lévő tó, a szabadszállási Büdös-szék planktonikus közösségét 2012 novemberében. Taxonómiai azonosításukhoz a 16S rRNS gén V3-V4 régiójának bázisrendjét Roche GS Junior DNS szekvenáló berendezésen határoztuk meg. A funkcionális jellemzéshez shotgun analízist végeztünk Ion Torrent PGM genetikai analízissel. Eredményeink alapján egy taxonómiai és funkcionális is komplex közösség képe rajzolódott ki, amelyben legjelentősebb csoportok a Proteobacteria, Actinobacteria és Bacteroidetes törzsek voltak. Nagy számban képviseltette magát két tenyésztésbe nem vont Acidimicrobiaceae nemzetség, valamint a *Gracilimonas*, a *Belliella*, a *Hydrogenophaga*, a *Roseovarius* és rokon nemzetségek. A funkcionális metagenomikai elemzés többek között rámutatott arra, hogy az alkalikus környezethez és a kiszáradás közeli állapothoz való számos lehetséges alkalmazkodási mód jelen volt a közösségi génkészletben, valamint arra, hogy a szénforrás hasznosítás szerin-utónala kitüntetett jelentőségű ebben a környezetben.

Kulcsszavak: 16S rRNS gén, szikes tó, metagenom, Na⁺/H⁺ antiporter, újgenerációs DNS szekvenálás, funkcionális genomika.

Bevezetés

A Kárpát-medence asztatikus szikes tavai nagy turbiditásuknak, magas tápanyagtartalmuknak és sajátos kémiai összetételüknek köszönhetően világviszonylatban egyedülálló élőhelyeknek tekinthetők (*Boros és mtsai., 2014*). Jellegzetes fizikai-kémiai karakterisztikájuknak megfelelően a tavakat benépesítő mikrobaközösségek is különlegesen (*Felföldi és mtsai., 2009; Somogyi és mtsai., 2009, 2011; Borsodi és mtsai., 2013*).

Az itt élő mikroorganizmusok kapcsolatrendszerei és a közösségben betöltött szerepük mélyebb megértése érdekében kétféle nagyfelbontású metagenomikai megközelítéssel vizsgáltuk egy kiszáradás közeli állapotban lévő tó, a szabadszállási Büdös-szék planktonikus közösségét. A baktérium taxonok azonosításához a molekuláris taxonómiában használt, a bakteriális riboszóma kis alegységét alkotó RNS-t kódoló 16S rRNS gén felszaporított szekvenciáit az áteresztőképessége és költség-hatékonysága miatt egyre elterjedtebb újgenerációs szekvenálási eljárással határoztuk meg. E megközelítés nemcsak a molekuláris alapon történő taxonazonosításra alkalmas, hanem segítségével a teljes közösség anyagcsere-folyamatairól is képet alkothatunk (*Segata és mtsai., 2013*).

Célunk ezen egyedülálló karakterű környezetben élő mikroorganizmusok taxoneloszlásának, anyagcserejének, alkalmazkodási lehetőségeinek megismerése volt molekuláris genetikai módszerek segítségével.

Anyag és módszer

A mintavétel 2012. november 27-én történt a Szabadszállás melletti Büdös-székéből. Az alapvető vízkémiai paramétereket a helyszínen mértük (WTW MultiLine P 8211 multiméterrel), míg az a-klorofill (*Wellburn, 1994*) és az ammónium-, nitrát-, foszfát- és szulfátiók koncentrációjának (*Eaton és mtsai., 2005*), valamint a planktonikus pikoalgák mennyiségének meghatározása (*MacIsaac és Stockner, 1993*) laboratóriumi körülmények között történt.

A DNS kivonást 500 µL kiindulási vízmindeből Ultra-Clean Soil DNA Isolation Kit-tel (MoBio Laboratories) végeztük a gyártó utasításainak megfelelően azzal a kü-

lönbséggel, hogy a sejtek feltárása Mixer Mill MM301 (Retsch) sejtmalommal történt 30 Hz-en 2 percen keresztül.

A taxonok azonosításához a bakteriális riboszóma kis alegységét alkotó RNS-t kódoló gén (16S rRNS gén) egy körülbelül 450 bp hosszú szakaszát szaporítottuk fel polimeráz láncreakció segítségével három párhuzamos reakcióban a véletlenszerű hatások minimalizálása végett. A reakcióelegy összetétele a következő volt 20 µL térfogatban: 5× Phusion HF Buffer (Thermo Fisher Scientific), 0,2 mM dNTP (Fermentas), 0,4 µg/µL BSA (Fermentas), 0,02 U/µL Phusion High Fidelity DNS polimeráz enzim (Thermo Fischer), 0,5 µM S-D-Bact-0341-b-S-17 és 0,5 µM S-D-Bact-0785-a-A-21 primer (*Klindworth és mtsai., 2013*). A reakció hőprofilja a következő volt: kezdeti denaturáció 98 °C 5 perc; 25 ciklus: denaturáció 95 °C 40 másodperc, annealáció 55 °C 2 perc és extenzió 72 °C 1 perc; végső extenzió 72 °C 10 perc. A párhuzamos PCR termékeket egyesítettük, majd High Pure PCR Cleanup Micro Kit (Roche) segítségével tisztítottuk. Koncentrációjuk meghatározása és tisztaságuk ellenőrzése Agilent High Sensitivity DNA Kit-tel történt 2100 Bioanalyzer készüléken (Agilent Technologies). Az egyedi DNS molekulák bázisrendjének meghatározását GS Junior (Roche) készüléken végeztük a gyártó utasításainak megfelelően. A nyers DNS szekvencia adatok feldolgozását a mothur v1.33 szoftverrel (*Schloss és mtsai., 2009*), a szekvenciák illesztését a SINA programmal (*Pruesse és mtsai., 2012*), a taxonok azonosítását pedig az ARB-SILVA referencia adatbázis (*Quast és mtsai., 2013*) alapján végeztük.

A funkcionális elemzéshez a kivont DNS-t Ion Xpress Plus gDNA Fragment Library Preparation Kit (Life Technologies) segítségével fragmentáltuk, majd a szekvenáláshoz szükséges adaptereket ligáltunk a fragmensekhez. A termékeket Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter) mágneses gyöngyök segítségével tisztítottuk DynaMag-2 (Invitrogen) mágneses oszlopon. A kívánt hosszúságú fragmenseket 2%-os E-Gel SizeSelect géllal és E-Gel Agarose Gel Electrophoresis System segítségével (Life Technologies) szeparáltuk. Az egyes lépésekben

keletkező termékek tisztaságát Agilent High Sensitivity DNA Kittel 2100 Bioanalyzer készüléken (Agilent) ellenőriztük. A szekvenálást megelőző emulziós PCR-t Ion PGM Template OT2 200 Kittel (Life Technologies) végeztük a gyártó utasításainak megfelelően. A fragmensek bázissorrendjének meghatározása Ion PGM Sequencing v2 Kit-tel (Life Technologies) Ion 314 (Life Technologies) chipen történt Ion PGM (Life Technologies) készüléken. A kapott DNS szekvenciákat az MG-RAST szerver (Meyer és mtsai., 2008) segítségével rendeltük hozzá ismert fehérjekódoló szekvenciákhoz, további minőségi szűrésként a szerver javasolt alapbeállításait használva.

Eredmények és értékelésük

A mintavételkor a helyszínen mért és később a laborban meghatározott jellemzőket az **1. táblázat** tartalmazza.

Az ampliton könyvtár bázissorrendjének meghatározásakor 6350 megfelelő minőségű szekvenciát kaptunk, ezek taxonómiai eloszlása nemzetség szintig az **1. ábrán** látható. A 16S rRNS gén szekvenciáknál használt 97 %-os egyezés alapján összesen 285 csoportot kaptunk, ami a prokarióta taxonómiában megfeleltethető a faj rendszertani kategóriának (Tindall és mtsai., 2010).

A mintában a Proteobacteria törzs (31%) Alphaproteobacteria (18%), Betaproteobacteria (10%) és Gammaproteobacteria (2%) osztályai, az Actinobacteria törzs Actinobacteria osztálya (28%), a Bacteroidetes törzs (23%) Sphingobacteria (17%) és Flavobacteria (4%) osztályai, valamint a Verrucomicrobia törzs (6%) és a TM7 Candidatus törzs (5%) tagjai domináltak. Nemzetség szinten leggyakoribb volt a fotoheterotróf *Candidatus Aquiluna* (Kang és mtsai., 2012), a heterotróf *Gracilimo-*

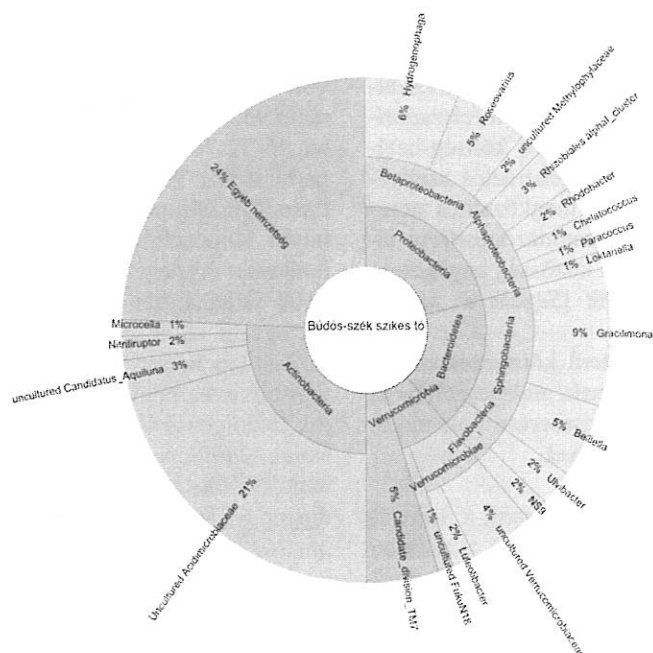
nas (Wang és mtsai., 2013), a kemoorganotróf *Ulvibacter* és *Belliella* (Baek és mtsai., 2014; Brettar és mtsai., 2004), a bíbor nemkén baktérium *Rhodobacter* (Imhoff és mtsai., 1984), az anoxikus fototróf *Roseovarius* (Labrenz és Hirsch, 2005), a kemoorganotróf vagy kemolitotróf anyagcserével rendelkező *Hydrogenophaga* (Willemss és Gillis, 2005), továbbá a TM7 Candidatus phylum, a Rhizobiales rend, az Acidimicrobiaceae és a Verrucomicrobiaceae család leíratlan vagy tenyésztésbe eddig nem vont képviselői.

1. táblázat. A Büdös-szék vizének limnológiai jellemzői 2012. november 27-én

Vízmélység	2 cm
pH	9,16
Vezetőképesség	4670 μ S/cm
Szerves lebegőanyag	5300 mg/L
NH ₄ ⁺	0,70 mg/L
NO ₃ ⁻	270 mg/L
PO ₄ ³⁻	7,8 mg/L
SO ₄ ²⁻	311 mg/L
a-klorofill	59,6 μ g/L
Pikoeukarióta alga abundancia*	20.000 sejt/mL

*az autotróf pikoplanktonon kizárólagos pikoeukarióta dominanciát mutatott

Az alkalmazott shotgun metagenomikai megközelítéssel összesen 105 Mbp (637.468 db, átlag 164 \pm 52 bp hosszú) DNS szekvencia adatot nyertünk, majd a továbbiakban a minőségi szűréseket követően kapott 45 Mbp méretű adathalmazzal dolgoztunk. Végeredményben 81.252 megfelelő minőségű leolvasást, az eredeti szekvencia halmaz 12,7 %-át sikerült azonosítani adatbázisokban található ismert fehérjeket kódoló vagy riboszomális RNS gén szekvenciákkal.



1. ábra. A Büdös-szék planktonikus bakteriális közösségének filogenetikai eloszlása nemzetség szintig a 16S rRNS gén alapján

E szekvenciák többsége (79%) a Bacteria doménen belül került filogenetikai hozzárendelésre, 4% virális, 2% eukarióta és 0,5% Archaea eredetű, 14% pedig nem volt azonosítható. A baktériumok közül a Proteobacteria törzs (44%) Betaproteobacteria (19%), Alphaproteoba-

cteria (11%) és Gammaproteobacteria (10%) osztályaihoz, valamint a Bacteroidetes törzs (34%) Flavobacteria (13%) és Sphingobacteria (12%) osztályainak tagjaihoz történt a szekvenciák többségének hozzárendelése. Ezek az arányok hasonlóak a bakteriális 16S rRNS gén amplito-

konok bázissorrendjének meghatározásakor kapott relatív abundancia viszonyokhoz. A különbségek fő oka lehet egyrészt a riboszomális RNS szekvencia alapján történő pontosabb taxonozonítás [ebben szerepe van az ellenőrzött minőségű 16S rRNS gén szekvenciákat tartalmazó adatbázisoknak is, valamint e gén ≥ 400 bp hosszú szekvenciái elégségesek a nemzetségszintű molekuláris taxonómiai meghatározáshoz is (Cardenas és Tiedje, 2008); másrésztől viszont a PCR amplifikáció során a mintában található taxonok eredeti aránya eltolódhatott (Sipos és mtsai., 2007)].

A gének funkciók szerinti megoszlása a 2. ábrán látható. A háztartási funkciót betöltő univerzálisan előforduló gének mellett számos olyan enzim kódoló gént sikerült azonosítani, amelyek a nitrogén, a kén és a foszfor anyag-körforgalmában vagy a kálium és vas mobilizálásában vesznek részt. Továbbá a különféle energia (fototrófia és kemotrófia) és szénhasznosítás (autotrófia és heterotrófia), valamint a másodlagos anyagcsere útvonalaiiban szereplő enzimeket kódoló szekvenciák is nagy változatosságban fordultak elő, ez alapján kijelenthetjük, hogy funkció szerint is rendkívül változatos mikrobaközösség található a vizsgált élőhelyen. A funkcionális metagenomikai elemzés rámutatott a proteorodopszin szintézis gének jelentőségére a fototróf anyagcserében, és a szénforrás-hasznosítás szerin-útvonalának kitüntetett szerepére, amely leginkább az alfaproteobaktériumokra jellemző (Madigan és mtsai., 2010).

Az alkalikus környezethez való alkalmazkodásra utalhat (Sorokin és mtsai., 2014 alapján) a Na^+/H^+ antiporter membránfehérjét kódoló gének gyakorisága a metage-

nomban. A nagy szalinitású környezet generálta ozmotikus stresszel szemben a sejtek igyekeznek fenntartani belső homeosztázisukat; e folyamattal kapcsolatos lehet a protonok diffúzióját negatív töltésével visszatartó membránlipid, a kardiolipin, szintéziséért felelős gén jelenléte, a káliumsók (pl. KCl) sejten belüli felhalmozására utaló K^+ -csatorna gének gyakorisága, valamint ozmotikumok (mint a betain, ektoin és a trehalóz) szintézisét és transzportját lebonyolító enzimek és fehérjék génei. Kiszáradás közeli állapot miatti ozmotikus stressz ellen is hathat a fenti ozmotikumok szintézise, amik mellett számos, a kedvezőtlen feltételek átvészeléséhez köthető, (például spóráképzéssel kapcsolatos) fehérje génje volt azonosítható a vizsgált metagenomban.

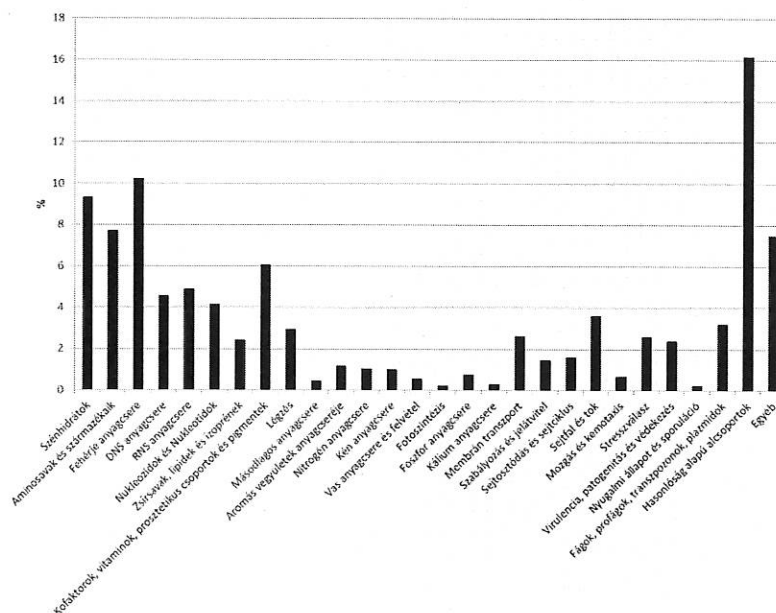
Következtetések

(1) Mind a molekuláris taxonómiai és funkcionális elemzés alapján egy rendkívül diverz közösség jelenléte nyert igazolást a vizsgált élőhelyen.

(2) A funkcionális elemzés során számos olyan gént azonosítottunk nagy relatív gyakorisággal, amelyek termékei az alkalikus, kiszáradó környezethez való különféle alkalmazkodási mechanizmusokra utalnak.

Köszönetnyilvánítás

A munkát az Országos Tudományos Kutatási Alap támogatta (OTKA PD 105407 és PD 112449). Somogyi Boglárka és Felföldi Tamás munkáját a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János kutatói ösztöndíja segítette. A kutatás során használt műszerek beszerzését a KMOP-4.2.1/B-10-2011-0002 és TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0030 pályázatok támogatták. Köszönjük Németh Balázs és Boros Emil technikai segítségét



2. ábra. A gének eloszlása a különböző anyagcseretípusok között a Budaörs-szék planktonikus mikrobaközösségének metagenomikai analízise alapján

Irodalom

- Baek, K., Jo, H., Choi, A., Kang, I., Cho, J.C. (2014) *Ulvibacter marinus* sp. nov., isolated from coastal seawater. – *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64: 2041-2046.
- Boros, E., Horváth, Zs., Wolfram, G., Vörös, L. (2014) Salinity and ionic composition of the shallow astatic soda pans in the Carpathian Basin. – *Ann. Limnol. - Int. J. Lim.* 50: 59-69.
- Borsodi, A.K., Knáb, M., Czeibert, K., Márialigeti, K., Vörös, L., Somogyi, B. (2013) Planktonic bacterial community composition of an extremely shallow soda pond during a phytoplankton bloom revealed by cultivation and molecular cloning. – *Extremophiles* 17: 575-584.
- Brettar, I., Christen, R., Höfle M.G. (2004) *Belliella baltica* gen. nov., sp. nov., a novel marine bacterium of the *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* group isolated from surface water of the central Baltic Sea. – *Int. J. Syst. Bacteriol.* 54: 65-70.
- Cardenas, E., Tiedje, J.M. (2008) New tools for discovering and characterizing microbial diversity. – *Curr. Opin. Biotechnol.* 19: 544-549.
- Eaton, A.D., Clesceri, L.S., Rice, E.W., Greenberg, A.E., Franson, M.A.H. (szerk) (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Felföldi, T., Somogyi, B., Márialigeti, K., Vörös, L. (2009) Characterization of photoautotrophic picoplankton assemblages in turbid, alkaline lakes of the Carpathian Basin (Central Europe). – *J. Limnol.* 68: 385-395.
- Imhoff, J.F., Trüper, H.G., Pfennig, N. (1984) Rearrangement of the Species and Genera of the Phototrophic "Purple Nonsulfur Bacteria". – *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34:340-343
- Kang, I., Lee, K., Yang, S.-J., Choi, A., Kang, D., Lee, Y.K., Cho, J.-C. (2012) Genome sequence of "*Candidatus Aquiluna*" sp. strain IM-CC13023, a marine member of the *Actinobacteria* isolated from an arctic fjord. – *J. Bacteriol.* 194: 3550-3551.
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O. (2013) Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. – *Nucleic Acids Res.* 41: e1.
- Labrenz, M., Hirsch, P. (2005) Genus XIX. *Roseovarius* Labrenz, Collins, Lawson, Tindall, Schumann and Hirsch 1999, 145VP. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Stanley, J.T., Garrity, G.M. (szerk.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2nd ed. Vol. 2. The Proteobacteria. Part C. Springer, New York. pp. 215-217.
- MacIsaac E.A., Stockner J.G. (1993) Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence microscopy. In: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B., Cole, J.J. (szerk.), *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton. pp. 187-197.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D., Clark, D.P. (2010) *Brock Biology of Microorganisms* (13th Ed). Pearson, San Francisco.
- Meyer, F., Paarmann, D., D'Souza, M., Olson, R., Glass, E.M., Kubal, M., Paczian, T., Rodriguez, A., Stevens, R., Wilke, A., Wilkening, J., Edwards, R.A. (2008) The metagenomics RAST server - a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes. – *BMC Bioinformatics* 9:386.
- Pruesse, E., Peplies, J., Glöckner, F.O. (2012) SINA: accurate high-throughput multiple sequence alignment of ribosomal RNA genes. – *Bioinformatics* 28: 1823-1829.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O. (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. – *Nucl. Acids Res.* 41: D590-D596.
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn D.J., Weber, C.F. (2009) Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. – *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 7537-7541.
- Segata, N., Boernigen, D., Tickle, T.L., Morgan, X.C., Garrett, W.S., Huttenhower, C. (2013) Computational meta-omics for microbial community studies. – *Mol. Syst. Biol.* 9: 666.
- Sipos, R., Székely A.J., Palatinszky M., Révész S., Márialigeti K., Nikolausz M. (2007) Effect of primer mismatch, annealing temperature and PCR cycle number on 16S rRNA gene-targeting bacterial community analysis. – *FEMS Microbiol. Ecol.* 60: 341-350.
- Somogyi, B., Felföldi, T., Vanyovszki, J., Ágyi, A., Márialigeti, K., Vörös, L. (2009) Winter bloom of picoeukaryotes in Hungarian shallow turbid soda pans and the role of light and temperature. – *Aquat. Ecol.* 43: 735-744.
- Somogyi, B., Felföldi, T., Solymosi, K., Makk, J., Homonnay, Z.G., Horváth, G., Turcsi, E., Böddi, B., Márialigeti, K., Vörös, L. (2011) *Chloroparva pannonica* gen. et sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) – a new picoplanktonic green alga from a turbid, shallow soda pan. – *Phycologia* 50: 1-10.
- Sorokin, D.Y., Berben, T., Melton, E.D., Overmars, L., Vavourakis, C.D., Muyzer, G. (2014) Microbial diversity and biogeochemical cycling in soda lakes. – *Extremophiles*. 18: 791-809.
- Tindall, B.J., Rosselló-Móra, R., Busse, H.-J., Ludwig, W., Kämpfer, P. (2010) Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. – *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 249-266.
- Wang, Y.X., Li, Y.P., Liu, J.H., Xiao, W., Lai, Y.H., Li, Z.Y., Ding, Z.G., Wen, M.L., Cui, X.L. (2013) *Gracilimonas mengyeensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a salt mine in Yunnan, south-western China. – *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63(11): 3989-93.
- Wellburn, A.R. (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. – *J. Plant. Physiol.* 144: 307-313.
- Willems A., Gillis, M. (2005) Genus V. *Hydrogenophaga* Willems, Busse, Goor, Pot, Falsen, Jantzen, Hoste, Gillis, Kersters, Auling and De Ley 1989, 329VP. . In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Stanley, J.T., Garrity, G.M. (szerk.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2nd ed. Vol. 2. The Proteobacteria. Part C. Springer, New York. pp. 710-716.

Taxonomic and functional genomic analysis of the planktonic microbial community inhabiting an astatic soda pond

Szabó, A., Korponai, K., Somogyi, B., Vörös, L., Jurecska, L., Márialigeti, K. and Felföldi, T.

Abstract: Astatic soda ponds of the Carpathian Basin are light-limited due to their high suspended matter content and/or chromophoric dissolved organic matter content. This and their special chemical composition, furthermore their high nutrient content, make these habitats unique worldwide. Due to their characteristic physico-chemical properties, microbial communities living in these ponds are also unique. This study aimed to obtain a more detailed view about the structure and function of microorganisms with high-resolution genomic tools in the case of a soda pond prior desiccation, Búdös-szék pond near Szabadszállás in November 2012. For taxon identification, the V3-V4 region of the 16S rRNA gene was analyzed on a Roche GS Junior DNA sequencer. For the functional analysis, a shotgun metagenomic approach was applied on an Ion Torrent PGM genetic analyzer. Results showed a taxonomically and functionally complex microbial community structure dominated by members of the phyla Proteobacteria, Actinobacteria, and Bacteroidetes with the remarkable contribution of two uncultured Actinomicrobiaceae genera and the genera *Gracilimonas*, *Belliella*, *Hydrogenophaga*, *Roseovarius* and their relatives. Functional genomic analysis revealed various modes of adaptation to the alkaline environment and to the desiccating character of the studied habitat, which were present in the community gene pool; furthermore, the importance of the serine-pathway in the carbon cycle of this environment.

Keywords: 16S rRNA gene, soda pond, metagenome, Na⁺/H⁺ antiporters, next-generation DNA sequencing, functional genomics