



СБОРНИК ТЕЗИСОВ
ВСЕРОССИЙСКОЙ ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ
**«СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
РЕСУРСОВ МИКРООРГАНИЗМОВ»**



<https://brc.arriam.ru/>

Санкт-Петербург, 22-23 июня 2022 г.

УДК 579.25
ББК 28.440.4я43
С23

С23 Сборник тезисов Всероссийской школы-конференции «СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ МИКРООРГАНИЗМОВ». — Москва: Издательство Перо, 2022. — Мб. [Электронное издание].

ISBN 978-5-00204-342-2

Всероссийская школа-конференция «Сохранение и преумножение генетических ресурсов микроорганизмов» прошла 22-23 июня 2022 г. в Санкт-Петербурге. Целью школы-конференции явилось освещение различных аспектов работы с биоресурсными коллекциями микроорганизмов и демонстрация значимости их использования в фундаментальных и прикладных исследованиях в области генетики, микробиологии, молекулярной биологии и биотехнологии. Участники школы-конференции ознакомились с последними достижениями в области изучения, сохранения и развития биоресурсных коллекций микроорганизмов, современными омиксными и биоинформатическими технологиями для исследования микроорганизмов, результатами анализа биоразнообразия реликтовых и экстремофильных микроорганизмов, использования хозяйственно-ценных микроорганизмов в биотехнологии и современном земледелии, а также достижениями в изучении патогенных микроорганизмов и механизмов их взаимодействий с организмами-хозяевами. Школа-конференция содействовала повышению интереса молодежи к биоресурсным коллекциям микроорганизмов и приобретению новых знаний о методах и подходах к их исследованию, а также формированию новых научных контактов и укреплению сотрудничества. Мероприятие проводится при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках работ по проекту «Мобилизация генетических ресурсов микроорганизмов на базе Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ) при ФГБНУ ВНИИСХМ с использованием сетевого принципа организации» по соглашению от 28.09.2021 г. № 075-15-2021-1055.

УДК 579.25
ББК 28.440.4я43

ISBN 978-5-00204-342-2

© Авторы, 2022

ОРГАНИЗАТОР

Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ)

Мероприятие проводится при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках работ по проекту «Мобилизация генетических ресурсов микроорганизмов на базе Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ) при ФГБНУ ВНИИСХМ с использованием сетевого принципа организации» по соглашению от 28.09.2021 г. № 075-15- 2021-1055.



СО-ОРГАНИЗАТОР

Санкт-Петербургский научный центр РАН (СПбНЦРАН)



ПАРТНЕР

ООО Центр межрегионального инновационного развития «ИННО-МИР»



СПОНСОР

ООО «Компания Хеликон» —



с 1997 года один из ведущих российских поставщиков продукции и услуг для лабораторий, работающих в сферах фундаментальных научных исследований, биоиндустрии, клинической диагностики, криминалистики, ветеринарии и пищевой безопасности. Направления деятельности Компании:

- Продажи оборудования, реагентов и расходных материалов для молекулярно-биологических и клеточных исследований.
- Сервисная и методическая поддержка.

Компания Хеликон также имеет собственную производственную базу и выпускает продукцию под маркой «Helicon»: магнитные и лабораторные штативы, оборудование и комплектующие для электрофореза, системы гель–документирования, специализированную лабораторную мебель и др.

Наличие развитой логистической и складской сети позволяет доставлять заказы в кратчайшие сроки. Региональные представительства компании находятся в Санкт-Петербурге, Новосибирске, Казани, Ростове-на-Дону, Воронеже, Екатеринбурге и Владивостоке.

Контакты:

ООО «Компания Хеликон»

121374, Москва, Кутузовский проспект, д. 88

8 800 770 71 21 (звонки с любых телефонов РФ бесплатны)

+7 499 705 50 50 (в Москве)

E-mail: mail@helicon.ru Web: www.helicon.ru

Telegram: <https://t.me/HeliconCompany>

VK: <https://vk.com/helicon.company>

СПОНСОР

ООО «БИОТРОФ» —

компания с более чем 20-летним опытом работы — специализируется на разработке и производстве инновационных кормовых добавок для всех видов сельскохозяйственных животных, а также микробиологических препаратов для заготовки различных видов кормов.

Препараты, производимые компанией «БИОТРОФ», помогают поддерживать здоровый баланс микробиома желудочно-кишечного тракта животных, повышать эффективность усвоения корма, снижать токсическую нагрузку на организм животных при употреблении ими недостаточно качественных кормов, заготавливать корма высокого качества, повышать экономическую эффективность предприятий.

Высокое качество продуктов компании обеспечивается благодаря соблюдению строгих международных стандартов, постоянному техническому перевооружению производственных мощностей и контролю качества выходящей продукции на всех этапах ее производства при помощи самых современных молекулярно-генетических методов.

На предприятии внедрена система менеджмента качества ISO 22000:2019.

Производство в компании ООО «БИОТРОФ» соответствует применимым требованиям и условиям стандарта:

GMP+ B1 ПРОИЗВОДСТВО, ТОРГОВЛЯ И УСЛУГИ.





ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Председатель

- к.б.н. Кирилл Сергеевич Антоненц, в.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ, доцент СПбГУ

Члены комитета

- д.б.н., профессор РАН Антон Александрович Нижников, г.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- к.б.н. Михаил Владимирович Белоусов, с.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- к.б.н. Людмила Александровна Джапаридзе, СПбНЦ РАН
- к.б.н. Денис Сергеевич Карлов, н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- к.б.н. Светлана Петровна Фарбер, ФГБНУ ВНИИСХМ
- Марина Александровна Ковалевская, ФГБНУ ВНИИСХМ
- Ирина Анатольевна Колесник, ФГБНУ ВНИИСХМ

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Председатель

- д.б.н. Игорь Анатольевич Тихонович, академик РАН, ФГБНУ ВНИИСХМ, СПбГУ

Члены комитета

- д.б.н., профессор РАН Антон Александрович Нижников, г.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- д.б.н. Андрей Алексеевич Белимов, г.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- к.б.н. Вера Игоревна Сафронова, в.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- к.б.н. Владимир Кузьмич Чеботарь, в.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ 13

Изучение видового состава и генетических особенностей бактериальных штаммов, выделенных из каповой пещеры Шульган-Таш (Башкирия) 13

Сафронова В.И., Сазанова А.Л., Белымов А.А., Гоголев Ю.В., Чирак Е., Карлов Д.С., Кузнецова И.Г., Кузьмина Л.С., Тихонович И.А. 13

Развитие инфраструктуры в области микробных биоресурсов биотехнологического назначения 14

Синеокий С.П. 14

Информационная сеть российских коллекций микроорганизмов на базе ВКМ 14

Евтушенко Л.И., Василенко А.Н., Мулюкин А.Л., Ившина И.Б., Псурцева Н.В., Озерская С.М., Пименов Н.В. 14

Функциональное профилирование биоразнообразия с использованием принципов инкапсуляции 16

Терехов С.С., Смирнов И.В., Габитов А.Г. 16

Использование коллекции бактерий *Bacillus thuringiensis ssp* для повышения эффективности биологических препаратов для защиты растений 17

Гризанова Е.В. 17

Разнообразие и эволюция микроорганизмов глубинной подземной биосферы 18

Равин Н.В. 18

Микробиологические драйверы почвообразования и проблемы онтогенеза почв 19

Абакумов Е.В., Андронов Е.Е., Кимеклис А.К., Зверев А.О., Гладков Г.В. 19

Грибные и микробные сообщества почв черневой тайги Западной Сибири 19

Райко М.П., Сокорнова С.В., Латидус А.Л. 19

Молекулярно-генетический анализ коллекции штаммов *Salmonella*: путь к пониманию особенностей эпидемиологии, лабораторной диагностики и лечения острых кишечных заболеваний сальмонеллезной этиологии 20

Кафтырева Л.А. 20

ТЕЗИСЫ УСТНЫХ И СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ 21

***In silico* мутагенез лектина CGL для повышения специфичности к онкомаркерам у рекомбинантного гибрида со щелочной фосфатазой морской бактерии *Cobetia amphilecti* КММ 1561 21**

Буйновская Н.С., Лихацкая Г.Н., Ковальчук, С.Н., Балабанова Л.А. 21

Анализ генома бактерии некультивируемого филума MBNT15, полученного из метагенома торфяно-болотной почвы, выявил пути аэробного гетеротрофного метаболизма и диссимиляционного восстановления железа 22

Бегматов Ш.А., Белецкий А.В., Марданов А.В., Равин Н.В. 22

Арктические клубеньковые бактерии и их потенциальная роль в формировании пастбищных фитоценозов в условиях Крайнего Севера 23

Карлов Д.С., Гуро П.В., Сазанова А.Л., Сексте Э.А., Алехина И.А., Лащинский Н.Н., Белимов А.А., Сафронова В.И. 23

Бактериофаги клубеньковых бактерий из Переднеазиатского генцентра культурных растений 24

Козлова А.П., Мунтян В.С., Владимирова М.Е., Румянцева М.Л. 24

Биоресурсная коллекция микроорганизмов и ее использование в нанотехнологиях 26

Воейкова Т.А., Журавлева О.А., Кулигин В.С., Булушова Н.В., Дебабов В.Г. 26

Биотехнологический потенциал штамма *Bacillus velezensis* в выработке метаболитов, обладающих антимикробными свойствами 27

Пономарева Е.С., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Йылдырым Е.А., Дубровин А.В., Калиткина К.А., Дунышев Т.П., Лаптев Г.Ю. 27

Взаимосвязь видов дрожжевых микроорганизмов, обладающих антибактериальной активностью 28

Шульенина О.В., Толстыко Е.А., Яровой Б.Ф., Полесскова Е.В., Коневега А.Л. 28

Встречаемость последовательностей фагового происхождения на несимбиотических плазидах *Sinorhizobium meliloti* 29

Саксаганская А.С., Мунтян В.С., Мунтян А.Н., Симаров Б.В., Румянцева М.Л. 29

Выделение и идентификация природных изолятов *Bacillus thuringiensis* из образцов, отобранных в окрестностях озера Байкал 30

Романенко М. Н., Нижников А. А., Антонец К. С. 30

Выявление амилоидогенных белков в протеоме *Salmonella enteritidis* var. *Issatschenko*. 32

Фаюд Хайдар, Косолатова А.О., Антонец К.С., Нижников А.А. 32

Генетические основы биосинтеза О-полисахаридов бактерий рода *Ochrobactrum* 33

Пономарева Т.С.^{1,2*}, Бурьгин Г.Л.^{1,2,3} 33

Геномное секвенирование и биосинтетический потенциал бактерий рода *Cobetia* 34

Слепченко Л.В., Балабанова Л.А., Недашниковская О.И., Отставных Н.Ю., Носкова Ю.А., Сейткалиева А.В., Исаева М.П. 34

Горящие отходы добычи угля – источник новых термофилов. 35

Панова И.А., Русанов И.И., Лукина А.П., Авакян М.Р., Соколянская Л.О., Карначук О.В. 35

Зависимость биоразнообразия микроорганизмов от литологических характеристик и криогенного строения мерзлых грунтов 37

Петров С.А., Субботин А.М., Нарушко М.В., Касторнов А.А. 37

Изучение биоразнообразия микросимбионтов реликтовых и эндемичных видов бобовых растений, произрастающих на Камчатке 38

Гуро П.В., Сазанова А.Л., Кузнецова И.Г., Сафронова В.И. 38

Изучение таксономической структуры микросимбионтов гуара (*Cyatopsis tetragonoloba*) 39

Ульянич П.С. 39

Использование тест-системы на основе люминесцентных штаммов *Escherichia coli* для оценки генотоксичности химических веществ 40

Смирнова С.В., Шатино Т.Н., Абилев С.К. 40

Коллекция лабораторных и природных штаммов цианобактерий как основа для филогенетических, экологических и генно-инженерных исследований 41

Михеева Л.Е., Еланская И.В., Емец Е.В., Женавчук О.Ф., Карбышева Е.А., Муронец Е.М. 41

Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН: таксономическое разнообразие и биотехнологический потенциал 42

Куриленко В. В., Л. А. Романенко, О. И. Недашниковская, М. В. Пивкин, М. С. Кокоулин, А. Н. Юрченко, С. П. Ермакова, М. П. Исаева, В. В. Михайлов 42

Литический потенциал бактерий рода *Lysobacter*: от микробиологии к транскриптомике 44

Афошин А.С., Кудрякова И.В., Тарлачков С.В., Леонтьевская Е.А., Леонтьевская (Васильева) Н.В. 44

Метатранскриптомика патосистем 45

Гоголев Ю.В., Гоголева Н.Е., Осипова Е.В., Коннова Т.А., Хамо Х., Балкин А.С. 45

Метод инфракрасной фурье-спектроскопии в исследованиях особенностей макромолекулярного состава биопленок и планктонных культур агробиотехнологически важных бактерий 46

Камнев А.А. 46

Механизмы взаимодействия бактерий *Bacillus thuringiensis* с чувствительным и резистентным хозяином 48

Крыцына Т. И., Гризанова Е.В., Дубовский И.М. 48

Микобиота в донных грунтах и воде Карского и Печорского морей 49

Исакова Е.А. 49

Микробная сульфатредукция в кишечнике редких сельскохозяйственных и диких животных 50

Панов В.Л., Русанов И.И., Латыголец Е.А., Иккерт О.П., Лукина А.П., Глухова Л.Б., Авакян М.Р., Соколянская Л.О., Карначук О.В. 50

Молекулярно-генетическая характеристика перспективных для агробиотехнологий ризосферных штаммов Нижнего Поволжья 52

Бурьгин Г.Л., Крючкова Е.В., Каргаполова К.Ю., Гоголева Н.Е., Сафронова В.И., Сигида Е.Н., Перепелов А.В., Ткаченко О.В., Гоголев Ю.В. 52

Новый холистический подход к отбору штаммов бактерий для формирования коллекций пробиотиков животных 53

Мазанко М.С., Брень А.Б., Рудой Д.В., Чикиндас М.Л. 53

Объединение подходов по секвенированию коротких и длинных фрагментов 16S рРНК для анализа микробиома заброшенных почв сельскохозяйственных криогенных экосистем ЯНАО 55

Кимеклис А.К., Гладков Г.В., Низамутдинов Т.И., Кичко А.А., Пинаев А.Г., Андронов Е.Е., Абакумов Е.Е. 55

Опыт сотрудничества Коллекции ИЭГМ с промышленными партнерами 56

Ившина И.Б.^{1,2}, Кулюкина М.С.^{1,2*} 56

Особенности растительно-микробного взаимодействия в ризосфере тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.) 57

Жаркова Е.К., Ванькова А.А., Свиридова Л.А. 57

Оценка встречаемости антагонистов возбудителя желтой болезни гиацинта *Xanthomonas hyacinthi* в составе микробиоты потенциальных растений-хозяев 59

Дренова Н.В., Каримова Е.В., Шнейдер Е.Ю., Слепченко Н. А., Дренова Д. Д. 59

Первая гомологичная система экспрессии для перспективной стафилолитической бета-литической протеазы *L. capsici* VKM В-2533Т 60

Кудрякова И.В., Афошин А.С., Леонтьевская Е.А., Леонтьевская (Васильева) Н. В. 60

Полногеномное секвенирование и анализ штаммов *Saccharomyces cerevisiae* Петергофской генетической линии 62

Матвеевко А.Г., Барбитов Ю.А., Максютенко Е.М., Матиив А.Б., Москаленко С.Е., Дроздова П.Б., О.В. Тарасов, Белявская А.В., Предеус А.В., Журавлева Г.А. 62

Разнообразие грибов в составе микробного сообществе почв при монокультуре и в севообороте. 63

Альсаед Нур, Селицкая О.В. 63

Распространение и функции 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат дезаминазы у микроорганизмов 64

Белимов А.А., Шапошников А.И., Сырова Д.С., Сафронова В.И. 64

Реконструкция пангенома рода *Bacillus* – ключ к пониманию видовых особенностей 65

Шиков А.Е., Маловичко Ю.В., Нижников А.А., Антонец К.С. 65

Сборка генома эндофитной бактерии *Bacillus vallismortis* штамма BL01 66

Ганчева М.С., Чижевская Е.П., Пиццик В.Н., Келейникова О.В., Баганова М.Е., Заплаткин А.Н., Чеботарь В.К. 66

Секвенирование и анализ генома бактерии *Vizionia* sp. 041-53-Ur6, выделенной из морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* 67

Куриленко В.В., Балдаев С.Н., Отставных Н.Ю., Киселев К.В., Агеенко Н.В., Михайлов В.В., Исаева М.П. 67

Секвенирование и анализ генома бактерии *Lewinella* sp. КММ 6454, выделенной из тихоокеанской зелёной водоросли *Ulva fenestrata* 69

Недашниковская О.И., Быстрицкая Е.П., Отставных Н.Ю., Кухлевский А.Д., Михайлов В.В., Исаева М.П. 69

Секвенирование и анализ генома бактерии *Paracoccus* sp. КММ 6460, выделенной из красной водоросли *Tichocarpus crinitus* 70

Недашниковская О.И., Чаусова В.Е., Отставных Н.Ю., Кухлевский А.Д., Михайлов В.В., Исаева М.П. 70

Секвенирование и анализ генома бактерии *Pseudoalteromonas* sp. КММ 6382, выделенной из морской воды Японского моря 72

Недашниковская О.И., Личманюк Д.О., Отставных Н.Ю., Кухлевский А.Д., Михайлов В.В., Исаева М.П. 72

Секвенирование и анализ геномов штаммов, выделенных из донных осадков Чукотского моря – представителей нового рода семейства Weeksellaceae 73

Отставных Н.Ю., Романенко Л.А., Михайлов В.В., Исаева М.П. 73

Современные алгоритмы сборки геномов и метагеномов по данным секвенирования второго и третьего поколений 75

Пржибелский А.Д., Антипов Д.Ю., Шафранская Д.Д., Коробейников А.И., Латидус А.Л. 75

Создание коллекции штаммов дрожжей *Komagataella phaffii* для проведения фундаментальных и прикладных исследований 76

Румянцев А.М., Шуберт М.А., Макеева А.С., Цыганков М.А., Музаев Д.М., Петрова К.Д., Ишутганова В.В., Самбук Е.В., Падкина М.В. 76

Состав бактериального микробиома в мокроте больных раком легкого и оценка его влияния на кластогенные и анеугенные эффекты в лимфоцитах крови 77

Дружинин В.Г.; Баранова Е.Д. 77

Сравнение вирулентности различных штаммов и подвидов бактерий *Bacillus thuringiensis* по отношению к личинкам колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* 78

Тереценко Д.С., Гризанова Е.В., Бедарева Е.В., Дубовский И.М. 78

Сравнительная и эволюционная геномика кластеров генов О-антигена бактерий семейства *Oxalobacteraceae* 79

Афонникова С. 79

Стимулирующий эффект пробиотических бактерий *Bacillus spp.* и инактивированных дрожжевых культур на физиологические и продуктивные показатели медоносных пчел *Apis mellifera* 80

Соколова Э.С., Магер С.Н., Гризанова Е.В., Дубовский И.М. 80

Фунгицидная активность морфологических вариантов *Bacillus thuringiensis spp. aizawai* и их влияние на почвенную микробиоту картофеля 82

Бедарева Е.В., Масленникова В.С., Калмыкова Г.В., Акулова Н.И. 82

Цианобактерии как модельные объекты для изучения регуляторной роли вторичных метаболитов с применением «омиксных» технологий 83

Кокшарова О.А. 83

Эндوفитный штамм *Bacillus Amiloliquefaciens* P20 для борьбы с ризоктониозом картофеля 84

Заплаткин А.Н., Чеботарь В.К., Келейникова О.В., Баганова М.Е., Балашиев Н.А., Хютти А.В. 84

Эндофиты плодов яблони 85

Ванькова А.А., Шабля А.С., Свиридова Л.А. 85

Генетические методы изучения разнообразия и функций микробиомов сельскохозяйственных животных и птиц для улучшения здоровья и повышения продуктивности 87

Латтев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А. 87

ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ

Изучение видового состава и генетических особенностей бактериальных штаммов, выделенных из каповой пещеры Шульган-Таш (Башкирия)

Сафронова В.И.^{1*}, Сазанова А.Л.¹, Белимов А.А.¹, Гоголев Ю.В.², Чирак Е.¹, Карлов Д.С.¹, Кузнецова И.Г.¹, Кузьмина Л.С.³, Тихонович И.А.¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ «Казанский научный центр РАН», Казань, Россия

³ ФГБУН Уфимский институт биологии, Уфа, Россия

E-mail: * v.safronova@rambler.ru

Из образцов соскобов со стен, а также грунта и воды, отобранных в труднодоступном районе пещеры Шульган-Таш (озеро Верхнее Дальнее), выделено 120 бактериальных штаммов. С помощью метода секвенирования гена *16S* рРНК (*rrs*) проведена идентификация 48 штаммов. Показано, что наиболее многочисленными группами среди них являются представители родов *Polaromonas* (13 штаммов), *Flavobacterium* (8 штаммов) и *Nocardioides* (5 штаммов). Ряд изолятов имел менее 98% *rrs*-сходства с ближайшими типовыми штаммами, что говорит об их принадлежности к новым видам. Проведен анализ полногеномных последовательностей девяти штаммов родов *Polaromonas*, *Massilia*, *Nocardioides*, *Janibacter* и *Rhizobium* на наличие генов, участвующих в различных метаболических путях: фиксации CO₂, метаногенезе, метано- и метилотрофии, а также метаболизме азота и серы. Показано, что изученные штаммы различаются по составу генов, выполняющих разнообразные функции в вышеупомянутых процессах обмена веществ. Сделано предположение, что в экстремально сложных условиях обитания микроорганизмы используют две стратегии адаптации: (1) построение многозвеньевых метаболических путей разными компонентами микробного консорциума и (2) развитие собственной полифункциональности индивидуальными видами. Изучаемые штаммы имеют широкий потенциал практического применения. Например, де- и нитрификаторы можно использовать для очистки сточных вод, а метилобактерии - для продукции белка на производных метана.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-1055 от 28 сентября 2021 г. о предоставлении гранта на реализацию проекта: «Мобилизация генетических ресурсов микроорганизмов на базе Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ) при ФГБНУ ВНИИСХМ с использованием сетевого принципа организации».

Развитие инфраструктуры в области микробных биоресурсов биотехнологического назначения

*Синеокий С.П. **

НИЦ "Курчатовский институт" БРЦ Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов, Москва, Россия
E-mail: * sps0947@yandex.ru

Направление развития инфраструктуры определяется задачами, которые она должна решать. Основными задачами инфраструктуры в области микробных биоресурсов биотехнологического назначения является обеспечение возможности воспроизведения результатов исследований, связанных с изучением и использованием микроорганизмов, регулируемой доступности изученных микробных биоресурсов для использования в исследовательских и прикладных целях, стандартизация штаммов микроорганизмов (в т.ч. генно-инженерно-модифицированных) для защиты прав интеллектуальной собственности и биобезопасности при их использовании в биотехнологии. В мире накоплен значительный опыт по решению этих инфраструктурных задач, который нам важно учитывать. Важными критериями для инфраструктуры является стабильность деятельности, высокий научных, методический и технологический уровень работ, экономическая рациональность.

Информационная сеть российских коллекций микроорганизмов на базе ВКМ

Евтушенко Л.И. ^{1}, Василенко А.Н. ¹, Мулюкин А.Л. ², Ившина И.Б. ³, Псурцева Н.В. ⁴,
Озерская С.М. ¹, Пименов Н.В. ²*

¹Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ), ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

²Коллекция уникальных и экстремофильных микроорганизмов (UNIQEM), ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

³Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов (ИЭГМ), ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

⁴Коллекция культур базидиомицетов (LE-BIN), Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * evtushenko@ibpm.puschino.ru

Согласно прогнозам экспертов, в ближайшие годы многократно возрастут массивы новых микроорганизмов и информации о них, которые подлежат безусловному сохранению в коллекциях культур в интересах настоящего и будущих поколений. Эволюционирует и сама сфера деятельности и компетенций современных микробных

коллекций. Коллекции являются сегодня ключевыми элементами в действующих системах регистрации новых видов микроорганизмов, охраны прав интеллектуальной собственности, обеспечения выполнения международных обязательств государств в сфере легитимного оборота генетических ресурсов, вытекающих из Конвенции о биологическом разнообразии и обязующих протоколов к ней. Ведущие коллекции мира становятся «центрами компетенций» и «информационными центрами» по изучению микробного разнообразия. Масштаб и сложность задач, стоящих перед коллекциями микроорганизмов, определяют необходимость консолидации их деятельности. Известны разные формы и уровни кооперации. Интеграция в форме распределенной информационной сети видится сегодня оптимальной для российских коллекций в силу их ведомственной разобщенности, отличий по составу и качеству фондов, интересов и возможностей базовых организаций. В сообщении представлены результаты работы по созданию в РФ распределенной информационной сети коллекций микроорганизмов на основе портала ВКМ (www.vkm.ru). Система включает единую каталожную базу данных и интерактивный электронный каталог на ее основе, запросную систему и средства их поддержки. Каталогный стандарт сети соответствует таковому Всемирного центра данных о микроорганизмах (WDCM) Всемирной федерации коллекций культур (WFCC) и Европейского консорциума микробных коллекций (MIRRI). Генерация сводного каталога ведется регулярно, в он-лайн режиме, по мере обновления каталожных баз данных участников сети. В настоящее время в каталоге представлены сведения о более чем 9300 штаммах разных групп микроорганизмов (бактерии, археи, мицелиальные и дрожжевые грибы). Для каждого штамма имеется ссылка на коллекцию, в которой он поддерживается, и из которой может быть получен по запросу пользователей. Система поиска имеет несколько вариантов – по таксономическим названиям родов и видов разных групп микроорганизмов в алфавитном порядке, акронимам коллекций и номерам штаммов. В перечни таксономических названий включены также синонимы актуальных наименований штаммов, которые когда-либо были зафиксированы в истории коллекционных объектов. Результат поиска выводится с указанием полной (открытой) информации по конкретному штамму. Ядро сети коллекций составляют сегодня ВКМ, ИЭГМ, UNIQEM и LE-BIN. К сети могут присоединиться любые другие заинтересованные коллекции микроорганизмов. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение №075-15-2021-1051).

Функциональное профилирование биоразнообразия с использованием принципов инкапсуляции

*Терехов С.С.^{1,2} *, Смирнов И.В.^{1,2}, Габибов А.Г.^{1,2}*

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
E-mail: * sterekhoff@mail.ru

Биоразнообразие поддерживается посредством множества уникальных молекулярных взаимодействий между представителями экосистем. Классические методы молекулярной биологии зачастую приводят к усреднению наблюдаемых эффектов внутри популяции, что не позволяет детально исследовать функционально значимые субпопуляции. Инновационные методы, основанные на принципах инкапсуляции и последующем высокопроизводительном анализе индивидуальных биологических объектов, позволяют осуществлять глубокое фенотипическое и генотипическое профилирование биоразнообразия. Инкапсуляция индивидуальных биологических объектов не только позволяет наиболее эффективно сохранить биоразнообразие, но также является незаменимым инструментом для поиска уникальных представителей с заданной функциональностью. Ввиду своей универсальности, данная концепция была эффективно использована для глубокого функционального профилирования природного и синтетического биоразнообразия. Инкапсулируя индивидуальные клетки в каплях эмульсии, нами была проведена направленная эволюция ферментов, поиск антибиотиков и пробиотиков, персонифицированный скрининг антибиотикорезистентности, а также реконструкция природного репертуара антител человека. Полученные результаты свидетельствуют о том, что технологические платформы, основанные на принципах инкапсуляции и ультравысокопроизводительного скрининга, позволяют перейти на новый уровень понимания функционирования живых систем и сообществ организмов.

Исследования выполнены при поддержке гранта РФФ 21-14-00357.

Использование коллекции бактерий *Bacillus thuringiensis ssp* для повышения эффективности биологических препаратов для защиты растений

Гризанова Е.В.*

Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

Томский государственный университет, Томск, Россия

E-mail: * katalasa_2006@yahoo.com

Получение экологически чистой продукции, снижение использования химических пестицидов и агрохимикатов, снижение выбросов климатически активных газов, возможно благодаря использованию биологических средств защиты растений. Бактерии *Bacillus thuringiensis* являются основой биологических инсектицидов для защиты сельскохозяйственных растений от различных насекомых вредителей во всем мире. Формирование устойчивости насекомых к применяемым препаратам и снижение вирулентности бактерий ставит перед учеными новые вызовы по усовершенствованию и рациональному применению биологических инсектицидов. В лаборатории активно используется коллекция бактерий *Bacillus thuringiensis* различных подвидов для сравнения и поиска высоковирулентных штаммов по отношению к насекомым вредителям сельского хозяйства, таким как колорадский жук, капустная совка, луговой мотылек. Кроме того, потеря вирулентности при производстве биопрепаратов может быть связана с диссоциацией исходной культуры бактерий рода *Bacillus* на морфологические варианты, соответственно, изучение такого процесса имеет важное значение. Вирулентность бактерий многофакторное свойство, в лаборатории изучается вклад спор, кристаллических токсинов бактерий (Сгу-токсинов), различных токсинов и ферментов, синтезируемых вегетативными клетками в процессе размножения, в развитие инфекционного процесса в кишечнике насекомых, а также синергетический эффект в смертности насекомых (Chertkova et al., 2018; Zenkova et al., 2020; Dubovskiy et al., 2021). Блок работ посвящен изучению механизмов устойчивости насекомых к бактериям *Bacillus thuringiensis* при селекции на устойчивость большой вошинной огневки в лабораторных условиях (Grizanova et al., 2014; Dubovskiy et al., 2016; Mukherjee et al., 2017; Grizanova et al., 2019). Особый интерес представляет изучение Полифункционального действия бактерий *Bacillus thuringiensis ssp*, которое заключается в одновременном ростостимулирующем эффекте на растения, инсектицидном действии и снижении заболеваемости растений от фитопатогенных грибов (Шелихова и др., 2021).

Разнообразие и эволюция микроорганизмов глубинной подземной биосферы

Равин Н.В. *

Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

E-mail: * nravin@mail.ru

Наши знания о разнообразии и генетических ресурсах микроорганизмов ограничиваются тем что обычно более 99% микроорганизмов из природных экосистем не удается культивировать в лабораторных условиях. Глубинные подземные экосистемы являются одними из крупнейших местообитаний на Земле и могут оставаться изолированными от поверхности на протяжении миллионов лет. Большинство микроорганизмов глубиной подземной биосферы принадлежит к малоизученным некультивируемым линиям, многие из которых специфичны для подземных местообитаний. С использованием метагеномного подхода мы исследовали глубинные термальные водоносные горизонты Западной Сибири, залегающие в мезозойских осадочных породах на глубинах 2-3 км. В водоносных горизонтах были обнаружены разнообразные микробные сообщества, включающие, в различных сочетаниях, метаногенные археи, сульфат-редукторы, ферментативные микроорганизмы, аэробные гетеротрофы и микроорганизмы, способные к анаэробному дыханию. Наличие захороненной органики, пространственная неоднородность подземных водоносных горизонтов и длительный приток кислородсодержащих метеорных вод сделали возможным сосуществование различных метаболических групп микроорганизмов. Глубинные подземные экосистемы содержали новые некультивируемые линии прокариот. Будет представлено несколько примеров метаболической реконструкции представителей таких новых линий, основанной на геномном анализе. Метагеномный анализ выявил присутствие в подземных водах Западной Сибири *Candidatus Desulforudis audaxviator*, уникальной хемолитоавтотрофной бактерии, ранее обнаруженной в золотодобывающей шахте на глубине 2,8 км в Южной Африке. Анализ собранных из метагеномов геномов *Desulforudis audaxviator* из Сибири и Южной Африки, а также геномов единичных клеток из различных подземных местообитаний в Северной Америке, Африке и Евразии, показал, что средняя идентичность нуклеотидных последовательностей всех пар геномов превышает 99.5% и не коррелирует с географическим расстоянием. Сравнительная геномика *Ca. Desulforudis audaxviator* будет обсуждаться в контексте скорости и особенностей молекулярной эволюции. *Ca. Desulforudis audaxviator*, по-видимому, является «живым ископаемым», претерпевшим лишь минимальную эволюцию после разделения Пангеи более 50 миллионов лет назад. Альтернативным объяснением необычно высокого сходства геномов может являться существование неизвестных механизмов, которые обеспечивают быструю глобальную дисперсию микроорганизмов подземной биосферы.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 22-14-00178).

Микробиологические драйверы почвообразования и проблемы онтогенеза почв

Абакумов Е.В. ^{1,2}, Андронов Е.Е. ², Кимеклис А.К. ², Зверев А.О. ², Гладков Г.В. ²*

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * e_abakumov@mail.ru

Наиболее быстрые и верифицируемые модели первичного почвообразования и онтогенеза почв осуществляются на разнообразных свежесформированных горных породах Северо-запада России. При этом скорость почвообразования и интенсивность биокосных взаимодействий максимальна в южно-таежной зоне. Это позволяет использовать хроносерию почв в качестве модели онтогенеза зонального почвообразования и изучать дифференциацию таксономического и функционального состава микробиома почв на различных стадиях становления профиля почвы. В связи с этим анализируются ключевые микробиологические процессы и драйверы развития почв на различных стадиях развития их профиля.

Грибные и микробные сообщества почв черневой тайги Западной Сибири

Райко М.П. ^{1}, Сокорнова С.В. ², Лapidус А.Л. ¹*

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Центр алгоритмической биоинформатики, Санкт-Петербург, Россия

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * mike.rayko@gmail.com

Черневая тайга Западной Сибири является уникальной экосистемой, в которой основными лесобразующими породами являются пихта и осина. Она характеризуется гигантизмом многолетних трав и кустарников. Ранее этот феномен изучался только со стороны исследования климатических и почвенных особенностей. Исследования же микробиоты почв не проводились.

Метагеномный анализ таксономического состава грибов и микроорганизмов почв черневой тайги выявил таксоны, численность которых достоверно увеличивается по сравнению с фоновыми зональными почвами. В вегетационных экспериментах по выращиванию модельных растений в почвах черневой тайги и контрольных почвах в лабораторных условиях обнаружены ключевые таксоны ризосферы, способные служить драйверами повышенной фертильности исследуемых почв.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-16-00049.

**Молекулярно-генетический анализ коллекции штаммов *Salmonella*:
путь к пониманию особенностей эпидемиологии, лабораторной
диагностики и лечения острых кишечных заболеваний
сальмонеллезной этиологии**

*Кафтырева Л.А.**

Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

E-mail: * kafLidia@mail.ru

В докладе будут представлены современные подходы изучения генетического разнообразия бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, вызывающих инфекционные заболевания человека, способные к широкому эпидемическому распространению. Будут рассмотрены гены вирулентности и резистентности к антимикробным препаратам, формирующие патогенный потенциал штаммов возбудителей. Использование стандартизованных молекулярно-генетических методов и анализа, международных баз данных, содержащих подробную информацию о генетической характеристике штамма, позволяют проводить детекцию успешных международных эпидемических клонов возбудителей, способных к широкому пандемическому распространению, оценивать их эволюцию и географическое распространение.

ТЕЗИСЫ УСТНЫХ И СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ

***In silico* мутагенез лектина CGL для повышения специфичности к онкомаркерам у рекомбинантного гибрида со щелочной фосфатазой морской бактерии *Cobetia amphilecti* КММ 1561**

Буйновская Н.С.*, Лихацкая Г.Н, Ковальчук, С.Н., Балабанова Л.А.

ТИБОХ ДВО РАН, Владивосток, Россия

E-mail: * n.s.buinovskaya@gmail.com

Одним из ключевых изменений гликозилирования злокачественных клеток в тканях является изменение процессинга сиаловой кислоты, что приводит к активизации сиалированных гликанов на клеточных поверхностях и повышенному введению в их структуру N-гликолилнейраминовой кислоты (Neu5Gc), несвойственной здоровым клеткам человека. Это происходит по причине изменения уровней экспрессии сиалилтрансферазы и сиалидазы. Гиперсиалирование, связанное с онкогенезом, влияет на взаимодействие опухолевых клеток с микроокружением, в частности на модуляцию лектинов, связывающих сиаловую кислоту на иммунных клетках. Методами структурной биоинформатики (МОЕ 2018.01) мы смоделировали несколько пространственных структур лектина CGL из морского моллюска, входящего в состав бифункционального гибридного белка с активностью щелочной фосфатазы из морской бактерии *C. amphilecti* КММ 1561, для установления механизма его углевод-связывающей специфичности к галактозному остатку в структуре глоботриозы и муцина. Однако *in silico* мутагенез CGL в положении Н37, Н85 и Н129 в трех сайтах связывания соответственно привел к смещению углеводной специфичности лектина. У мутантов Н37А, Н85А и Н129А расчетная энергия связывания с Neu5G указывает на появление у них высокого сродства к сиаловым кислотам. В то же время мутанты теряют водородные связи между остатками 37, 85 и 129 и галактозой (PDB 5F8W), что подтверждено экспериментально их более слабым связыванием с муцином по сравнению с немутантным лектином. Способность мутантного CGL образовывать комплексы с сиаловой кислотой в образцах позволит повысить специфичность к углеводному профилю онкомаркеров раковых клеток при использовании диагностических тест-систем на основе рекомбинантного лектина CGL с высокоактивной щелочной фосфатазой морской бактерии.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.БРК.21.0004 (соглашение № 075-15-2021-1052 от 29.09.2021).

Анализ генома бактерии некультивируемого филума MBNT15, полученного из метагенома торфяно-болотной почвы, выявил пути аэробного гетеротрофного метаболизма и диссимиляционного восстановления железа

*Бегматов Ш.А. *, Белецкий А.В., Марданов А.В., Равин Н.В.*

Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва, Россия

E-mail: * shabegmatov@gmail.com

Бактерии кандидатного филума MBNT15, филогенетически близкого к дельта-протеобактериям, были обнаружены с помощью молекулярных методов в различных экосистемах, включая почвы, водоемы и донные осадки, но до настоящего времени MBNT15 не имеет культивируемых представителей. В ходе исследования микробиомов торфяно-болотных почв Европейской части России мы обнаружили, что на филум MBNT15 приходится до 2% последовательностей генов *16S* рРНК прокариот в торфе из низинных болот. В результате секвенирования метагенома торфяно-болотной почвы было определено 123 генома, один из которых представлял филум MBNT15. Этот геном, обозначенный SHF-111, был собран в виде 6 контигов суммарной длиной 2.68 млн. нт., доля этого генотипа в метагеноме составляла около 0.5%. Полнота генома, по оценке сервиса CheckM составляла 100%. В соответствии с Genome Taxonomy Database он представлял новый вид в кандидатном роде CG2-30-66-27, семейства, класса и порядка MBNT15, филума Desulfobacterota E.

Анализ генома бактерии SHF-111 выявил наличие трех гликолитических путей, - Эмбдена-Мейергофа, Энтнера-Дудорова и пентозофосфатного, а также окислительного цикла трикарбоновых кислот. Наличие ключевых ферментов пути Вуда-Льюнгаля указывает на возможность автотрофной фиксации CO₂. В качестве субстратов SHF-111 может использовать не сложные полисахариды и белки, а некоторые простые сахара, аминокислоты и пептиды, о чем свидетельствует отсутствие секретируемых гидролитических ферментов при наличии транспортеров сахаров (мальтозы, фруктозы и др.), аминокислот, олиго- и ди-пептидов. Наличие пути бета-окисления жирных кислот указывает на возможность их использования в качестве субстратов. Также бактерия SHF-111 имеет несколько транспортеров, позволяющих использовать интермедиаты цикла трикарбоновых кислот (цитрат, сукцинат, фумарат, малат). Анализ генома SHF-111 показал наличие у этой бактерии основных компонентов аэробной электрон-транспортной цепи, включая терминальные цитохром оксидазы различных типов, что указывает на возможность роста при разных концентрациях кислорода. Особенностью SHF-111 является наличие у нее более 30 генов, кодирующих секретируемые мультигеновые цитохромы с типа, которые могут обеспечивать использование нерастворимого Fe(III) в качестве акцептора электронов при анаэробном дыхании. Это согласуется с тем, что доля MBNT15 в микробиомах торфяно-болотных

почв положительно коррелировала с содержанием железа. Таким образом, бактерии филума MBNT15 обладают разнообразными возможностями метаболизма, специализируются на использовании низкомолекулярных органических субстратов и способны расти как в аэробных условиях, так и анаэробно, осуществляя диссимиляционное восстановление железа.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-318 от 20.04.2022г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Арктические клубеньковые бактерии и их потенциальная роль в формировании пастбищных фитоценозов в условиях Крайнего Севера

Карлов Д.С.^{1}, Гуро П.В.¹, Сазанова А.Л.¹, Сексте Э.А.¹, Алехина И.А.², Лащинский Н.Н.³,
Белимов А.А.¹, Сафронова В.И.¹*

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

²ГНЦ «Арктический и антарктический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия

³Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия
E-mail: * deniskarlov23@gmail.com

Глобальное изменение климата сопровождается кардинальной перестройкой всей арктической экосистемы, что может способствовать формированию в северных регионах России пастбищных фитоценозов, существенную часть которых составляют бобовые растения. С целью поиска и сбора семян и клубеньков арктических дикорастущих бобовых растений была проведена экспедиция в труднодоступные районы дельты реки Лены и окрестностей поселка Тикси (Северная Якутия). В ходе экспедиции были обнаружены популяции различных видов бобовых растений, принадлежащих к родам *Astragalus*, *Oxytropis*, *Hedysarum*, *Vicia* и *Lathyrus*. Присутствие вида *L. palustris* L. на острове Самойловский, расположенном в дельте Лены, было описано впервые. Для получения изолятов было отобрано 8 видов растений (*L. palustris*, *V. cracca*, *A. tugarinovii*, *A. frigidus*, *A. norvegicus*, *O. nigrescens*, *O. sordida* и *O. taimyrensis*) и 60 клубеньков из которых было выделено 95 бактериальных штаммов. Таксономическое положение 59 изолятов было изучено с помощью секвенирования гена *16S* рРНК. Из них 36 штаммов были отнесены к 5 родам клубеньковых бактерий порядка *Rhizobiales*: *Bosea* (17 штаммов), *Rhizobium* (10 штаммов), *Tardiphaga* (5 штаммов), *Mesorhizobium* (3 штаммов) и *Phyllobacterium* (1 штамм). Большинство

изолятов *Rhizobium* и *Mesorhizobium* были выделены из популяций *L. palustris* и *V. cracca*, тогда как в клубеньках остальных видов бобовых преимущественно доминировали представители *Bosea* и *Tardiphaga*. Интересно, что у видов *A. tugarinovii* и *O. taimyrensis*, произрастающих в районе озера Севастьян-Кюеле (окрестности п. Тикси), было отмечено присутствие изолятов рода *Tardiphaga* и отсутствие представителей *Bosea*, что может быть связано как со специфичностью растения-хозяина к микросимбионту, так и, возможно, с особенными почвенно-климатическими условиями в этом районе, влияющими на спектр почвенного микробиома. Штаммы из рода *Tardiphaga* и *Bosea* часто выделяются из клубеньков бобовых растений, однако их способность к нодуляции не описана. По результатам микровегетационных опытов показана способность некоторых штаммов *Rhizobium sp.*, выделенных из клубеньков *L. palustris* и *V. cracca*, формировать эффективный азотфиксирующий симбиоз с сельскохозяйственными кормовыми бобовыми *V. sativa* и *V. cracca*.

Таким образом, в результате работы был определен спектр микросимбионтов ряда бобовых растений, произрастающих в дельте реки Лены и окрестностях поселка Тикси, а также изучена их способность формировать эффективные клубеньки на растении-хозяине.

Создание и долгосрочное поддержание коллекции холодоустойчивых ризобияльных штаммов позволит сохранить ценные генетические ресурсы для их последующего использования в сельском хозяйстве, в том числе при формировании высокопродуктивных пастбищных агрофитоценозов в условиях Крайнего Севера.

Работа проведена при поддержке гранта РФФИ № 20-76-10042.

Бактериофаги клубеньковых бактерий из Переднеазиатского генцентра культурных растений

*Козлова А.П. *, Мунтян В.С., Владимирова М.Е., Румянцева М.Л.*

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * alexsandrak95@mail.ru

Введение. Бактериофаги могут существенно влиять на численность штаммов в почвенном микробиоме, а также в ризосфере бобового растения-хозяина. В случае их встройки в геном бактерии-хозяина (лизогенный путь развития) они могут оказывать влияние на культуральные и/или симбиотические свойства ризобий. Целью данной работы было изучение почвенных бактериофагов в одном из очагов разнообразия бобовых растений, относящегося к Первичному центру разнообразия культурных

растений на Кавказе. В этом же районе, как нами показано ранее, было выявлено высокое генетическое разнообразие азотфиксирующих клубеньковых бактерий, микросимбионтов бобовых растений.

Методы. Морфотипы негативных колоний изучали с использованием метода двуслойного агара по Адамсу. Морфологию вириона оценивали методами электронной микроскопии. Геномы бактериофагов были секвенированы с использованием MiSeq, Illumina, собраны (модули SPAdes, Flye, Racon и Medaka, Pilon) и аннотированы с помощью Prokka. Для анализа геномов бактериофагов использовали инструменты BLASTn и BLASTp.

Результаты. Получено три новых бактериофага, контрастно различавшихся по морфотипу негативных колоний, оцениваемых с тест-штаммами *Sinorhizobium meliloti* из коллекции природных изолятов клубеньковых бактерий, выделенных из разных генцентров бобовых растений, лаборатории генетики и селекции микроорганизмов ФГБНУ ВНИИСХМ. Были выделены нуклеиновые кислоты фагов, проведено их секвенирование с использованием MiSeq, Illumina и осуществлена сборка геномов. Анализ геномов показал, что фаг, имевший геном размером более 60 т. п.н., относился к семейству *Siphoviridae*. Для данного фага было установлено высокое сходство с геномом фага *Rhizobium phage* 16-3 (Ref Seq NC_011103). Фаг, имевший геном размером более 120 т.п.н., относился к семейству *Podoviridae*, а фаг, геном которого составил более 400 т.п.н., относился к семейству *Myoviridae*. Установлено, что нуклеотидные последовательности обоих упомянутых выше фагов не имели гомологии с известными бактериофагами.

Вывод. Генцентры культурных растений характеризуются не только высоким разнообразием макро- и микросимбионтов азотфиксирующих растительно-микробных систем, но также являются сосредоточием ризобифагов, значительно различающихся по морфологии и активности.

Работа выполнена при поддержке РФФ 20-16-00105.

Биоресурсная коллекция микроорганизмов и ее использование в нанотехнологиях

Воейкова Т.А., Журавлева О.А., Кулигин В.С., Булушова Н.В., Дебабов В.Г.*

НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

E-mail: * zhuravlevaolgga@gmail.com

Наночастицы металлов и их солей (NPs) широко используются в различных областях промышленности, медицины, биологии. Существуют различные физические и химические методы получения NPs, которые часто являются трудоемкими и энергозатратными процессами, токсичные отходы производства негативно влияют на состояние окружающей среды и здоровье человека. Дополнением и альтернативой физико-химическим методам может стать «зеленый» синтез биогенных NPs, который является экологически чистым, масштабируемым, дешевым, не требует сложных условий производства. Суть этого метода состоит во взаимодействии солей-прекурсоров химических соединений с биологическими субстанциями, которыми могут быть микроорганизмы, грибы, экстракты растений, что приводит к образованию наноразмерных структур с последующей стабилизацией биополимерами – белками, полисахаридами, фосфорсодержащими молекулами, адсорбирующимися на их поверхности. Биогенные наночастицы во многом сопоставимы по своим характеристикам и свойствам с наноматериалами, полученными физико-химическими методами, а в ряде случаев и превосходят таковые. В настоящем докладе рассматриваются вопросы получения и анализ характеристик биогенных наночастиц серебра, сульфидов серебра, кадмия и цинка (NPsAg, NPsAg₂S, NPsCdS, NPsZnS) с использованием штаммов из Биоресурсного центра Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт».

Показано, что использование различных видов микроорганизмов для биосинтеза наночастиц дает возможность получения нанокристаллов различной формы и размеров, отличающихся по физическим и оптическим характеристикам, с индивидуальным составом белков на их поверхности. Состав биополимеров, адсорбированных на наночастицах и его количественная характеристика, во многом определяют свойства наноматериала, их функциональную значимость, возможность совместимости с биологическими объектами.

Анализ функциональных свойств NPs показал возможность использования биогенных NPsAg и NPsCdS в качестве антибактериальных и противогрибковых средств нового поколения. Фотокаталитические свойства биогенных NPsCdS и возможность их многократного использования продемонстрированы на модели обесцвечивания синтетических красителей различных типов.

Таким образом, установлена определяющая роль микроорганизмов в формировании наночастиц с различными параметрами и необходимость оценки и выбора штаммов из биоресурсных коллекций для получения эффективных функциональных наноматериалов.

Биотехнологический потенциал штамма *Bacillus velezensis* в выработке метаболитов, обладающих антимикробными свойствами

Пономарева Е.С.^{1*}, Ильина Л.А.^{1,2}, Филиппова В.А.^{1,2}, Йылдырым Е.А.^{1,2}, Дубровин А.В.¹, Калиткина К.А.^{1,2}, Дуняшев Т.П.¹, Лантев Г.Ю.^{1,2}.

¹ООО «БИОТРОФ+», Санкт-Петербург, Россия

²ФГБОУ ВО СПбГАУ, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * kate@biotrof.ru

Целью исследования был молекулярно-биологический анализ и биоинформатическая аннотация генома штамма бактерии *Bacillus velezensis* RT-26 и установление пробиотического потенциала для применения в технологии кормления сельскохозяйственных животных. Выделение ДНК проводили по стандартным методикам с использованием набора Genomic DNA Purification Kit. Нуклеотидные последовательности определяли с использованием прибора MiSeq («Illumina, Inc.», США). Геномный анализ показал, что выделенный нами штамм *B. velezensis* RT-26 обладает кластерами генов, связанных с биосинтезом вторичных метаболитов, которые играют важную роль как в подавлении патогенов, так и в стимулировании роста растений. Благодаря биоинформатической обработке у штамма обнаружен полный путь синтеза дипептидного антибиотика бацелизина, были так же обнаружены участки генов кодирующие и другие бактериостатические антибиотики (амилоциклин, бациллин, бациллибактин, бацилломицин D, дифицидин, макролактин и сурфактин). Был проведен эксперимент по исследованию влияния пробиотического препарата в рационах лактирующих коров в период раздоя на состав микробиоценоза. Для проведения экспериментов подготовлены 2 группы коров-аналогов (по 10 голов) чернопестрой породы, получающие стандартный общехозяйственный рацион, принятый в хозяйстве, рассчитанный в соответствии с детализированными нормами кормления. Опытная группа дополнительно к общехозяйственному рациону получала 20 г препарата на основе штамма *B. velezensis* RT-26, нанесенного на отруби (108 КОЕ/г). В рубце исследованных коров было обнаружено 27 филумов микроорганизмов, доминирующими из которых оказались филумы *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Firmicutes*. У животных опытной группы с введением в рацион штамма *B. velezensis* RT-26 происходило резкое снижение ($p \leq 0,05$) микроорганизмов филума *Fusobacteria*, представленного, в основном, видом *Fusobacterium necrophorum*, - с $5,23 \pm 1,9\%$ (в контроле) до $0,003 \pm 0,0004\%$. Это говорит о положительном влиянии добавки на регуляцию микробиома, поскольку у коров с метаболическими нарушениями, на фоне смещения равновесия в рубце в сторону образования лактата, *Fusobacterium necrophorum* получают конкурентное преимущество. Этот патоген вызывает падение продуктивности, а также все сопутствующие метаболическим нарушениям патологии у животных, такие как послеотельные осложнения, проблемы с воспроизводством,

ламиниты и хромоту. Таким образом, улучшение производственных показателей у коров опытной группы может быть связано с восстановлением микробиома под влиянием введения в рацион штамма *B. velezensis* RT-26 на фоне высококонцентратного кормления.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФ №17-76-20026.

Взаимосвязь видов дрожжевых микроорганизмов, обладающих антибактериальной активностью

Шуленина О.В.^{1,2*}, Толстыко Е.А.¹, Яровой Б.Ф.¹, Полесскова Е.В.^{1,3}, Коневега А.Л.^{1,2,3}

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * ovshulenina@gmail.com

Устойчивость бактерий к известным антибиотикам является серьезной проблемой, которая ведет к необходимости поиска новых антимикробных соединений. В качестве источника неизвестных ранее антибактериальных веществ, подтвердивших свою эффективность в ходе естественного отбора, выступает природное биоразнообразие. Так, изучение вторичных метаболитов организмов, принадлежащих к царству грибов, привело к открытию цефалоспоринов, плевромутилинов, пенициллинов и др. [1]. В Петербургском Институте Ядерной Физики в Отделении Молекулярной и Радиационной Биологии сформирована коллекция дрожжей и дрожжеподобных грибов, которая насчитывает более 2500 штаммов. Микроорганизмы коллекции были обнаружены в результате четырех научно-исследовательских экспедиций в экстремальные труднодоступные регионы России – на Камчатку, Курильские острова, остров Сахалин [2]. В настоящее время активно ведется масштабная научно-исследовательская работа по анализу антибактериальной активности микроорганизмов коллекции с помощью высокопроизводительного скрининга и анализу видовой принадлежности штаммов с помощью метода секвенирования. Показаны антимикробные свойства вторичных метаболитов 600 штаммов коллекции, при этом выявлена принадлежность некоторых из них родам *Cryptococcus (Naganishia)*, *Candida*, *Rhodotorula* [3, 4]. Целью данного исследования было установление генетических взаимосвязей внутри группы неизвестных дрожжевых микроорганизмов с

использованием данных секвенирования видоспецифичных последовательностей ДНК. Основным критерием для формирования указанной группы служило снижение бактериального роста в присутствии вторичных метаболитов дрожжевых культур более чем в 2 раза в течение 24 часов. В работе проводили секвенирование последовательностей внутреннего транскрибируемого региона ITS1-5.8S-ITS2 и доменов D1/D2 гена большой рибосомной субъединицы (26S рДНК). Данные секвенирования анализировали по схеме: установление видовой принадлежности исследуемых штаммов с помощью баз данных грибов; проведение множественного выравнивания полученных последовательностей; построение филогенетического дерева на основании множественного выравнивания; визуализация данных; проверка достоверности полученного филогенетического дерева. Полученные данные расширяют представление о взаимосвязи различных видов дрожжевых микроорганизмов, обладающих антимикробной активностью, а также могут позволить в дальнейшем прогнозировать появление антибактериальных свойств у близкородственных одноклеточных грибов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Hutchings M.I. et al., Current Opinion in Microbiology. 51, 2019.
2. Суслов А.В. и др., Радиационная биология. Радиоэкология. 44 (5), 2004.
3. Shulenina O.V. et al., J Bioenerg Biomembr. 50, 2018.
4. Шуленина О.В. и др., Неделя науки СПбПУ: материалы научной конференции с международным участием. 2019.

Работа выполнена при финансовой поддержке «КГЦ – ПИЯФ» программой развития центров генетических исследований мирового уровня, Соглашение No. 075-15-2019-1663.

Встречаемость последовательностей фагового происхождения на несимбиотических плаزمидях *Sinorhizobium meliloti*

*Саксаганская А.С.**, *Мунтян В.С.*, *Мунтян А.Н.*, *Симаров Б.В.*, *Румянцева М.Л.*

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * allasaksaganskaya@mail.ru

Геном клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* обогащен несимбиотическими плазмидами, генетический потенциал которых практически не оценен. Ранее было показано, что геномы природных штаммов *S. meliloti* значительно различаются по

числу и размеру указанных плазмид. В данной работе оценена встречаемость последовательностей фагового происхождения на 20-ти несимбиотических плазмидах, варьирувавших по размеру от 17.2 до 453.8 т.п.н., которые были выявлены в полногеномных последовательностях 12-ти штаммов клубеньковых бактерий люцерны из коллекции лаборатории генетики и селекции микроорганизмов ВНИИСХМ. Последовательности профагов обнаружены на 7-ми из 8-ми плазмид, выявленных у 5-ти штаммов из очага разнообразия бобовых растений, расположенного на северо-западе Большого Кавказского хребта (далее СКГ) и относящегося к первичному центру разнообразия культурных растений, а также на 7-ми из 12-ти плазмид, идентифицированных у 7-ми штаммов из центра интрогрессивной гибридизации люцерны на северо-западе Казахстана (далее ПАГ), согласно анализу с использованием алгоритма PHASTER (<https://phaster.ca/>). Размеры последовательностей фагового происхождения варьировали от 5.1 до 33 т.п.н., а их количество было от 1 до 11 на репликон. Профаги, родственные фагам семейства *Siphoviridae*, преобладали на плазмидах штаммов из СКГ ($P < 0.05$), тогда как на криптических плазмидах штаммов ПАГ с равными частотами преобладали профаги, гомологичные фагам *Siphoviridae* и *Podoviridae*. Установлены достоверные различия между частотами встречаемости интактных и неполных профагов на плазмидах штаммов СКГ и ПАГ ($P < 0.05$). Преобладание интактных профагов на криптических плазмидах штаммов *S. meliloti* из СКГ может указывать на высокую инфекционную активность фагов семейства *Siphoviridae* в указанном центре разнообразия бобовых растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ 20-16-00105.

Выделение и идентификация природных изолятов *Bacillus thuringiensis* из образцов, отобранных в окрестностях озера Байкал

Романенко М. Н.^{1,2}, Нижников А. А.^{1,2}, Антонец К. С.^{1,2}*

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * romanenkomariabio@gmail.com

Использование в сельском хозяйстве инсектицидов, полученных на основе бактериальных продуцентов, является актуальной альтернативой пестицидам (Jouzani et al., 2017). Несмотря на то, что в сравнении с химическими пестицидами рынок биопрепаратов ещё не так широк, сфера производства инсектицидов на основе бактериальных продуцентов активно развивается. Поиск и изучение новых штаммов

продуцентов необходимы для расширения ассортимента экологически безопасных средств борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур. Особое место среди микроорганизмов, которые служат основой биопрепаратов, занимают энтомопатогенные бактерии *Bacillus thuringiensis*. Для создания новых препаратов ведется поиск и отбор активных штаммов из природных источников (почва, больные насекомые, зараженные ткани и органы растений). На территории Российской Федерации располагается озеро Байкал. Как известно, озеро и прибрежные территории отличаются уникальным разнообразием флоры и фауны, большая часть видов животных и растений эндемична. Именно поэтому исследование разнообразия микроорганизмов данной территории, в том числе поиск и изучение новых штаммов *Bacillus thuringiensis*, представляет большой интерес. В связи с этим в окрестностях озера Байкал были отобраны 14 образцов почв с целью выделения изолятов *Bacillus thuringiensis*. Для получения изолятов из образцов почв было использовано их нагревание до +80°C и выращивание на селективной среде для споруляции бактерий группы *Bacillus cereus*. Помимо этого, была проведена проверка изолятов с помощью световой микроскопии и окрашивание красителем бриллиантовый кумасси для классификации бактерий на основе морфологии. В ходе выделения штаммов было получено 72 изолята, обладающих схожей морфологией колоний. По результатам микроскопии в культуре двух штаммов выявлены бипирамидальные кристаллы. Кроме того, различные окрашенные включения неизвестной природы, визуальное сходство с кристаллами, были найдены в 13 других штаммов. Оставшаяся часть изолятов, по данным микроскопии, не имела кристаллов или других окрашенных включений. С целью идентификации методами молекулярной систематики, а именно выяснения филогенетического положения изолятов на основе секвенирования последовательностей гена *gyrB*, были отобраны 15 изолятов. Анализ последовательностей гена *gyrB* показал, что 4 штамма входят в состав группы *Bacillus cereus* и принадлежат к виду *Bacillus thuringiensis*. Таким образом, нами получен ряд новых природных изолятов *B. thuringiensis* с еще не изученными свойствами и можно сделать вывод, что район озера Байкал является перспективной территорией для поиска новых представителей данного вида.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Jouzani G. S., Valijanjan, E., & Sharafi, R. (2017). *Bacillus thuringiensis*: A successful insecticide with new environmental features and tidings. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(7), 2691–2711. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8175-y>

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ 20-76-10044.

Выявление амилоидогенных белков в протеоме *Salmonella enteritidis* var. *Issatschenko*.

Фаюд Хайдар^{1,2*}, Косолапова А.О. ^{1,2} Антонец К.С. ^{1,2}, Нижников А.А. ^{1,2}.

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * haidar.fayoud@gmail.com

Амилоиды представляют собой белковые фибриллы с упорядоченной пространственной структурой, называемой кросс-β. На сегодняшний день было показано, что амилоиды участвуют в широком спектре биологических процессов как патогенных, так и функциональных. У бактерий функциональные амилоиды вовлечены в формирование биопленок, хранении токсинов, преодолении поверхностного натяжения и других функциях. Поиск новых патологических и функциональных амилоидов представляет собой одну из важнейших задач современной биомедицины. Ранее, используя протеомный метод для скрининга и идентификации амилоидов PSIA–LC–MALDI, был проведен протеомный скрининг кандидатов на новые амилоидообразующие белки у *Salmonella enteritidis* var. *Issatschenko*. Этот микроорганизм обладает специфичными родентицидными свойствами, поражая только представителей отряда грызунов. В результате был идентифицирован ряд белков, которые образуют амилоидоподобные агрегаты, устойчивые к детергентам.

Критерии выбора белков-кандидатов для дальнейшей проверки амилоидных свойств из списка идентифицированных белков включали низкую молекулярную массу и наличие потенциально амилоидогенных участков, обогащенных гидрофобными аминокислотами, предсказываемых алгоритмом Waltz. Для дальнейшего расследования были отобраны три кандидата, отвечающие этим критериям: MalE, - компонент ABC-транспортного комплекса MalEFGK, участвующего в импорте мальтозы/мальтодекстрина; Dps, - ассоциированный с нуклеоидом белок, участвующий в вирулентности, конденсации нуклеоидов и защите от свободных радикалов; TraT, - липопротеин внешней мембраны, который защищает бактерии от лизиса и имеет сходную структуру с другими ключевыми белками внешней мембраны, в частности с поринами. Были подобраны специфичные праймеры и успешно амплифицированы фрагменты соответствующих генов. Для сверхэкспрессии гена *malE* была сконструирована плазида pLate31-MalE. Эта плазида позволяет сверхпродуцировать белок MalE, тагированный на C-терминальном конце bHis. Дальнейшая работа будет включать наработку белков, их очистку и проверку способности формировать фибриллы, а также анализ амилоидных свойств фибрилл.

Работа выполнена при поддержке грантов Президента РФ № МД-2302.2022.5 (анализ генома бактерий) и РФФ 22-26-00276 (наработка рекомбинантных белков и анализ свойств).

Генетические основы биосинтеза О-полисахаридов бактерий рода *Ochrobactrum*

Пономарева Т.С. ^{1,2*}, Бурыгин Г.Л. ^{1,2,3}

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СНЦ РАН, Саратов, Россия

³Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов, Россия

E-mail: * ponomareva_t@ibppm.ru

Бактерии рода *Brucella/Ochrobactrum* group широко распространены в различных природных средах и представлены как свободноживущими водными и почвенными штаммами, так и симбионтами растений, а также патогенами человека и животных. Изучение данной группы микроорганизмов является актуальной задачей в связи с её филогенетической близостью с клубеньковыми бактериями *Ensifer/Sinorhizobium* group и патогенами рода *Brucella*. Одними из важных компонентов клеточных стенок бактерий рода *Ochrobactrum* являются липополисахариды, во многом определяющие успешность взаимодействия микроорганизма с клетками организма-хозяина. Для двух штаммов *O. cytisi* IPA7.2 и *O. lupini* KUDC1013 показано, что их липополисахариды проявляют фитостимулирующий эффект и оказывают защитное действие от фитопатогенов. При этом на сегодняшний день структура О-полисахаридов (углеводная часть липополисахаридов) бактерий рода *Ochrobactrum* изучена крайне слабо: химическое строение повторяющихся звеньев установлено только для 4 штаммов.

В данной работе были проанализированы геномы 16-ти типовых штаммов рода *Ochrobactrum* (база данных GenBank) для выявления генных кластеров биосинтеза О-полисахаридов (ГКО) и сравнения их генного состава. Выявлены участки геномов, содержащие все необходимые гены для биосинтеза О-полисахаридов: гены биосинтеза нуклеозидных предшественников моносахаридов, гликозилтрансфераз и процессинга О-полисахарида. Протяженность ГКО бактерий рода *Ochrobactrum* составила 27-57 kb. Обязательными филогенетически консервативными элементами ГКО являлись гены инициации синтеза повторяющихся звеньев (*wzd* и *wbpL*, расположенные на 5'-концах кластеров) и гены синтеза dTDP-L-Rha (вблизи 3'-концов кластеров). Также установлено, что процессинг О-полисахаридов кодируют гены белков *Wzm* и *Wzt* (АТФ-зависимые АВС-транспортёры).

В химической структуре О-полисахаридов двух штаммов (*O. cytisi* LMG 22713T и *O. rhizosphaerae* PR1T, выделенных из клубеньков рабитника венечного и корней картофеля соответственно) ранее были обнаружены остатки редкого для

бактериальных углеводов моносахарида – D-фукозы. В выявленных нами ГКО ген (*gcd*) биосинтеза нуклеозидного предшественника D-фукозы (dTDP-D-fucose) был выявлен также у почвенного типового штамма *O. soli* ВО-7Т. Кроме того, BLAST-анализ геномов позволил обнаружить ген *gcd* в геномах многих других бактерий рода *Ochrobactrum*. Таким образом, биосинтез D-фукозы среди почвенных и ризосферных штаммов этого рода является весьма распространённым, и, соответственно, эти бактерии, их липополисахариды или их гены биосинтеза могут быть использованы для биотехнологического получения D-фукозы.

В целом, данные о генетике O-полисахаридов бактерий рода *Ochrobactrum* будут полезны в понимании процессов коэволюции данных прокариот с животными, растениями и другими бактериями.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 22-26-00293.

Геномное секвенирование и биосинтетический потенциал бактерий рода *Cobetia*

*Слепченко Л.В.**, *Балабанова Л.А.*, *Недашковская О.И.*, *Отставных Н.Ю.*, *Носкова Ю.А.*,
Сейткалиева А.В., *Исаева М.П.*

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия

E-mail: * slepchenko.lubov@gmail.com

К роду *Cobetia* семейства *Halomonadaceae* принадлежит всего несколько видов морских грамотрицательных аэробных и галотолерантных бактерий *C. marina*, *C. crustatorum*, *C. amphilecti*, *C. pacifica* и *C. litoralis*. Анализ полногеномной последовательности проведен только для трех штаммов, включая *C. marina* JCM 21022Т. Определение видовой принадлежности представителей рода *Cobetia* затруднено из-за идентичности генов *16S* рРНК и отсутствия геномных последовательностей типовых штаммов. Однако многие новые изоляты *Cobetia* являются перспективными источниками уникальных метаболитов, разрушающих нефтепродукты, бактериальные биопленки, альгинат и фенолы. Методами секвенирования нового поколения мы получили геномы и провели анализ генных кластеров типовых штаммов *C. amphilecti* КММ1561Т, *C. pacifica* КММ 3879Т и *C. litoralis* КММ 3880Т, а также изолятов *Cobetia sp.* 29-18-1, *Cobetia sp.* 3АК и *Cobetia sp.* 41-10Alg146. Сервером OrthoVenn2 идентифицировано 3878 генных кластера, которые формируют «пан-геном» рода *Cobetia*. «Коровый» геном содержит 2879 генов, включая пять биосинтетических генных кластера (БГК) согласно результатам antiSMASH 6.

Однако их расположение, состав и степень идентичности штаммоспецифичны за исключением путей биосинтеза эктоина (50%) и десферриоксиамина Е (75%), которые ответственны за адаптацию к высокой солености. Эктоин используют в медицине и косметологии для выравнивания внутриклеточного давления в условиях осмолярности, против симптомов риноконъюнктивита и болезни Альцгеймера. Десферриоксиамин используют для связывания железа и алюминия при некоторых метаболических синдромах и интоксикации, а также против некоторых инфекций. БГК арилполиенов показали от 30 до 42% идентичности с референтными метаболическими путями антиоксидантов каротиноидной природы. Множественные кластеры рибосомальных и пост-трансляционно модифицированных пептидов (RiPP-like), ответственных за синтез бактерицинов, как и кластеры поликетидсинтаз T1PKS, кодирующих пути синтеза антибиотиков, имеют большую штаммоспецифичную вариабельность в зависимости от образа жизни и экологической ниши бактерий. Так, у типовых штаммов *C. litoralis*, *C. amphilecti* и *C. marina* антибиотик структурно похож на вазабитид А, имеющий иммуносупрессивный эффект и подавляющий пролиферацию Т-клеток. У остальных штаммов T1PKS показал больше сходства с БГК О- и К-антигенов. У штаммов *C. litoralis* и *C. amphilecti* обнаружены необычные пути синтеза сульфатированных внеклеточных полисахаридов, которые можно использовать для биологического действия и эмульсификации в фармацевтической промышленности и сельском хозяйстве. Многие штаммы *Cobetia* обладают дополнительным биотехнологическим потенциалом для нейтрализации стероидов, получения глицина, перекиси водорода и биопластика. Однако функции БГК у *Cobetia* и их генов еще предстоит исследовать в поисках новых биологически активных метаболитов.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.BRK.21.0004 (соглашение № 075-15-2021-1052).

Горящие отходы добычи угля – источник новых термофилов.

Панова И.А.¹, Русанов И.И.², Лукина А.П.¹, Авакян М.Р.¹, Соколянская Л.О.¹, Карначук О.В.^{1}*

¹Томский государственный университет, Лаборатория биохимии и молекулярной биологии, Томск, Россия

²ФИЦ "Биотехнологии" РАН, Москва, Россия

E-mail: * olga.karnachuk@green.tsu.ru

Места естественного горения угля широко распространены по всему миру. Самовозгорание подземных пластов происходит при проникновении кислорода в местах добычи. Причиной повышения температуры могут быть и биологические

процессы окисления содержащейся в углях серы, прежде всего, пиритной, бактериями и археями. В местах, где горячие газы выходят на поверхность, формируются биотопы с повышенной температурой ($> 50^{\circ}\text{C}$). Горение угля сопровождается образованием газообразных продуктов, водорода, монооксида углерода, сероводорода, диоксида серы, углеводородов, которые могут служить источником энергии для микроорганизмов. Наши исследования горящих отходов добычи угля на месторождениях Сибири и Забайкалья показали, что основными газообразными продуктами угольных «фумарол» являются CO и H_2S . Измерения процесса микробной сульфатредукции с радиоактивным сульфатом обнаружили чрезвычайно высокие скорости восстановления сульфатов, значительно превышающие интенсивность процесса в анаэробных морских осадках. Молекулярные методы показали, что основными агентами сульфатредукции в горячих угольных пластах являются спорообразующие *Desulfofundulus*, использующие CO как донор электронов и источник углерода. Чистая культура *Desulfofundulus* sp. Al-36 выделена из горящего месторождения бурого угля в Курайской степи (Горный Алтай). Физиологические эксперименты с культурой термофила, чей рост прекращается при температуре ниже 50°C , продемонстрировали, что споры бактерии могут осуществлять дыхательный метаболизм и образовывать сероводород при температуре 20°C . Наши результаты свидетельствуют, что горение угля может являться значимым неучтенным источником эмиссии сероводорода и спорообразующие термофильные фирмикуты обладают способностью осуществлять восстановление сульфатов в широком диапазоне температур. Молекулярный анализ показал, что, как правило, сообщество прокариот горящих пластов угля характеризуется низким разнообразием. При этом специфика экосистемы, где микроорганизмы имеют доступ к большим количествам газообразных C_1 -субстратов и водороду, способствует селекции потенциальных биотехнологических продуцентов для процессов, связанных с конверсией синтез-газа (смесь CO и H_2). В частности, из высокотемпературных отходов добычи угля на Черногорском разрезе (республика Хакасия) нами выделен *Bacillus* sp. 1141, являющийся термофильным родственником *Bacillus methanolicus* – одним из основных организмов «метанольной экономики». *Bacillus* из этой группы секретируют большие количества глутамата и лизина при росте на метаноле – дешевом и доступном сырье, одним из источников которого являются полезные ископаемые. По сути, горящие угольные пласты являются «природной лабораторией» для селекции термофильных организмов способных эффективно утилизировать CO и H_2 , как в анаэробных, так и в аэробных процессах.

Исследования поддержаны грантом РФФ 21-14-00114.

Зависимость биоразнообразия микроорганизмов от литологических характеристик и криогенного строения мерзлых грунтов

Петров С.А.*, Субботин А.М., Нарушко М.В., Касторнов А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение наук Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения РАН,

Тюмень, Россия

E-mail: * tumiki@yandex.ru

Мерзлые грунты, датированные 0,781-0,0117 млн. лет назад, характеризуются своей значительной связанностью: цементированностью частиц скелета льдом и наличием криогенной структуры. Промерзание дисперсных грунтов сопровождается рядом сложных и специфических процессов: наличием определенных соотношений песка, супеси, суглинка, глины, торфа, растительных остатков, определенной температуры, воды, накопления солей, рН. Переход слоистой к массивной криогенной структуре мерзлых грунтов сопровождается уменьшением в 1,9 раз влажности, повышением в 2 раза температуры и рН грунта. Микробиологический анализ мерзлых грунтов был проведен с использованием секвенирования последовательностей нуклеотидов в гене *16S* рРНК с использованием генетической базы данных GenBank. Выявлено, что при переходе от слоистой к массивной криогенной структуре в мерзлых грунтах увеличивается количество: 1. пиримидиновых олигонуклеотидных последовательностей ($y = 11,433x + 454,78$ при $R^2 = 0,9218$); 2. тимидиловых нуклеотидных остатков ($y = 0,18x + 45,73$ при $R^2 = 0,75$) в основном за счет аденина ($y = 0,17x + 24,903$ при $R^2 = 0,4286$) с уменьшением количество цитидиловых нуклеотидных остатков ($y = -0,18x + 54,27$ при $R^2 = 0,75$) при сохранении ГЦ-тип нуклеотидного состава rRNA, характерный для микроорганизмов (y высших растений и животных он меньше 1 и колеблется от 0,54 до 0,98 (АТ-тип)).

Слоистая криогенная структура мерзлых грунтов в основном представлена референтными штаммами *Acinetobacter sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus megaterium*. Переходная криогенная структура – *Bordetella avium or bronchis*, *Bacillus megaterium*, *Kocuria rhizophila*. Массивная – *Bordetella avium or bronchis*. Большую часть бактерий в мерзлых грунтах представлена классом Bacilli (46,5 %), семейством *Bacillaceae*, родом *Bacillus*, известные представители которого являются аэробами или факультативными анаэробами. На втором месте по распространенности (приблизительно 38,46% всех последовательностей *16S* рРНК) были бактерии класса *Gamma*proteobacteria и большинство из них принадлежали к семейству *Pseudomonadaceae*, роду *Pseudomonas*, известные представители которых являются сапрофитами и патогенами. Таким образом, степень сблоченности нуклеотидов в *16S* рРНК изученных бактерий специфична в межвидовом аспекте. Выявлены различия в структуре геномов исследуемых микроорганизмов в зависимости от криогенной структуры мерзлых грунтов, различающихся соотношением тимидиловых и цитидиловых нуклеотидных

остатков, обусловлены главным образом контрастами в содержании коротких тимидиловых блоков, состоящих из 2 атомов азота и 4 атомов углерода. С увеличением глубины залегания блочная структура 16S рРНК имеет векторный характер. Показана микробная эволюция генома бактерий, исходя из анализа соотношений цитидиловых и тимидиловых остатков в изоплитах 16S рРНК бактерий. Отдельной проблемой является доказательство функциональной активности микробиоты в природном местообитании.

Изучение биоразнообразия микросимбионтов реликтовых и эндемичных видов бобовых растений, произрастающих на Камчатке

Гуро П.В., Сазанова А.Л., Кузнецова И.Г., Сафронова В.И.*

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * polinaguro@gmail.com

В изучении механизмов специфичности бобово-ризобиальных систем особое значение имеют системы с участием реликтовых и эндемичных бобовых растений и их микросимбионтов. К таким уникальным объектам относятся растения эндемики Камчатского полуострова - *Oxytropis erecta*, *O. anadyrensis*, *O. kamtschatica*, *O. pumilio*, а также два вида реликтов среднего плейстоцена - *Astragalus umbellatus* и *A. inopinatus*. В связи с этим целью нашей работы было выделение, идентификация, определение таксономического положения и сохранение уникальных штаммов посредством депонирования в коллекцию ВКСМ ВНИИСХМ. В результате исследования были впервые получены бактериальные изоляты из корневых клубеньков для четырех видов остролодочника и двух видов астрагала. Было показано значительное видовое разнообразие бактериальных микросимбионтов, относящихся к трем семействам порядка *Rhizobiales*: *Phyllobacteriaceae*, *Rhizobiaceae* и *Bradyrhizobiaceae*. Также для всех изучаемых растений, был обнаружен феномен присутствия в одном и том же клубеньке пар штаммов, относящихся к разным ризобиальным таксонам. Таким образом среди микросимбионтов изучаемых видов растений присутствуют как типичные представители клубеньковых бактерий рода *Mesorhizobium* и *Rhizobium*, так и нетипичные, среди которых только отдельные виды обладают нодулирующей способностью (*Phyllobacterium loti*), или которые могут присутствовать в клубеньках, но самостоятельно их не образуют (*Tardiphaga*, *Bosea*). Поскольку штаммы родов *Tardiphaga* и *Bosea* часто выделяют из клубеньков реликтовых бобовых растений, можно предположить, что эти бактерии могут присутствовать в клубеньках как носители анцестральных (эволюционно более древних) генов, которые могут способствовать формированию симбиоза и влиять на его эффективность. Полученные ризобиальные штаммы могут использоваться в дальнейшем для изучения эффективности растительно-микробных взаимодействий.

Изучение таксономической структуры микросимбионтов гуара (*Cyamopsis tetragonoloba*)

Ульянич П.С.*

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * p.ulianich@gmail.com

Гуар (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) – однолетнее травянистое растение семейства бобовых, преимущественно возделываемое в Индии и Пакистане. Растение является источником гуаровой камеди – полимерного соединения, содержащего остатки галактозы. Камедь активно используют в нефте- и газодобывающей промышленности. Последние несколько лет необходимость возделывания гуара на территории РФ резко выросла. Для успешной интродукции гуара необходимо создать условия для продуктивного роста культуры. Одним из таких условий является правильное использование микросимбионтов этой культуры. Необходимо изучить фундаментальные аспекты, такие как: географическое распространение микросимбионтов; биоразнообразие; гены, участвующие в образовании и функционировании симбиоза. Ранее, в рамках проекта ФЦП на тему «Создание новых сортов гуара с использованием методов маркер-опосредованной селекции для импортозамещения в нефтяной, газовой и пищевой отрасли», была создана первая в России коллекция микросимбионтов гуара. В 2020 году было решено исследовать наличие симбиотических бактерий гуара в почвах разного географического происхождения. Был поставлен опыт с использованием почв, полученных из юго-восточных территорий РФ, а также из Непала, Монголии и Израиля. В ходе опыта не было замечено внешних различий между контрольными растениями и растениями, которым внесли вытяжки из почв. По завершении опыта на корнях некоторых образцов были обнаружены клубеньки. В контрольных образцах образования не были обнаружены. Выделенные из клубеньков бактерии прошли первичную идентификацию с помощью метода секвенирования гена *16S* рРНК. Всего секвенирован 51 штамм, среди них были найдены бактерии рода *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium* и *Rhizobium*. Затем был поставлен вегетационный опыт с целенаправленной инокуляцией гуара выделенными и идентифицированными бактериями. В результате только один штамм из Непала образовал клубеньки. В дальнейшем планируется более подробно исследовать полученные штаммы на возможность продуктивного образования растительно-микробных взаимодействий с другими бобовыми растениями, такими как соя культурная (*Glycine max*) и коровий горох (*Vigna unguiculata*).

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-16-00084).

Использование тест-системы на основе люминесцентных штаммов *Escherichia coli* для оценки генотоксичности химических веществ

Смирнова С.В.*, Шапиро Т.Н., Абилев С.К.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва,
Россия

E-mail: * s.v.smirnova.genet@gmail.com

В работе использована тест-система из 3 люминесцентных штаммов на основе *Escherichia coli* K12 MG1655: *E. coli* MG1655 (pRecA::lux), *E. coli* MG1655 (pDinI::lux) и *E. coli* MG1655 (pColD::lux) (далее pRecA, pDinI и pColD, соответственно); содержащих гибридные плазмиды, несущие luxCDABE оперон фотобактерии *Photobacterium luminescens*, под контролем промоторов генов *recA*, *dinI* и *cda* (*colD*). Экспрессия lux-оперона индуцируется в ответ на ДНК-повреждающее действие химических агентов, позволяя использовать люминесценцию бактерий в качестве репортерной функции. Протестировано 16 химических веществ с различными механизмами воздействия на ДНК: алкилирующие вещества (метилметансульфонат (ММС), N-нитрозо-N-метилмочевина (НММ), стрептозотоцин); соединения, вызывающие межнитевые и внутринитевые сшивки ДНК (митомицин С и цис-платина); аналоги оснований нуклеиновых кислот (5-бромурацил, 2-аминопурин, 5-фторурацил), аддуктообразователи (4-нитрохиолин-1-оксид (4-НХО) и фурацилин); интеркалирующие в ДНК красители (бромистый этидий и 9-аминоакридин); ингибиторы ДНК-гиразы (налидиксовая кислота и ципрофлоксацин); вещества, инициирующие свободнорадикальное окисление (перекись водорода (H₂O₂), диоксидин). В качестве параметра индукции люминесценции определяли амплитуду ответа (АО) биосенсоров, как отношение интенсивности люминесценции бактерий под действием генотоксиканта к интенсивности люминесценции в отрицательном контроле. Оценивали пороговую чувствительность штаммов к действию индукторов и их максимальную АО. Для каждого из тестируемых химических веществ было зафиксировано значимое (p-value<0,05) повышение уровня люминесценции минимум на одном из штаммов тест-системы. Наибольшая чувствительность обнаружена для диоксидина (10⁻¹² моль), mitoмицина С (5·10⁻⁸ моль), ципрофлоксацина (5·10⁻⁸ моль) и стрептозотоцина (10⁻⁷ моль).

Наибольший эффект на 3 штаммах имели вещества, инициирующие свободнорадикальное окисление: диоксидин (pColD АО=24,9; pRecA АО=12,0; pDinI АО=15,0) и H₂O₂ (pColD АО=41,3; pRecA АО=7,5; pDinI АО=29,2); алкилирующие соединения: НММ (pColD АО=18,6; pRecA АО=7,9; pDinI АО=20,0) и ММС (pColD АО=30,1; pRecA АО=8,6; pDinI АО=15,0); а также 4-НХО (pColD АО=40,1; pRecA АО=9,6; pDinI АО=8,3) и mitoмицин С (pColD АО=47,1; pRecA АО=7,0; pDinI АО=26,0).

Для 8 тестируемых химических соединений штамм pColD показывал максимальный уровень ответа по сравнению с остальными штаммами, pDinI – для 6, pRecA – в 2 случаях. При этом штаммы pRecA и pDinI были эффективнее при тестировании аналогов оснований, а pDinI – при тестировании алкилирующих соединений (НММ и стрептозотоцина). Апробированная тест-система из 3 люминесцентных штаммов *E. coli* K12 MG1655 показала эффективность и чувствительность к обнаружению генотоксичных соединений; что позволяет использовать данный набор штаммов, как быстрый способ предварительного тестирования химических веществ на наличие ДНК-повреждающего действия, а также для мониторинга окружающей среды на присутствие генотоксикантов.

Коллекция лабораторных и природных штаммов цианобактерий как основа для филогенетических, экологических и генно-инженерных исследований

*Михеева Л.Е.**, Еланская И.В., Емец Е.В., Женавчук О.Ф., Карбышева Е.А., Муронец Е.М.

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: * lidamikheeva@yandex.ru

Цианобактерии, играющие ключевую роль в биосферных циклах азота и углерода, характеризуются огромным разнообразием и широко распространены в водах и почвах всех географических зон и экологических ниш, включая экстремальные биотопы полярных зон, горячих источников и соленых озер.

На кафедре генетики МГУ создана коллекция (около 120 штаммов) новых природных изолятов азотфиксирующих цианобактерий порядка *Nostocales*, выделенных из биоценозов в различных географических и климатических зонах – Подмосковье, Якутия, Коми, Байкал, Тыва и др., включая 22 штамма из образцов гиполитного слоя грунта Восточной Антарктиды. С помощью морфологической и первичной таксономической идентификации по последовательности генов *16S* рРНК новые изоляты цианобактерий отнесены к р. *Nostoc*, *Anabaena*, *Trichormus*, *Cylindrospermum*, *Tolypothrix*, *Calothrix*, *Halotia* и др. Отдельным направлением работы являлся отбор штаммов, способных к образованию ассоциации с растениями печеночных и листостебельных мхов из различных регионов, и дальнейший анализ их способности стимулировать рост растений в модельных экспериментах. Наиболее перспективными в этом отношении являются изоляты *Trichormus variabilis*, выделенные как ассоциативные из проб растений мхов *Marchantia polymorpha*, *Dicranum scoparium*, *Polytrichum strictum* и *Sanionia uncinata*, что согласуется с имеющимися данными о космополитизме данного вида и его способности к эпифитному и ассоциативному

взаимодействию с мхами, папоротником *Azolla*, рисом и др. В нашей лаборатории *Trichormus variabilis* является модельным штаммом при создании мутантов-продуцентов аммония, молекулярного водорода и биологически активных веществ. Показано, что полученные мутантные штаммы с дерепрессированным процессом азотфиксации способны стимулировать рост растений, при этом полученный эффект может быть связан с повышенным уровнем продукции ауксино- и гибберелино-подобных веществ. Все это делает данные штаммы наиболее перспективными объектами агробιοтехнологии.

Для изучения генетического контроля и молекулярных механизмов устойчивости цианобактерий к экстремальным факторам среды и создания штаммов-продуцентов биологически активных веществ разработаны системы направленного введения и изменения генов цианобактерий методами геной инженерии. Сконструированы мутанты (более 50) одноклеточной цианобактерии *Synechocystis sp.* PCC6803 с измененной устойчивостью к ряду гербицидов (диносеб, ДНОК и др.), солевому и осмотическому стрессам, штаммы с нарушением фотосинтетической и дыхательной активностей.

Использование современных методов полногеномного секвенирования на широком круге родственных изолятов позволяет получить новые данные о филогении отдельных видов цианобактерий и механизмах адаптации к различным условиям окружающей среды.

Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН: таксономическое разнообразие и биотехнологический потенциал

*Куриленко В. В.**, Л. А. Романенко, О. И. Недашковская, М. В. Пивкин, М. С. Кокоулин, А. Н. Юрченко, С. П. Ермакова, М. П. Исаева, В. В. Михайлов

Федеральное государственное бюджетное учреждение наук Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

E-mail: * science@piboc.dvo.ru

Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН была основана в 1985 году одновременно с созданием лаборатории микробиологии. Коллекция является единственной в России, целиком специализирующейся на морских гетеротрофных бактериях и грибах-микромикетах, собранных из всех регионов Мирового океана, включая Арктику и Антарктику. Сотрудниками лаборатории микробиологии валидно описано более 200 новых видов морских бактерий и 5 новых видов грибов. В настоящее время Коллекция представляет собой хранилище генофонда морского

микробного разнообразия, включающего более 4000 штаммов бактерий и более 1000 штаммов грибов Коллекция получила широкую известность и является членом Всемирной федерации коллекций культур (WFCC, <http://www.wfcc>) и имеет официальный номер 644 и международный акроним КММ.

Морские микроорганизмы существенно отличаются от наземных и синтезируют различные биологически активные вещества. Подходы, основанные на принципе «биоразнообразие-экология-биотехнология», позволили обнаружить ряд микробных продуцентов необычных биоактивных соединений, таких как рН-зависимые цитостатики, сурфактины, антибиотики. Обнаружены и изучены штаммы-продуценты таких ферментов как щелочные фосфатазы, тирозиназы, каррагиназы, эластазы, нуклеозидкиназы, β -1,3-глюканазы, α -галактозидазы, фукоиданазы и некоторые другие. Особое место среди биологически активных веществ морских грамотрицательных бактерий занимают углеводсодержащие биополимеры, которые часто проявляют низкую токсичность и могут стать потенциально активными субстанциями при разработке новых лекарственных средств. За последние несколько лет сотрудниками ТИБОХ ДВО РАН были выделены, установлены структуры и изучены биологические свойства липополисахаридов (ЛПС) и капсульных полисахаридов отдельных представителей морских грамотрицательных бактерий из КММ ТИБОХ ДВО РАН.

Еще одно из важных направлений – изучение вторичных метаболитов микроскопических грибов и бактерий из КММ ТИБОХ ДВО РАН. За последние 20 лет проведен скрининг более 3000 изолятов морских грибов-микровицетов и бактерий, выделенных из морских донных осадков, водорослей, морских трав, беспозвоночных, по итогам которого был детально исследован химический состав экстрактов около 70 штаммов грибов. В результате было выделено и идентифицировано более 350 соединений, в том числе 200 новых метаболитов. Исследованы антимикробная, цитотоксическая, анти-радикальная и цитопротекторная активности для многих выделенных метаболитов.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.BRK.21.0004 (соглашение № 075–15-2021-1052).

Литический потенциал бактерий рода *Lysobacter*: от микробиологии к транскриптомике

Афошин А.С.*, Кудрякова И.В., Тарлачков С.В., Леонтьевская Е.А., Леонтьевская (Васильева) Н.В.

ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН), Москва, Россия

E-mail: * alex080686@mail.ru

В ИБФМ РАН изучаются бактерии рода *Lysobacter*, продуцирующие различные литические агенты. Установлено, что культуральная жидкость штаммов *L. capsici* ВКМ-2533^T и *Lysobacter sp.* XL1 обладает мощной антибактериальной активностью в отношении грамположительных бактерий. При этом штамм *L. capsici* ВКМ В-2533^T обладает также мощной антифунгальной активностью. Данные физиологические особенности этих штаммов определяют перспективность поиска новых антимикробных агентов, что и определило цель данной работы.

Антимикробный потенциал изучаемых штаммов *Lysobacter* может быть связан с продукцией бактериолитических ферментов, антибиотиков, а также со способностью образовывать внешнемембранные везикулы, которые могут нести в своем составе каждый из этих классов соединений. Из культуральной жидкости *Lysobacter sp.* XL1 ранее в лаборатории были выделены пять бактериолитических ферментов (Л1 – Л5). В то время как бактериолитические ферменты *L. capsici* ВКМ В-2533^T не были выделены до настоящего времени. Нами было установлено, что оптимальными средами для проявления бактериолитической активности *L. capsici* ВКМ В-2533^T являются среды RM, SYM, KSP. Среда RM и KSP были выбраны для поиска и выделения бактериолитических ферментов *L. capsici* ВКМ В-2533^T. Было выделено шесть бактериолитических ферментов, включая β-литическую протеазу, способную гидролизовать живые клетки клинического изолята *S. aureus* 55 (MRSA) (минимальная ингибирующая концентрация составляет – 2,85 мкг/мл). При анализе фракций в процессе очистки бактериолитических ферментов было обнаружено наличие и других антимикробных агентов. С целью их поиска и идентификации мы провели транскриптомное исследование при культивировании штамма *L. capsici* ВКМ В-2533^T на средах RM и SYM, на которых штамм проявлял антибактериальную и антифунгальную активности. В качестве контроля мы использовали среду 5/5, при культивировании на которой антимикробная активность отсутствует. В результате был обнаружен целый пул генов, увеличивших свою экспрессию, среди которых были как уже известные нам бактериолитические ферменты (в том числе, β-литическая протеаза), так и неизученные ранее гидролитические ферменты, относящиеся к разным классам протеаз и гликозил-гидролаз. Дальнейшая работа будет направлена на выделение и изучение искомым литических агентов.

Ранее из активного штамма *Lysobacter sp.* XL1 был получен малоактивный штамм *Lysobacter sp.* XL2. Для поиска новых литических агентов из XL1 мы применили метод сравнительного транскриптомного анализа этих штаммов. В результате у XL1 были обнаружены гены, уровень экспрессии которых был выше по сравнению с малоактивным штаммом. Особый интерес представляют гены гидролитических ферментов, функциональный статус которых предстоит установить в дальнейшем. Таким образом, проведенные исследования открывают широкий горизонт перспектив для поиска и выделения новых бактериолитических агентов.

Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ (проект № МК-1864.2022.1.4)

Метатранскриптомика патосистем

Гоголев Ю.В.^{1,2}, Гоголева Н.Е.^{1,2}, Осипова Е.В.¹, Коннова Т.А.¹, Хамо Х.², Балкин А.С.³*

¹ Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

³ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

E-mail: * gogolev.yuri@gmail.com

Бурное развитие геномных технологий создало предпосылки для расшифровки множества бактериальных геномов и метагеномов, что значительно продвинуло наше понимание роли микроорганизмов в экосистемах и позволило сделать качественный скачек в филогении. Кроме того, секвенирование РНК выявило неожиданную сложность транскриптомов бактерий. Значительную долю в них составляет некодирующая РНК (нкРНК), которая представлена множеством вариантов, различающихся по происхождению, размеру молекул и копияности в клетке [Sharma, Vogel, 2014]. Было показано, что некоторые нкРНК бактерий действуют в качестве негативных регуляторов активности генов, а также могут служить факторами пртивофагового иммунитета. Вместе с тем, функциональная роль большей части нкРНК бактерий остается не выясненной. К этому следует добавить, что определение точных позиций и количества сайтов инициации транскрипции (TSS) для большинства аннотируемых генов также остается сложной задачей. Данные элементы являются важной составляющей структуры прокариотического генома и во многом определяют профили транскриптомов микроорганизмов. Одним из серьезных вызовов для современной функциональной геномики является изучение бактериальных патогенов непосредственно в патосистемах. В смешанных транскриптомах бактерий и организмов-хозяев бактериальная РНК, как правило, составляет несколько процентов.

При этом, не менее 90 процентов этой РНК относится к рибосомальной и транспортной и не содержит информации об активности генов интереса. Разработка метода Cappable-Seq, основанного на селекции транскриптов, содержащих 5'-концевые трифосфаты, предоставляет дополнительные возможности для исследования сложных транскриптомов [Ettwiller et al., 2016]. Применение этого метода позволило нам провести картирование TSS некоторых бактерий с точностью до одного нуклеотида и провести транскриптомный анализ патогенов непосредственно в тканях и клетках эукариотических организмов. Показано, что для этих бактерий количество сайтов инициации транскрипции многократно превышает количество картированных генов.

Эксперименты по секвенированию РНК проведены при поддержке РФФИ, грант 22-14-00317. Микробиологическая часть работы выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

Биоинформатическая работа проведена в рамках госзадания ФИЦ КазНЦ РАН.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ettwiller L. et al. A novel enrichment strategy reveals unprecedented number of novel transcription start sites at single base resolution in a model prokaryote and the gut microbiome // BMC Genomics. 2016. Т. 17. № 1. С. 1–14.
2. Sharma C. M., Vogel J. Differential RNA-seq: The approach behind and the biological insight gained // Curr. Opin. Microbiol. 2014. Т. 19. № 1. С. 97–105.

Метод инфракрасной фурье-спектроскопии в исследованиях особенностей макромолекулярного состава биопленок и планктонных культур агробιοтехнологически важных бактерий

*Камнев А.А. **

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ СЦ РАН, Саратов, Россия

E-mail: * a.a.kamnev@mail.ru

ИК-спектроскопия широко используется как в научных исследованиях (для структурного и количественного анализа разнообразных объектов), так и в различных отраслях промышленности. Разработка и появление в конце XX в. более совершенных и точных фурье-спектрометров со значительно большей разрешающей способностью произвели революцию в применении метода. В частности, использование ИК-фурье-спектроскопии (ИКФС) в биологии растет, несмотря на сложность и неоднородность

анализируемых систем (например, таких как бактериальные культуры) и сложность интерпретации результатов измерений, которые методологически достаточно просты. При этом исключительную важность приобретает правильная пробоподготовка, методология и анализ ИК-фурье-спектроскопических измерений (см. некоторые из недавних публикаций нашей группы в данной области [1–5]).

В докладе будет рассмотрена информативность ИКФС для фундаментальных исследований макромолекулярного состава клеточных культур бактерий в различных физиологических состояниях (биоопленки, планктонные культуры), включая его изменения под воздействием экологических факторов, а также для быстрого скрининга культур с целью выявления штаммов с необходимыми свойствами (в том числе генетически модифицированных штаммов), для оценки уровня накопления резервных биополимеров и проч., на примерах фитостимулирующих бактерий рода *Azospirillum*, важных для агробиотехнологии и широко изучаемых во многих мировых научных центрах.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант 22-26-00142).

ЛИТЕРАТУРА:

1. A.V. Tugarova, Yu.A. Dyatlova, O.A. Kenzhegulov, A.A. Kamnev. Poly-3-hydroxybutyrate synthesis by different *Azospirillum brasilense* strains under varying nitrogen deficiency: A comparative in-situ FTIR spectroscopic analysis // *Spectrochim. Acta Part A* 252 (2021) 119458.
2. A.A. Kamnev, Yu.A. Dyatlova, O.A. Kenzhegulov, A.A. Vladimirova, P.V. Mamchenkova, A.V. Tugarova. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic analyses of microbiological samples and biogenic selenium nanoparticles of microbial origin: Sample preparation effects // *Molecules* 26 (2021) 1146.
3. A.A. Kamnev, A.V. Tugarova, A.G. Shchelochkov, K. Kovács, E. Kuzmann. Diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT) and Mössbauer spectroscopic study of *Azospirillum brasilense* Sp7: evidence for intracellular iron(II) oxidation in bacterial biomass upon lyophilisation // *Spectrochim. Acta Part A* 229 (2020) 117970.
4. A.A. Kamnev, A.V. Tugarova, Yu.A. Dyatlova, P.A. Tarantilis, O.P. Grigoryeva, A.M. Fainleib, S. De Luca. Methodological effects in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy: Implications for structural analyses of biomacromolecular samples // *Spectrochim. Acta Part A* 193 (2018) 558-564.
5. A.V. Tugarova, A.V. Sheludko, Yu.A. Dyatlova, Yu.A. Filip'echeva, A.A. Kamnev. FTIR spectroscopic study of biofilms formed by the rhizobacterium *Azospirillum brasilense* Sp245 and its mutant *Azospirillum brasilense* Sp245.1610 // *J. Mol. Struct.* 1140 (2017) 142-147.

Механизмы взаимодействия бактерий *Bacillus thuringiensis* с чувствительным и резистентным хозяином

Крыцына Т. И.^{1*}, Гризанова Е.В.², Дубовский И.М.¹

¹ Томский государственный университет, ² Новосибирский государственный аграрный университет

E-mail: * Krytsyna@list.ru

Энтомопатогенные бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt) широко распространены в природе и являются основой биопрепаратов для контроля численности насекомых-вредителей сельского хозяйства. Насекомые способны формировать устойчивость к бактериям Bt при многократном применении биопрепаратов за сезон. В свою очередь бактерии используют широкий арсенал токсинов и ферментов для развития в организме хозяина. Жизненный цикл бактерий не заканчивается с гибелью хозяина, бактерии продолжают использовать погибшее насекомое для размножения и образования спор. При определенной численности популяции, бактерии запускают механизм межклеточного взаимодействия (Quorum sensing, QS), позволяющий скоординировать экспрессию генов, в зависимости от условий окружающей среды, посредством активации транскрипционных регуляторов вирулентной (PlcR), некротрофной (NprR) или спорообразующей (SpoOA) фаз жизненного цикла. Однако малоизученным остается вопрос о стратегии выживания, размножения и образования спор бактерий Bt в устойчивом хозяине. Чтобы понять «гонку вооружений» между вирулентностью Bt и механизмами устойчивости насекомых проведено изучение развития инфекции Bt в восприимчивой и резистентной к Bt популяциях воцинной огневки *Galleria mellonella*. Показано, что устойчивые к Bt насекомые могут очищать средний кишечник от бактерий Bt в течение 48 часов после заражения, и снижать численность бактерий Bt в погибших насекомых. Повышенный базовый уровень экспрессии антимикробных пептидов, в частности гловерина, в среднем кишечнике устойчивых насекомых, вероятно, является эволюционной стратегией «быть готовыми» к Bt-инфекции. В работе впервые проведены исследования с помощью относительного анализа уровней экспрессии мРНК по 18 генам, относящихся к регуляторам системы QS и подконтрольным им факторам вирулентности бактерий. Показано, что Bt, сталкиваясь с устойчивым хозяином, быстро модулируют экспрессию генов, чтобы инициировать споруляцию. Поддержка этой стратегии была подтверждена повышенным уровнем экспрессии регулонов NprR и SpoOA, и сниженной экспрессией PlcR у Bt в погибших личинках резистентного хозяина, а также сниженным уровнем экспрессии факторов вирулентности, таких как гемолизины и энтеротоксины. При этом, часть популяции Bt из чувствительной линии, одновременно с активацией некротрофного регулона NprR, продолжала экспрессировать факторы вирулентности под контролем PlcR. Наша работа

дает новое представление о механизмах взаимодействия бактерий Vt с резистентным хозяином в контексте разработки стратегий повышения эффективности биопестицидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1401 от 03 ноября 2021 года).

Микобиота в донных грунтах и воде Карского и Печорского морей

*Исакова Е.А.**

Федеральный исследовательский центр Кольский научный центр РАН (ФИЦ КНЦ РАН), Апатиты, Россия

E-mail: * ya.kristina-i2014@yandex.ru

Современные представления о видовом составе, распространении и функциях грибов в северных морях довольно ограничены. В то же время это важные для водных экосистем организмы. В условиях низких температур морские грибы (психротрофы) благодаря адаптационным механизмам могут иметь важное значение в биотехнологической и фармацевтической областях, а также обладать высоким потенциалом в биоремедиации. Целью работы было исследование микобиоты донных грунтов и морской воды: оценка численности и разнообразия грибов, а также изучение некоторых параметров их физиологии.

Материалом для исследования послужили 28 образцов, отобранные в летне-осенний период в 2020-21 гг. в ходе рейса НИС «Академик Николай Страхов». На борту образцы подвергались глубокой заморозке и хранились в термоконтейнерах. После доставки в лабораторию они находились в морозильной камере при ~ -20 °C; за сутки перед микологическим анализом их размораживали при температуре 6 °C. Выявление микобиоты грунтов проводили методом предельных разведений (10⁻¹) с последующим глубинным посевом на сусло-агар с NaCl и плотную среду Чапека-Докса с добавлением нефти. Образцы морской воды сеяли по 5 мл на чашку без разведения или пропускали по 30 мл через мембранные фильтры. Все чашки с посеянным материалом инкубировали от 45 до 55 сут при 7 °C и 10-14 сут при 27 °C. Видовое разнообразие выросших изолятов изучали стандартными культурально-морфологическими методами.

Численность микромицетов исследуемых районов оказалась ожидаемо низкой. Из одного образца выделялось от 0 до 28 колоний (в среднем $\approx 0,8$ из воды и 3 из грунтов). Разнообразие микобиоты соответственно невысокое. Из одного образца выделялось от

0 до 7 видов грибов (в среднем до 3 видов). При этом группа доминирующих видов была довольно стабильной и выделялась практически из всех образцов. Такими грибами были *Penicillium corylophilum* и *Talaromyces funiculosus*. Довольно обычными были *Penicillium hirsutum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Aspergillus ustus*. 80% грибных изолятов выделены при 27 °С, т.е. их можно считать мезофильными видами. Психрофилами (20% изолятов), выделенными при 7 °С, оказались некоторые виды рода *Penicillium*, а также дрожжеподобные грибы и дрожжи (*Aureobasidium pullulans*, *Rhodotulora* и др.). Последние указанные виды, а также несколько форм стерильного мицелия выделялись только из образцов морской воды лишь на сусло-агаре. Среди выявленной микобиоты 34% изолятов в качестве источника углерода использовали углеводороды нефти. Микромицеты *Mariannaea elegans* и *Sistotrema brinkmannii* выделены исключительно на минеральной среде с нефтью.

Выявленные из морских северных экосистем грибы можно считать экстремофилами, что вызывает несомненный интерес, обусловленный возможностью обнаружения среди микромицетов и дрожжей наиболее важных источников новых метаболитов и биотехнологических продуктов со свойствами, нужными для биомедицины и индустрии.

Микробная сульфатредукция в кишечнике редких сельскохозяйственных и диких животных

Панов В.Л.¹, Русанов И.И.², Латыголец Е.А.¹, Иккерт О.П.¹, Лукина А.П.¹, Глухова Л.Б.¹, Авакян М.Р.¹, Соколянская Л.О.^{1*}, Карначук О.В.¹

¹ Томский государственный университет, Томск, Россия

² ФИЦ «Биотехнологии» РАН, Москва, Россия

E-mail: * Lusi5055@yandex.ru

Сульфидогенные бактерии обнаруживают в составе микробного сообщества человека и животных. Повышенная активность образования сероводорода прокариотами может быть связана с патологиями. Образование H₂S также приводит к переводению железа в трудно растворимые, бионедоступные сульфиды. До настоящего времени отсутствовали сведения о присутствии сульфидогенов в кишечнике большинства животных, используемых в сельском хозяйстве. Цель настоящего исследования заключалась в выделении чистых культур сульфатредуцирующих бактерий (СРБ), входящих в состав микобиоты кишечника коров породы «Галловей», верблюдов (*Camelus bactrianus*), маралов (*Cervus elaphus sibiricus*), яков (*Bos mutus*) и архаров (*Ovis ammon*). Одновременно определяли связанные формы железа в фекалиях животных.

Свежие фекалии животных были отобраны в ноябре 2021 в двух локациях Республики Алтай – Чергинском экспериментальном хозяйстве и фермерских хозяйствах Кош-Агача. Важно отметить, что отбор проб фекалий проводили в период отрицательных температур воздуха, минимизируя возможную контаминацию из окружающей среды. Первоначальные накопительные культуры получали на среде Видделя-Бака с формиатом для исключения других гетеротрофных организмов. Параллельно была определена скорость микробной сульфатредукции в фекалиях с использованием радиоактивного сульфата. Исследования показали, что около 80% проб фекалий верблюдов содержали бионедоступное железо в виде смешанных сульфидов меди и железа – халькоптитра (CuFeS_2) и вилламанинита ($(\text{CuFe})\text{S}_2$). Сульфиды меди-железа также обнаружили в пробах фекалий крупного рогатого скота. Получены чистые культуры СРБ, относящиеся к *Firmicutes* и *Desulfobacterota*. Филогенетический анализ по гену *16S* рРНК показал, что все представители *Desulfobacterota* принадлежат к роду *Desulfovibrio* и являются ближайшими родственниками *D. simplex*. Представители *Firmicutes* относились к двум новым родам, для которых способность к диссимиляционной сульфатредукции была неизвестной, а также роду *Desulforamulus*. Профилирование микробного сообщества прокариот из фекалий по гену *16S* рРНК подтвердило присутствие форм, полученных путем культивирования. Измеренная скорость сульфатредукции в фекалиях животных варьировала в пределах 0.56 – 8.52 мкг S/л/сут. Наши результаты свидетельствуют об активности СРБ в кишечнике исследованных животных, что может приводить не только к дефициту железа, но и меди.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1401 от 03 ноября 2021 года).

Молекулярно-генетическая характеристика перспективных для агробиотехнологий ризосферных штаммов Нижнего Поволжья

Бурьгин Г.Л.^{1,2*}, Крючкова Е.В.¹, Каргаполова К.Ю.², Гоголева Н.Е.³, Сафронова В.И.⁴,
Сигида Е.Н.¹, Перепелов А.В.⁵, Ткаченко О.В.², Гоголев Ю.В.³

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СНЦ РАН,
Саратов, Россия

²Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов,
Россия

³Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

⁴Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

⁵Институт органической химии им. Зелинского РАН, Москва, Россия

E-mail: * burygingl@gmail.com

Нижнее Поволжье – один из важнейших центров растениеводства России, где наблюдается чрезвычайно широкое разнообразие типов почвенного покрова: от чернозёмов до солончаков, что делает малоэффективным использование на всей территории региона в качестве биоудобрений одного набора штаммов ризосферных рост-стимулирующих бактерий. В связи с этим важной задачей является выделение и всестороннее исследование перспективных для агробиотехнологий ризосферных бактериальных штаммов из почв Саратовской области.

С корней топинамбура и кукурузы, произраставших на чернозёмных почвах, и люцерны, выращенной на серой лесной почве, были выделены бактерии, сочетающие в себе свойства стимуляции роста растений и деградации гербицида глифосата, широко применяемого в современной агробиотехнологии. Молекулярно-генетическими методами, в том числе с помощью полногеномного секвенирования, выделенные изоляты были идентифицированы как *Enterobacter ludwigii* K7, *Pseudomonas chlororaphis* K3 и *Achromobacter insolitus* LCu2. Аннотированный нами геном штамма *A. insolitus* LCu2 (асс. по. CP038034) стал первым описанным геномом ризосферного штамма для своего вида. С поверхностно-стерилизованных корней картофеля, выращенного на каштановых почвах, был выделен штамм IPA7.2, стимулирующий рост побегов картофеля и его урожайность. Идентификация с применением полногеномного секвенирования позволила отнести его к виду *Ochrobactrum cytisi*. Кроме того, для использования ризосферных бактерий в технологии клонального микроразмножения растений было выделено несколько штаммов с корней картофеля, неспособных к росту на среде Мурасиге-Скуга, применяемой для культивирования микроклонов. Анализ нуклеотидных последовательностей гена *16S* рРНК и межгенного транскрибируемого спейсера позволил идентифицировать штаммы как представителей видов *Ensifer adhaerens*, *Acinetobacter guillouiae*, *Ochrobactrum quorumnocens* и *Kocuria rosea*. Выделенный с корней картофеля сорта Кондор штамм *Kocuria rosea* T1Ks19

способен к росту в среде с 10% NaCl, что позволит использовать его в качестве стимулятора роста растений на засоленных почвах. Для двух штаммов *Enterobacter ludwigii* K7 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 исследована особенность продукции липополисахаридов, как факторов стимуляции роста растений. Методом ЯМР была определена структура их повторяющихся звеньев и выявлены уникальные, не описанные ранее сочетания моносахаридных остатков. Таким образом, из ризосферы различных видов растений, выращенных на разных типах почв Нижнего Поволжья, изолированы, идентифицированы и охарактеризованы новые бактериальные штаммы, с полезными для агробιοтехнологий свойствами, в том числе продуценты уникальных по структуре макромолекул, обладающих биологической активностью.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 22-26-00293.

Новый холистический подход к отбору штаммов бактерий для формирования коллекций пробиотиков животных

Мазанко М.С.^{1,2}, Брень А.Б.^{1,2}, Рудой Д.В.¹, Чикиндас М.Л.¹*

¹Донской государственной технической университет, Ростов-на-Дону, Россия

²Южный федеральный университет. Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: * Mary.bio@list.ru

Несмотря на производственную выгоду, использование кормовых пробиотиков-стимуляторов роста в конечном итоге приводит к появлению нечувствительных штаммов. Чтобы замедлить развитие антибиотикорезистентности, в качестве альтернативы предлагается использование пробиотических микроорганизмов (Ouwehand et al., 2016). В ходе нашей работы была поставлена цель создать коллекцию потенциальных пробиотических микроорганизмов для использования как в исследовательских, так и в производственных целях. Мы использовали следующие подходы к формированию коллекции:

1. Поиск штаммов пробиотических бактерий у организмов того же рода и вида, для которых будет создаваться пробиотический препарат. Это позволяет получить микроорганизмы, заведомо адаптированные к условиям кишечника целевого организма.
2. Проверка безопасности, в том числе недопущение распространения генов антибиотикорезистентности. Выделенные бактерии были протестированы на мутагенность, гемолитическую активность, профиль устойчивости к антибиотикам.
3. Исследование потенциальных пробиотических свойств *in vitro*. В литературе накапливается все больше данных о том, что пробиотические свойства

микроорганизмов не ограничиваются только антимикробным действием (Prazdnova et al., 2022; Wang et al., 2017), поэтому в нашем исследовании для оценки потенциальных пробиотических свойств штаммов изучили антиоксидантные и антимуtagenные свойства. В работе использовали рекомбинантные штаммы *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), MG1655 (pRecA-lux).

4. Промышленные свойства. В связи с тем, что пробиотические штаммы в перспективе должны лечь в основу пробиотических препаратов для животноводства, при отборе штаммов в коллекцию необходимо проверять ростовые свойства штаммов.

Таким образом, на основе данных подходов была сформирована коллекция пробиотических штаммов, обладающих антиоксидантными и антимуtagenными свойствами, адаптированными к кишечным условиям целевого организма (курица), а также обладающих достаточной скоростью роста для разработки на их основе пробиотических препаратов. В состав коллекции вошло 5 штаммов *Bacillus* и 5 штаммов *Lactobacillus*.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки Российской Федерации, Мегагрант № 075-15-2019-1880.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Prazdnova EV, Mazanko MS, Chistyakov VA, Bogdanova AA, Refeld AG, Kharchenko EY, Chikindas ML. Antimutagenic Activity as a Criterion of Potential Probiotic Properties. Probiotics Antimicrob Proteins. 2022 doi: 10.1007/s12602-021-09870-9.
2. Wang Y, Wu Y, Wang Y, Xu H, Mei X, Yu D, Wang Y, Li W. Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. Nutrients. 2017 9(5):521. doi: 10.3390/nu9050521.
3. Ouwehand AC, Forssten S, Hibberd AA, Lyra A, Stahl B. Probiotic approach to prevent antibiotic resistance. Ann Med. 2016; 48(4):246-55. doi: 10.3109/07853890.2016.1161232.

Объединение подходов по секвенированию коротких и длинных фрагментов 16S рРНК для анализа микробиома заброшенных почв сельскохозяйственных криогенных экосистем ЯНАО

Кимеклис А.К.^{1,2*}, Гладков Г.В.², Низамутдинов Т.И.¹, Кичко А.А.², Пинаев А.Г.², Андронов Е.Е.^{1,2}, Абакумов Е.Е.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

³Почвенный институт имени В. В. Докучаева РАН, Москва, Россия

E-mail: * kimeklis@gmail.com

Наиболее широко применимым методом для оценки таксономического разнообразия микробиомов является секвенирование ампликонных библиотек гена 16S рРНК на платформе Illumina. Эта технология обладает рядом преимуществ: высокая точность прочтений последовательности ДНК, большой объем генерируемых данных и относительная невысокая стоимость. Однако, у неё есть ряд недостатков, в частности наличие этапа амплификации, который вносит искажения в количественный и качественный состав микробиома, а также короткая длина прочтений последовательности ДНК. Уйти от этих ограничений можно с применением секвенирования на платформе MinION от Oxford Nanopore (ONT), которая позволяет получать фрагменты длиной до 4 млн пар нуклеотидов. В рамках данного исследования мы разработали подход по секвенированию библиотек практически полного гена 16S рРНК на платформе ONT. Такой подход позволяет идентифицировать микроорганизмы на таксономическом уровне ниже рода, что недоступно традиционному ампликонному секвенированию на Illumina. Кроме того, из-за того, что ONT секвенирование не является процессивной технологией, можно давать более точные оценки на основе относительной представленности отдельных таксонов.

В качестве объекта выбраны почвы криолитозоны ЯНАО, являющиеся крупнейшим хранилищем генетических данных в природе. Было проведено сравнение микробиомов антропогенно-преобразованных почв (агрочувств) с почвами зрелой тундры и тайги (фоновые) с применением этих двух подходов. Оба метода показали схожий таксономический профиль микробиомов, но с разной относительной представленностью крупных таксонов. По сравнению с короткими прочтениями Illumina, в библиотеках, полученных технологией ONT, выше представленность фила *Chloroflexi*, значительно выше разнообразие *Gamma*proteobacteria. При этом на более низком таксономическом уровне выявляется большее разнообразие: за счет использования длинных прочтений было идентифицировано больше таксонов низкого уровня. Были показаны отличия на низком таксономическом уровне между агрозёмами и фоновыми почвами. Для агроземов характерно преобладание *Sphingomonas*,

Bryobacter, большее разнообразие минорных представителей *Gammaproteobacteria*. Для фоновых почв характерна большая доля автотрофного компонента (*Chloroflexi*), при меньшем его разнообразии. Общее таксономическое разнообразие оказалось выше для агроземов, чем для фоновых почв. Данный паттерн не является нормой для южных регионов, и, скорее всего, является реакцией микрофлоры на антропогенное воздействие именно для территорий Крайнего Севера.

Работа проведена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075–15-2022-322 от 22.04.2022 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Опыт сотрудничества Коллекции ИЭГМ с индустриальными партнерами

Ившина И.Б.^{1,2}, Куюкина М.С.^{1,2}*

¹Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

E-mail: * ivshina@iegm.ru

Авторы много лет занимаются бактериологией деградации углеводов, поиском и изучением новых штаммов-нефтедеструкторов и путей их длительной биотехнологической эксплуатации. Хорошо знакомы с коллекционной работой и в настоящем сообщении делают попытку акцентировать внимание потенциальных пользователей к биоресурсам специализированной коллекции микроорганизмов, выделенных из многих ареалов их обитания с охватом контрастных эколого-климатических зон и перспективных для использования в работах по биоремедиации нефтезагрязнённых экосистем.

Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WFCC # 285, <http://www.iegmcol.ru>, УНУ 73559, ЦКП 480868) функционирует на Урале в одном из перспективных нефтегазопромысловых регионов России как центр комплексных исследований экологически значимых углеводородокисляющих актиномицетов рода *Rhodococcus* (класс *Actinomycetia*).

Родококки обладают редким свойством использовать в качестве единственного источника углерода наряду с жидкими и твердыми углеводородами высшие газообразные гомологи метана (пропан, н-бутан). Они занимают доминирующее

положение в биотопах районов нефтяных загрязнений и играют ведущую роль в процессах естественной биодegradации природных и антропогенных углеводородов и их производных.

В коллекции широко представлены штаммы-биодеструкторы углеводородов разных классов, отдельных фракций сырых нефтей, нефтепродуктов и эмерджентных загрязнителей. Коллекционные штаммы устойчивы к высоким концентрациям органических растворителей, тяжёлых металлов, фармполлютантов, активны в широком диапазоне экстремальных значений температур, рН, солёности.

На основе детально охарактеризованных штаммов-биодеструкторов сырой нефти и нефтепродуктов разработаны устойчивые биокаталитические системы, сохраняющие функциональную активность в течение 8, что отвечает требованиям рынка. На основе полученных биокатализаторов создана серия бактериальных препаратов углеводородокисляющего действия и природоохранных технологий, максимально приближенных к естественным процессам. Они применяются в работах по биоремедиации нефтезагрязнённых земель в рамках соглашений с компаниями, ведущими экологический бизнес и оказывающими сервисные услуги предприятиям топливно-энергетического комплекса. Разработана и запатентована гибкая технологическая схема комплексных приёмов биоремедиации, адаптированная к применению в условиях регионов с холодными климатическими условиями. Приводятся примеры многолетнего сотрудничества со стратегическими партнерами по биодegradации твёрдых нефтешламов, нефтесодержащих отходов и тяжёлых отходов нефтеоргсинтеза.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Правительства Пермского края, а также грантов РФФИ 18-14-00140, 21-14-00132, РФФИ 20-44-596001 и соглашения 075.15-2021-1051 (131/21).

Особенности растительно-микробного взаимодействия в ризосфере тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*)

*Жаркова Е.К.**, *Ванькова А.А.*, *Свиридова Л.А.*

РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва, Россия

E-mail: * ekzharkova@rgau-msha.ru

В результате растительно-микробного взаимодействия в ризосфере формируются микробные сообщества, отличающиеся по структурно-функциональным особенностям от микробиома окружающей среды. Объектом исследования служила ризосфера тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris L.*), культивируемого на делянках коллекционного

участка УНПЦ «Овощная опытная станция им. В.И. Эдельштейна». В качестве контроля использовали парующую почву. Пробоотбор, выделение ДНК, анализ количества копий генов бактерий, архей и грибов, гена *nifH*, а также метагеномный анализ проводили по стандартной методике.

Количество копий генов бактерий, архей и грибов в ризосфере мелких молодых корней (диаметром 0,3-0,15 мм) превышало количество таковых более чем в 1,3 раза по сравнению с данными, полученными для крупных старых корней (диаметром 3-0,6 мм) и контрольной почвы.

Следует отметить, что старые корни удерживали гораздо меньшее количество ризосферной почвы, чем молодые. Так, на 1 см² мелких молодых корней приходилось около $4,3 \times 10^{-2}$ г почвы, в то время как на 1 см² старых крупных корней содержалось около $7,4 \times 10^{-3}$ г почвы. Вероятно, такая зависимость обусловлена меньшим количеством прижизненных корневых выделений, обладающих способностью склеивать почвенные частицы. Так же была обнаружена тесная обратная зависимость количества копий генов микроорганизмов ($r = 0,992$, $t_{расч} 11,11 > t_{0,99} 9,92$) от расстояния до корневой системы тимьяна обыкновенного.

Видовое разнообразие микробных сообществ ризосферы и контрольной почвы существенно различались. Показатель α -разнообразия микробных сообществ почвы (Chao1) превышал значение, полученное для ризосферы в 1,34 раза, что свидетельствует об определенном селектирующем эффекте ризодепозитов тимьяна обыкновенного. β разнообразие, вычисленное как индекс Брея-Кёртиса (0,51), так же свидетельствовало о несходстве микробных сообществ ризосферы и почвы контроля. Выявлено, что количество бактерий рода *Bacillus* существенно уменьшалось при приближении к корню, в то время как количество представителей рода *Pseudomonas* в ризосфере было в 2 раза больше по сравнению с контрольной почвой. Установлено, что в ризосфере тимьяна количество копий гена *nifH* превышает содержание копий этого гена в контрольной почве более чем в 4 раза.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что в ризосфере тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.) в результате растительно-микробного взаимодействия формируется микробное сообщество, существенно отличающееся по своим структурно-функциональным особенностям от тех, которые характерны для почвы, свободной от растений.

Оценка встречаемости антагонистов возбудителя желтой болезни гиацинта *Xanthomonas hyacinthi* в составе микробиоты потенциальных растений-хозяев

Дренова Н.В.^{1*}, Каримова Е.В.¹, Шнейдер Е.Ю.¹, Слепченко Н. А.², Дренова Д. Д.³

¹ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), Быково, Россия

²ФГБУН «ФИЦ «Субтропический научный центр РАН», Сочи, Россия

³ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Институт химии и проблем устойчивого развития, Москва, Россия

E-mail: * drenova@mail.ru

Возбудитель желтой болезни гиацинта *Xanthomonas hyacinthi* (Wakker) Vauterin et al. (*X. campestris* pv. *hyacinthi* (Wakker) Dowson et al.) – карантинный вредный организм, отсутствующий в ЕАЭС - поражает ряд растений подсем. *Scilloideae* (гиацинт, пролеску, мускари, хионодоксу, гиацинтелу, эвкомис) [1]. В случае инвазии патоген может нанести вред производству декоративных культур, научным коллекциям и дикорастущим эфемероидам, в т.ч. редким и эндемичным видам. В РФ обитают виды pp. *Barnardia*, *Bellevalia*, *Hyacinthella*, *Muscari*, *Ornithogalum*, *Pseudomuscari*, *Puschkinia*, *Scilla* - потенциальные хозяева возбудителя [2]. Микробиота местных растений может оказывать влияние на внедрение инвайдера, влиять на эффективность диагностики возбудителя, а также быть использована для разработки биопрепаратов.

Цель работы — оценка присутствия антагонистов *X. hyacinthi* в микробиоте потенциально восприимчивых растений на территории РФ.

Потенциальные хозяева *X. hyacinthi* в фазе цветения-плодоношения отбирали на территории г. Сочи в Московской области. Проанализированы 39 образцов различных частей *S. bifolia*, *S. siberica*, *S. luciliae*, *Scilla* sp., *M. armeniacum*, *P. scilloides*, *H. orientalis* от 20 выборок растений. Из тканей различных органов выделяли микроорганизмы на ПДГА методом серийных разведений. Антагонистическую активность определяли методом совместного культивирования изолятов с типовым штаммом *X. hyacinthi* CFBR1156 [3].

Антагонистические бактерии выявлены в 29 образцах (74%) исследованных растений практически из всех местообитаний. От 1 до 8 активных изолятов выделено из следующих частей растений: листьев (18 из 21; 86%), цветоносов (2 из 2; 100%), цветков (3 из 5; 60%), завязи и основания побега (2 из 2; 100%), луковиц (5 из 9; 56%). Концентрация бактерий-антагонистов в тканях варьировала от 1 до 107 КОЕ/г и в большей степени зависела от фазы развития растения, повреждений и/или поражения фитопатогенами. Зона подавления роста различными изолятами составляла от 5 мм до полного отсутствия роста патогена на чашке Петри.

Результаты указывают на широкое распространение антагонистов против *X. hyacinthi* в составе микробиоты эфемероидов подсем. *Scilloideae* – потенциальных растений-хозяев карантинного возбудителя на территории РФ. Изоляты, подавляющие рост *X. hyacinthi*, могут быть активны и против других возбудителей р. *Xanthomonas*, а также представителей других групп.

ЛИТЕРАТУРА:

1. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.eppo.int> (дата обращения 10.05.2022).
2. Дренова Н.В. и др. Характеристика микробиоты луковичных декоративных культур в приложении к разработке диагностики возбудителя желтой болезни гиацинта *Xanthomonas hyacinthi* (Wakker) Vauterin et al. // Сборник статей Международной научной конференции «АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯ-2021» (Москва, 24-25 ноября 2021 г) М.: РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2021. Т.1. 925-931.
3. Егоров Н.С. "Микробы антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности" М.: Высшая школа, 1965. - 212 с.

Первая гомологичная система экспрессии для перспективной стафилолитической бета-литической протеазы *L. capsici* VKM В-2533Т

*Кудрякова И.В.**, *Афошин А.С.*, *Леонтьевская Е.А.*, *Леонтьевская (Васильева) Н. В.*

ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН), Москва, Россия

E-mail: * kudryakovairina@yandex.ru

Внеклеточные бактериолитические ферменты бактерий гидролизуют пептидогликан - основной структурный компонент клеточных стенок бактерий, приводя к лизису клеток-мишеней. Изучение этих ферментов в качестве основы антимикробных лекарственных средств затруднено из-за отсутствия эффективной экспрессионной системы для них. Ранее нами была выделена перспективная для биомедицины стафилолитическая бета-литическая протеаза (B1p) *Lysobacter capsici* VKM В-2533^Т (МИС в отношении живых клеток *Staphylococcus aureus* 55 MRSA составляет 2.85 мкг/мл). Разработка экспрессионной системы для B1p на основе чужеродных бактерий не была успешной и эффективной. Перспектива решения существующей проблемы просматривалась в разработке гомологичной системы экспрессии для B1p, что явилось целью данной работы. В качестве экспрессионного штамма использовали *L. capsici* VKM В-2533^Т. Для конструирования экспрессионного вектора была выбрана плазмида pBBR1-MCS5.

Скрининг промоторов был осуществлен с использованием флуоресцентного маркерного белка – GFP. Были апробированы несколько промоторов: бактериальный промотор GroEL, в том числе и с модификацией GroEL(A), а также промотор бактериофага T5, который ранее не использовался в клетках *Lysobacter*. Наилучшие результаты были достигнуты при экспрессии *gfp* под регуляцией промоторов GroEL(A) и T5, которые были использованы для получения двух экспрессионных штаммов *L. capsici* P_{GroEL(A)}-blp и *L. capsici* P_{T5}-blp, экспрессирующих ген *blp*. Была проведена очистка Blp по разработанной ранее нами схеме: осаждение 80% сульфатом аммония с последующей очисткой с применением катионообменной хроматографии (СМ Тоуорpearl, EnrichS) и гель-фильтрации (Superdex 75). Выход Blp *L. capsici* P_{GroEL(A)}-blp и *L. capsici* P_{T5}-blp составил 13.8 мг/л и 17.5 мг/л соответственно, что в 6.7 и 8.5 раз выше по сравнению с *L. capsici* дикого типа.

Была проведена работа по масштабированию процесса культивирования экспрессионного штамма *L. capsici* P_{T5}-blp. Для этого была выбрана разработанная ранее в лаборатории среда RM. Наилучший показатель литической активности культуральной жидкости, составивший 1997 ЛЕ/мл, был достигнут при культивировании в течение 30 ч при 29°C. Это позволило увеличить выход Blp до 28 мг/л. Для масштабирования процесса культивирования был использован ферментер АНКУМ-2М объемом 10 литров. В результате литическая активность культуральной жидкости достигла показателя 2322 ЛЕ/мл, выход Blp составил 44 мг/л, что позволило еще увеличить выход целевого белка в 1.6 раза.

Таким образом, впервые разработана успешная конститутивная гомологичная система экспрессии для перспективного стафилолитического фермента Blp *L. capsici* VKM В-2533^T. Успешное масштабирование процесса культивирования экспрессионного штамма свидетельствует о биотехнологическом потенциале разработанной системы экспрессии.

Исследование выполнено за счет гранта Министерства науки и высшего образования (соглашение № 075-10-2021-113, уникальный идентификатор контракта RF----193021X0001).

Полногеномное секвенирование и анализ штаммов *Saccharomyces cerevisiae* Петергофской генетической линии

Матвеевко А.Г.^{1*}, Барбитов Ю.А.^{1,2}, Максютенко Е.М.^{1,3}, Матиив А.Б.¹, Москаленко С.Е.^{1,3}, Дроздова П.Б.⁴, О.В. Тарасов¹ Белявская А.В.⁵, Предеус А.В.^{2,5}, Журавлева Г.А.^{1,6}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Институт Биоинформатики, Санкт-Петербург, Россия;

³ Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской Академии Наук, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия;

⁵ University of Liverpool, Liverpool, UK

⁶ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * studentmag01@gmail.com

Saccharomyces cerevisiae, или пекарские дрожжи, являются одним из наиболее тщательно изученных модельных эукариотических организмов. Сотни штаммов дрожжей были описаны в дикой природе, промышленных линиях и лабораториях по всему миру. Большинство распространенных штаммов лабораторных дрожжей, в том числе референсный штамм S288C, восходят к так называемым «Берклийским дрожжам». Петергофская генетическая линия (ПГЛ) *S. cerevisiae* была основана более 50 лет назад и является одним из редких примеров крупной генетической коллекции, созданной независимо от Берклийских линий. Исследования трансляции, прионов и других областей в течение многих лет проводились на штаммах ПГЛ, некоторые из которых сейчас широко используются во всем мире.

В последнее время секвенирование нового поколения широко применяется для изучения разнообразия штаммов дрожжей. Чтобы поместить ПГЛ в известную филогению дрожжевых линий, мы ранее проводили полногеномное секвенирование нескольких штаммов с использованием технологии Ion Torrent. Это позволило идентифицировать геномные вариации, которые объясняли несколько фенотипических признаков у этих штаммов, например, комкование, ауксотрофность по фенилаланину, нонсенс-супрессию, вызванную сниженной транскрипцией SUP35. Наиболее близкий к предшественнику ПГЛ штамм 15V-P4 значительно отличается от других лабораторных штаммов.

Несмотря на достигнутый результат, полученные сборки геномов ПГЛ были неполными и требовали существенной доработки. Мы провели секвенирование генома двух наиболее часто используемых штаммов ПГЛ, U-1A-D1628 и 74-D694, с использованием Oxford Nanopore MinION и Illumina HiSeq 2500. Благодаря использованию одновременно длинных и коротких прочтений нам удалось получить сборки референсного качества. Затем мы провели анализ структурных вариантов и обнаружили несколько крупных перестроек, а также множественные межгенные

делеции, вставки и дубликации в геномах ПГЛ. Все протестированные структурные вариации были подтверждены с помощью ПЦР или секвенирования по Сэнгеру. Часть перестроек затрагивала гены флоккулинов, что объясняло сниженную способность изучаемых штаммов к комкованию и инвазивному росту. Мы также сравнили количество кластеров генов *CUP1* и устойчивость штаммов к меди. Штаммы ПГЛ были менее устойчивы к меди и содержали меньше копий гена *CUP1*, что было подтверждено с помощью количественной ПЦР.

С помощью технологии Illumina нами также были отсеквенированы геномы штаммов с мутациями в генах факторов терминации трансляции. Анализ полученных результатов показал, что в таких штаммах часто происходит амплификация участков, содержащих данные гены, что может являться механизмом адаптации к нарушению терминации трансляции.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-14-00050 и выполнена в рамках гостемы №0112-2016-0015.

Разнообразие грибов в составе микробного сообществе почв при монокультуре и в севообороте.

Альсаед Нур, Селицкая.О.В.*

РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

E-mail: * nooranooranooa92@gmail.com

Биоразнообразие почвенной биоты играет основополагающую роль в обеспечении ключевых функций наземных экосистем. Почвенное биоразнообразие связано с физическими и химическими свойствами почвы, а также зависит от взаимодействия микроорганизмов с почвенной и надземной биотой, включая растения. Известно, что растения играют ключевую роль в формировании микробных сообществ почвы. Особенно это ярко проявляется при монокультуре. Длительные опыты могут служить идеальной моделью для таких наблюдений [1]. Целью данного исследования было определение биологического разнообразия грибов в условиях монокультуры (картофель, лен, ячмень, клевер и озимая рожь), бессменного пара и в севообороте путем анализа ПЦР V3-V4 региона гена ITS86F/ITS4R. Материалы и методы: Образцы почвы (пар, ячмень, клевер, лен, картофель, озимая рожь и севооборот) были отобраны по вариантам длительного полевого опыта РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Образцы почвы отбирали из междурядий с глубины 0-25см в 26 ноября 2021г, и хранились в замороженном состоянии -18°C до проведения анализа. Почва-дерново-средне- и слабоподзолистые, старопахотная, от природы кислая. Образцы почвы, были

исследованы с целью изучения разнообразия грибов в этих образцах с помощью анализа ПЦР V3-V4 региона гена ITS86F/ITS4R на базе. Результаты: Установлено, что разнообразие грибов, согласно индексу Шеннона, было наиболее высоким в варианте бессменного пара. Самое низкое - при монокультуре картофеля. Наибольшее доминирование одного вида грибов также выявлено в этом варианте (самый высокий индекс Симпсона). Самое большое значение индекса Симпсона было зафиксировано и в варианте с монокультурой клевера. Во всех вариантах доминировали *Ascomycota* – от 55 до 85%. Меньше всего аскомицетов было в варианте с монокультурой ячменя (55%), больше всего – в почве с бессменным выращиванием картофеля. Представители *Entorrhizomycota* были выделены только в почве при монокультуре льна и клевера. Представители *Glomeromycota* в этих же вариантах обнаружены не были. *Chytridiomycota* больше в почве, где соблюдался севооборот. *Basidiomycota* составляли примерно 15% почве при монокультуре льна, в то время как в других вариантах их количество не превышало 4%. Самое низкое содержание *Mortierellomycota* (менее 10%) обнаружено в почве с бессменным выращиванием картофеля, самое высокое (24.7%) при монокультуре озимой ржи. Причем род *Mortierella* был обнаружен во всех образцах почвы (пар, лен, ячмень, клевер, озимая рожь и севооборот), кроме варианта монокультуры картофеля. Гриб рода *Cladosporium* встречается только в почве клевера, где соотношение достигало 3.26% и является одним из грибов, вызывающих заболевания сельскохозяйственных культур. Увеличение процента фитопатогенных грибов в составе микробного сообщества при монокультуре.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Thakur M. P. Towards an integrative understanding of soil biodiversity / M. P. Thakur // Biological Reviews - 2020.- №2. P. 350-364.

Распространение и функции 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат дезаминазы у микроорганизмов

Белимов А.А., Шапошников А.И., Сырова Д.С., Сафронова В.И.*

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * belimov@rambler.ru

В докладе суммированы результаты селекции и изучения симбиотрофных бактерий и грибов, содержащих фермент 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) дезаминазу. Благодаря АЦК дезаминазной активности микроорганизмы используют АЦК в качестве источника питания, снижают образование фитогормона этилена и этим стимулируют

рост растений. Обсуждаются биоразнообразие АЦК-утилизирующих микроорганизмов, характеристика фермента и генов АЦК дезаминазы и механизмы действия АЦК-утилизирующих микроорганизмов на растения. Особое внимание уделено роли данного растительно-микробного взаимодействия в устойчивости растений к абиотическим стрессам и образованию бобово-ризобияльного симбиоза, а также значение АЦК дезаминазы для фитопатогенных и вредных микроорганизмов.

Работа поддержана РФФИ (19-16-00097, 21-16-00084 и 22-26-00341) и Минобрнауки РФ (соглашение № 075-15-2021-1055 от 28.09.2021).

Реконструкция пангенома рода *Bacillus* – ключ к пониманию видовых особенностей

Шиков А.Е.^{1,2*}, *Маловичко Ю.В.*^{1,2}, *Нижников А.А.*^{1,2}, *Антонец К.С.*^{1,2}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * a.shikov@arriam.ru

Представители рода *Bacillus* известны своим генетическим разнообразием, обеспечивающим высокий адаптивный потенциал и позволяющим занимать многие экологические ниши. Тем не менее, видовые границы в пределах рода остаются размытыми, из-за чего трудно выявить характерные видовые особенности и даже отличить виды между собой. Вследствие этого, применение пангеномного анализа представляется перспективным методом, позволяющим определить группы на основании геномного родства. Для реконструкции пангенома было отобрано 4094 геномных сборок *Bacillus sp.* из базы NCBI Refseq. Исходя из распределения ГЦ-нуклеотидов, были выявлены некоторые компактные группы, однако в основном представители рода были сильно дистанцированы, что подтверждает степень разнообразия. Для реконструкции пангенома был использован инструмент Panaroo. Пангеном содержал 19987697 генов, которые были сгруппированы в 176058 ортологичных кластеров. При этом 338 генов были общими для всего рода, тогда как основная часть представляла собой акцессорный компонент. U-кривая, отражающая количество генов, общих для геномов, содержала внутренние пики, отражающие видоспецифичные гены. Была выявлена высокая степень открытости пангенома, что подтверждает геномную изменчивость. Распределение функциональных аннотаций генов в пределах кластеров выявило две группы: в одной число аннотаций было прямо пропорционально количеству генов в кластере, а в другой были представлены кластера,

часть генов в которых не имела аннотаций. Для выделения функциональных групп в пределах пангенома были оценены обогащения аннотациями для общих (коровых) и уникальных генов. В результате было установлено, что продукты выявленных коровых генов участвуют в базовых клеточных процессах: первичном метаболизме аминокислот и нуклеотидов, трансляции и транскрипции, тогда как аксессуарный компонент генома был обогащен генами, продукты которых опосредуют приобретение чужеродной ДНК, миграцию фагов и синтез вторичных соединений (поликетидов и липопептидов) с широким спектром действия (антибактериальное, фунгицидное). Функциональная аннотация геномов трёх основных видов: *B. cereus*, *B. thuringiensis* и *B. subtilis*, показала, что характеристики геномов первых двух видов были схожими: для них характерны протеазная и пептидазная активности, наличие значительного числа экспортеров и особых поверхностных белков, что согласуется с механизмами их патогенеза. Функциональная схожесть также подтверждает нечёткие видовые границы. *B. subtilis*, напротив, обладал отличительными особенностями, преимущественно представленными множеством метаболических активностей (катаболизм углеводов, метаболизм липидов, транспорт ионов и гема).

Таким образом, реконструкция пангенома рода *Bacillus* позволило определить группы ортологических кластеров генов, как общих для всего рода, так и внутривидовых, а также выявить функциональные особенности групп генов, обеспечивающих специализацию в рамках видов.

Работа выполнена при поддержке РФФ 20-76-10044.

Сборка генома эндофитной бактерии *Bacillus vallismortis* штамма BL01

*Ганчева М.С.**, *Чижевская Е.П.*, *Пищик В.Н.*, *Келейникова О.В.*, *Баганова М.Е.*,
Заплаткин А.Н., *Чеботарь В.К.*

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * ganchovai@gmail.com

Некоторые штаммы эндофитных бактерий являются стимуляторами роста растений и способны ингибировать развитие фитопатогенных микроорганизмов. Штамм BL01 *Bacillus vallismortis* был выделен из корней *Artemisia lerchiana* Web., и было показано, что обработка штаммом *B. vallismortis* BL01 семян и вегетирующих растений томата оказалась эффективна против чёрной бактериальной пятнистости и фитофтороза. Помимо этого, при обработке редиса штаммом *B. vallismortis* BL01 отмечено более активное развитие корневой системы и формирование мощных боковых корней. Для

приближения к пониманию роли *B. vallismortis* в регуляции роста и устойчивости растений к патогенам, был секвенирован геном штамма *B. vallismortis* BL01. С помощью программы SPAdes v3.14.1 был получен 1 скэффолд длиной 4114991 нуклеотидов. Полнота сборки составила 99.8% (согласно BUSCO с использованием базы для *Bacillales*). С помощью программы Prokka v1.14.6 предсказаны 3 977 белок-кодирующих последовательностей.

Работа поддержана грантом «Мобилизация генетических ресурсов микроорганизмов на базе Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ) при ФГБНУ ВНИИСХМ с использованием сетевого принципа организации» (Соглашение о предоставлении гранта в форме субсидии № 075-15-2021-1055 от 28.09.2021 г.).

Секвенирование и анализ генома бактерии *Bizionia* sp. 041-53-Ur6, выделенной из морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*

*Куриленко В.В.*¹, *Балдаев С.Н.*^{1*}, *Отставных Н.Ю.*¹, *Киселев К.В.*², *Агеенко Н.В.*³,
*Михайлов В.В.*¹, *Исаева М.П.*¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии" Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского" Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

E-mail: * baldaevsergey@gmail.com

Род *Bizionia* был предложен Недашковской и соавт. (2005), как новый представитель семейства *Flavobacteriaceae*, в качестве типового вида был описан *Bizionia paragorgiae*. На сегодня в роде *Bizionia* насчитывается 13 валидно описанных видов (<https://lpsn.dsmz.de/genus/bizionia>). Целью настоящего исследования была характеристика нового штамма 041-53-Ur6, выделенного из полостной жидкости морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*, собранного в ходе экспедиции на НИС «Академик Опарин» в сентябре 2011 г. (Охотское море, Россия).

Новый штамм представляет собой грамотрицательные аэробные неподвижные палочковидные бактерии. На среде Морской Агар 2216 бактерии формируют непрозрачные округло-выпуклые колонии мелкого размера с ровными краями и гладкой блестящей поверхностью золотисто-желтого и желтовато-оранжевого цветов.

Филогенетический анализ на основе гена 16S рРНК показал 97,45% сходства последовательности штамма 041-53-Ur6 со штаммами *Bizionia hallyeonensis* T-y7T и *Bizionia echini* КММ 6177T, и 94,28–97,08% сходства с другими представителями рода *Bizionia*. Для уточнения таксономической позиции штамма *Bizionia* sp. 041-53-Ur6 было выполнено геномное секвенирование. Геном был получен на платформе MiSeq (Illumina, США) и собран в 35 контигов с N50 равным 631227 п.н., размер генома оценен в 3,005 млн. п.н., с содержанием ГЦ пар 33,4%. Аннотирование с помощью сервера RAST позволило предсказать функцию только 22% генов. Анализ генов ферменты углеводного обмена, проведенного на сервере dbCAN2, показал избыток генов гликозилтрансфераз в сравнении с генами других ферментов. Согласно филогеномному анализу род *Bizionia* является полифилетным, где типовой вид рода *B. paragorgiae* находится на значительном расстоянии от остальных видов. На основе рассчитанных межгеномных дистанций штамм 041-53-Ur6 был наиболее близок к *B. algorithergicola* АРА-1Т, показатели ANI, AAI и dDDH для этой пары составили 79,82%, 79,74% и 21,2%, соответственно. Полученные данные позволяют предположить, что штамм 041-53-Ur6 может представлять новый вид рода *Bizionia*.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.BRK.21.0004 (соглашение № 075–15-2021-1052).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Nedashkovskaya O.I., Kim S.B., Lysenko A.M., Frolova G.M., Mikhailov V.V., Bae K.S. (2005). *Bizionia paragorgiae* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Flavobacteriaceae isolated from the soft coral *Paragorgia arborea* // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, 55(1), 375–378.

Секвенирование и анализ генома бактерии *Lewinella* sp. КММ 6454, выделенной из тихоокеанской зелёной водоросли *Ulva fenestrata*

Недашковская О.И.¹, Быстрицкая Е.П.^{1*}, Отставных Н.Ю.¹, Кухлевский А.Д.²,
Михайлов В.В.¹, Исаева М.П.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского" Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

E-mail: * belyjane@gmail.com

Род *Lewinella* впервые был предложен Sly et al. (1998), чтобы реклассифицировать морские бактерии рода *Herpetosiphon*, включая виды *H. cohaerens*, *H. nigricans* и *H. persicus*, на основании филогенетического анализа гена *16S* рРНК. *Lewinella cohaerens* (ранее *Herpetosiphon cohaerens*) была выбрана типовым видом рода. Позже вид *L. nigricans* был реклассифицирован в новый род *Flavilitoribacter* как *F. nigricans* на основании анализа геномных последовательностей (García-López et al., 2019). В настоящее время род *Lewinella* относится к сем. *Lewinellaceae* класса *Saprospira* филума *Bacteroidetes* и включает 12 валидно опубликованных видов морских бактерий (www.bacterio.net/lewinella.html). Содержание ГЦ пар в ДНК составляет 45–61 mol%. Целью настоящего исследования является характеристика нового штамма КММ 6454, который был изолирован из зелёной водоросли *Ulva fenestrata*, собранной на Морской экспериментальной станции ТИБОХ ДВО РАН в б. Троицы зал. Петра Великого Японского моря.

Новый изолят был грамотрицательным, аэробным, гетеротрофным, палочковидным и подвижным посредством скольжения. Он синтезировал каталазу и оксидазу, гидролизовал эскулин, желатин, казеин, крахмал и твины 20, 40 и 80. В процессе изучения были установлены пределы роста штамма КММ 6454 между 4 и 36⁰С и с 0,5–6% хлорида натрия. Филогенетический анализ, основанный на секвенировании гена *16S* рРНК, показал 97,6% сходства последовательностей КММ 6454 с *Lewinella aurantiaca* SSH13T и 89,7–95,4% сходства последовательностей с другими видами рода *Lewinella*. Для определения таксономического положения штамма КММ 6454 было выполнено геномное секвенирование. Геном был получен на платформе MiSeq (Illumina, США) и собран в 177 контигов с N50 равным 194732 п.н., размер генома был оценен в 6,46 млн п.н. с содержанием ГЦ пар 55,9%. Аннотирование генома на сервере RAST показало, что в составе подсистем находится только 16 % генов, наиболее представленными были гены подсистемы «аминокислоты и производные» (233). Анализ генома, выполненный на сервере dbCAN2, показал, что геном штамма КММ 6454 обогащен генами углевод-активных ферментов. Филогеномный анализ на основе последовательностей из 400

белков корового генома поместил штамм КММ 6454 к представителям рода *Lewinella*. Рассчитанные показатели ANI, AAI и dDDH между *Lewinella sp.* КММ 6454 и ближайшим штаммом *L. aurantiaca* SSH13T составили 80,01%, 75,83% и 22,8%, соответственно. Полученные данные позволяют предположить, что штамм бактерий КММ 6454 может представлять новый вид рода *Lewinella*.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.BRK.21.0004 (соглашение № 075–15-2021-1052).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Sly L.I., Taghavit M., Fegan M. 1998, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 48(3), 731-737.
2. García-López M., Meier-Kolthoff J.P., Tindall B.J., Gronow S., Woyke T., Kyrpides N.C., ... & Göker M. 2019, Frontiers in microbiology, 2083.

Секвенирование и анализ генома бактерии *Paracoccus sp.* КММ 6460, выделенной из красной водоросли *Tichocarpus crinitus*

Недашковская О.И.¹, Чаусова В.Е.^{1*}, Отставных Н.Ю.¹, Кухлевский А.Д.², Михайлов В.В.¹, Исаева М.П.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского" Дальневосточного отделения

Российской академии наук, Владивосток, Россия

E-mail: * v.chausova@gmail.com

Род *Paracoccus* был предложен Davis et al. (1969) с описанием единственного и типового вида *Paracoccus denitrificans*. В настоящее время род относится к сем. *Rhodobacteraceae* класса *Alphaproteobacteria* филума *Pseudomonadota* и включает 53 валидно опубликованных видов бактерий, представленных в List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (www.bacterio.net/paracoccus.html). Целью настоящего исследования является характеристика нового штамма КММ 6460, который был выделен из красной водоросли *Tichocarpus crinitus*, собранной в районе Морской экспериментальной станции ТИБОХ ДВО РАН в б. Троицы зал. Петра Великого Японского моря.

Новый штамм бактерий является аэробным, грамотрицательным, неподвижным, палочковидным и образует бледно-розовые колонии на морском агаре. Рост наблюдался при 4–40°C и с 0–8% хлорида натрия. Новый изолят не гидролизует агар, казеин, желатин, крахмал, хитин, твины 20, 40 и 80 и ДНК и не образовывал кислоту из

изученных сахаров. Штамм КММ 6460 депонирован в биоресурсной коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН.

Филогенетический анализ, основанный на секвенировании *16S* рРНК гена, показал 96,7% сходства последовательности штамма КММ 6460 с типовым штаммом *Paracoccus kondratievae* GBT, 96,5% и 95,9% с типовыми штаммами *Paracoccus caeni* MJ17T и *Paracoccus suum* SC2-6T, соответственно. Для более точного определения таксономического положения штамма *Paracoccus sp.* КММ 6460 было выполнено геномное секвенирование. Геном КММ 6460 был собран в 285 контига с N50 равным 27300 п.н., размер генома был оценен в 3,31 млн п.н. с содержанием ГЦ пар 70,1%. Согласно филогеномному анализу штамм КММ 6460 наиболее близок к типовому штамму *P. suum* SC2-6T, показатели ANI, AAI и dDDH между которыми составили 79,36%, 71,26% и 21,0%, соответственно. Аннотирование с помощью сервера RAST позволило предсказать функцию только 30% генов. Поиск генов биосинтеза вторичных метаболитов на сервере antiSMASH предсказал только два генных кластера: биосинтеза N-ацил-гомосеринового лактона и поликетид-синтазы III типа. Полученные данные филогенетического анализа и физиолого-биохимических свойств позволяют предположить, что штамм бактерий КММ 6460 вероятно представляет новый вид рода *Paracoccus*.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.BRK.21.0004 (соглашение № 075–15-2021-1052).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Davis D.H., Doudoroff M., Stanier R.Y., Mandel M. Proposal to reject the genus *Hydrogenomonas*: taxonomic implications // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1969, 19, 375–390.

Секвенирование и анализ генома бактерии *Pseudoalteromonas* sp. КММ 6382, выделенной из морской воды Японского моря

Недашковская О.И.¹, Личманюк Д.О.^{2*}, Отставных Н.Ю.¹, Кухлевский А.Д.³,
Михайлов В.В.¹, Исаева М.П.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского" Дальневосточного отделения

Российской академии наук, Владивосток

E-mail: * lichmanyukdarina@gmail.com

Род *Pseudoalteromonas* относится к сем. *Pseudoalteromonadaceae* класса *Gammaproteobacteria* филума *Pseudomonadota* и был предложен Gauthier et al. (1995) с описанием *Pseudoalteromonas haloplanktis* в качестве типового вида. В настоящее время, род *Pseudoalteromonas* включает 50 валидно опубликованных видов, у которых Г+Ц содержание в ДНК варьирует от 34,8 до 54,9 mol%. Целью настоящего исследования является характеристика нового штамма КММ 6382, который был изолирован из пробы морской воды, собранной на Морской экспериментальной станции ТИБОХ ДВО РАН в б. Троицы зал. Петра Великого Японского моря.

Клетки штамма КММ 6382 являются грамотрицательными, аэробными, гетеротрофными, подвижными и палочковидными. Они характеризуются присутствием каталазы, оксидазы и нитратредуктазы, а также способностью гидролизовать казеин, желатин, крахмал, хитин, ДНК и твины 20, 40 и 80. Филогенетический анализ, основанный на секвенировании *16S* рРНК гена, показал 98,1% сходства последовательности штамма КММ 6382 с типовым штаммом *P. caenipelagi* JBTF-M23T и менее 97,8% с типовыми штаммами остальных видов рода *Pseudoalteromonas*.

Для уточнения таксономического положения было выполнено геномное секвенирование. Геном *Pseudoalteromonas* sp. КММ 6382 был собран в 158 контигов с N50 равным 133831 п.н. Размер генома был оценен в 5,32 млн п.н, ГЦ-состав – 40,6%. Филогенетическая позиция штамма была оценена на основе анализа конкатенированных последовательностей из 400 консервативных белков доступных представителей рода *Pseudoalteromonas*. Показатели ANI, AAI, dDDH между КММ 6382 и типовым штаммом *P. caenipelagi* JBTF-M23T, составили 80,04%, 81,40% и 20,9%, соответственно. Полученные данные филогенетического анализа и физиолого-биохимических свойств показывают, что штамм бактерий КММ 6382 представляет, вероятно, новый вид рода *Pseudoalteromonas*. Аннотирование с помощью сервера RAST позволило предсказать функцию только 28% генов. Поиск генов биосинтеза вторичных метаболитов, выполненный на сервере antiSMASH, показал присутствие в

геноме большого количества генов нерибосомальных пептид-синтетаз и поликетид-синтаз. Большинство генных кластеров были определены как гипотетические.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.BRK.21.0004 (соглашение № 075–15-2021-1052).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Gauthier G., Gauthier M., Christen R. Phylogenetic analysis of the genera *Alteromonas*, *Shewanella*, and *Moritella* using genes coding for small-subunit rRNA sequences and division of the genus *Alteromonas* into two genera, *Alteromonas* (emended) and *Pseudoalteromonas* gen. nov., and proposal of twelve new species combinations // *Int J Syst Bacteriol*, 1995, 45, 755–761.

Секвенирование и анализ геномов штаммов, выделенных из донных осадков Чукотского моря – представителей нового рода семейства *Weeksellaceae*

*Отставных Н.Ю.**, Романенко Л.А., Михайлов В.В., Исаева М.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

E-mail: * chernysheva.nadezhda@gmail.com

Морские донные осадки являются природным источником биологического разнообразия, местом обитания и экологической нишей для многих представителей морской биоты. Изучение микроорганизмов, изолированных из новых, не исследуемых ранее источников морской среды является актуальным. Среди арктических морей Чукотское море остается малоизученным, микроорганизмы его донных осадков исследованы фрагментарно [1]. Целью данного исследования являлось изучение геномных и фенотипических свойств двух штаммов, выделенных из образцов донных осадков, отобранных в ходе экспедиции на НИС “Академик Опарин” в сентябре 2016 г. (глубина 29 м, Чукотское море, Россия). Выделенные штаммы были депонированы в Коллекцию морских микроорганизмов (КММ) ТИБОХ ДВО РАН под номерами КММ 9713 и КММ 9724. Новые штаммы представляют собой грамотрицательные аэробные галофильные неподвижные палочковидные бактерии. На среде Морской Агар 2216 бактерии формируют полупрозрачные круглые блестящие желтовато-пигментированные колонии 1–2 мм в диаметре. Рост бактерий отмечается при содержании в среде 0,5–5% NaCl и при температуре 7–42⁰С. Бактерии КММ 9713 и КММ 9724 гидролизуют

желатин и эскулин, не гидролизуют казеин, тирозин, ДНК, крахмал, целлюлозу, хитин, твин-80 и не редуцируют нитраты в нитриты.

Геномы морских бактерий КММ 9713 и КММ 9724 были секвенированы с помощью технологии Illumina на базе платформы MiSeq (Illumina, США) и собраны в 48 и 109 контигов, размеры геномов были оценены в 2,67 и 2,62 млн п.н., а содержание ГЦ пар составило 34,5% и 34,7%, соответственно. Уровень сходства последовательности гена *16S* рРНК КММ 9713 и КММ 9724 оценивался с *Ornithobacterium rhinotracheale* DSM 15997T в 91,05% и с бактериями рода *Empedobacter* в 90,2–90,7%. На филогенетическом дереве штаммы КММ 9713 и КММ 9724 формируют отдельную ветвь, близкую к роду *Ornithobacterium* семейства *Weeksellaceae* [2]. Межгеномные дистанции исследуемых штаммов с типовым штаммом *O. rhinotracheale* DSM 15997T составили 76,81–76,73% (ANI), 60,11–60,28% (AAI) и 20,0–20,5% (dDDH).

Полученные данные филогенетического анализа свидетельствуют о значительной генетической удаленности исследуемых штаммов КММ 9713 и КММ 9724 от бактерий известных видов и родов семейства *Weeksellaceae* филума *Bacteroidetes*, и позволяют сделать заключение, что о принадлежности штаммов к новому виду нового рода.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.BRK.21.0004 (соглашение № 075–15-2021-1052).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Yuan M., Yu Y., Li H.R., Dong N., Zhang, X.H. Phylogenetic diversity and biological activity of actinobacteria isolated from the Chukchi Shelf marine sediments in the Arctic Ocean // *Marine drugs*, 2014, 12(3), 1281–1297.
2. García-López M., Meier-Kolthoff J.P., Tindall B.J., Gronow S., Woyke T., Kyrpides N.C., ... & Göker M. Analysis of 1,000 type-strain genomes improves taxonomic classification of *Bacteroidetes* // *Frontiers in microbiology*, 2019, 2083.

Современные алгоритмы сборки геномов и метагеномов по данным секвенирования второго и третьего поколений

*Пржибелский А.Д. *, Антипов Д.Ю., Шафранская Д.Д., Коробейников А.И., Лapidус А.Л.*

Центр Биоинформатики и Алгоритмической Биотехнологии, ИТБМ,
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * andrewprzh@gmail.com

С появлением технологий секвенирования третьего поколения задача сборки геномов вышла на принципиально новый уровень. Ярким примером использования этих технологий является пересобранный консорциумом T2T (telomere-to-telomere) геном человека. По сравнению с предыдущей версией, в новом геноме человека восстановлены все неизвестные участки — преимущественно в высокоповторных регионах, таких как теломеры и центромеры. Технологии третьего поколения также оказались полезны и в решении задачи расшифровки бактериальных геномов: во многих случаях такого рода данные позволяют собрать геном полностью в автоматическом режиме. В то же время, из-за высоких затрат на секвенирование и большого разнообразия микробных сообществ, новые технологии не дали такого же впечатляющего улучшения при сборке метагеномных данных. Для решения задачи метагеномной сборки было предложено использовать гибридный подход, то есть включающий в себя секвенирования точными короткими прочтениями (как правило, технологией Illumina) и длинными прочтениями (PacBio или Oxford Nanopore). Однако, исследователи столкнулись с полным отсутствием вычислительных методов, способных обрабатывать такие наборы данных секвенирования. В данной работе на базе геномного сборщика SPAdes были разработаны новые программы, позволяющие осуществлять метагеномную сборку при помощи данных секвенирования второго и третьего поколений. Также были разработаны инструменты для обработки метатранскриптных данных, то есть секвенирования мРНК всего бактериального сообщества. Созданные программы показали высокое качество результатов по сравнению с существующими аналогами, и были применены в реальных метагеномных исследованиях.

Данная работа поддержана грантом СПбГУ Pure ID 93023187.

Создание коллекции штаммов дрожжей *Komagataella phaffii* для проведения фундаментальных и прикладных исследований

Румянцев А.М.*, Шуберт М.А., Макеева А.С., Цыганков М.А., Музаев Д.М., Петрова К.Д., Иштуганова В.В., Самбук Е.В., Падкина М.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * rumyantsev-am@mail.ru

Дрожжи *Komagataella phaffii*, ранее известные как *Pichia pastoris*, являются представителем уникальной группы эукариотических организмов, способных использовать метанол в качестве единственного источника углерода и энергии. Первый этап метаболизма метанола обеспечивается алкогольоксидазой, которая локализуется и функционирует внутри пероксисом. Промотор гена алкогольоксидазы АОХ1 является необычайно сильным и при этом строго регулируется в зависимости от источника углерода в среде. Успешное применение данного промотора для экспрессии гетерологичных генов, в сочетании со способностью *K. phaffii* достигать высоких плотностей при культивировании, сделали эти дрожжи необычайно популярной системой для синтеза рекомбинантных белков. Применение дрожжей *K. phaffii* в биотехнологии и их практическая значимость в свою очередь стимулируют активное их изучение. На сегодняшний день эти дрожжи являются не только организмом-продуцентом, но и модельным объектом современной биологии.

В нашей лаборатории дрожжи *K. phaffii* используются в качестве организма-продуцента для синтеза самых разнообразных белков: иммуномодуляторов (интерлейкинов и интерферонов), ферментов (в частности кислой фосфатазы), а также регуляторных белков для исследовательских целей. В связи с этим проводится активная работа по расширению и совершенствованию методов синтеза рекомбинантных белков с помощью этих дрожжей.

Получена коллекция плазмид, содержащих не только известный промотор гена АОХ1, но и другие промоторы, обеспечивающие эффективную экспрессию гетерологичных генов. Полученные плазмиды также содержат разные сигналы секреции. Отдельно получены плазмиды, содержащие последовательности якорных белков, обеспечивающие закрепление синтезируемого белка на поверхности клеток, что необходимо для использования методов дрожжевого дисплея.

Был разработан новый подход, обеспечивающий эффективное внесение делеций в гены дрожжей *K. phaffii* за счёт использования разделенных селективных маркеров («сплит-маркеров»). При этом возможно дальнейшее удаление селективного маркера из генома для повторного его использования (т.н. «регенерация» селективного маркера). Также предложен метод, обеспечивающий быструю смену селективного маркера в плаزمиде без необходимости использования эндонуклеаз рестрикции и процедуры лигирования. С использованием упомянутых плазмид и подходов получена коллекция штаммов *K.*

phaffii. В ней представлены штаммы с делециями генов, способствующими эффективному синтезу рекомбинантных белков. В частности, гена маннозилтрансферазы, делеция в котором изменяет гликозилирование секретируемых белков. Получены штаммы, содержащие экспрессионные кассеты, обеспечивающие синтез транскрипционных факторов, что в свою очередь усиливает работу промоторов, обеспечивающих экспрессию гетерологичных генов. Также получены тестерные штаммы, содержащие репортерные конструкции, которые позволяют оптимизировать условия культивирования дрожжей *K. phaffii*.

Состав бактериального микробиома в мокроте больных раком легкого и оценка его влияния на кластогенные и анеугенные эффекты в лимфоцитах крови

Дружинин В.Г.; Баранова Е.Д.*

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

E-mail: * druzhinin_vladim@mail.ru

Рак легкого (РЛ) - самое распространенное злокачественное новообразование и основная причина смертности от онкологии в мире. В частности, в России смертность от рака легких у мужчин составляет около трети смертей от всех злокачественных опухолей. Примерно 80% случаев РЛ связаны с воздействием табака, но только у 15% курильщиков в течение жизни развивается РЛ. Нестабильность генома считается одним из фундаментальных признаков злокачественной трансформации. Генотоксические свойства многих бактериальных метаболитов могут вносить свой вклад в канцерогенез. Последние исследования в этой области показали, что помимо генотоксинов в клетках эукариот существуют и другие бактериальные эффекторы повреждений.

Состав бактериального микробиома мокроты изучен у 66 мужчин с первично диагностированным РЛ (средний возраст $59,4 \pm 7,8$ года) и 62 здоровых мужчин (средний возраст $50,2 \pm 6,6$ года). Активными курильщиками были 68% из группы больных РЛ и 50% среди контрольных доноров. Для пациентов с РЛ был установлен клинический и патогистологический статус. Все процедуры соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декларации 1964 г. с поправками 2008 г. всемирной медицинской ассоциации.

Для определения уровня повреждения генома изучили частоты хромосомных aberrаций (ХА) в лимфоцитах периферической крови, у тех же групп пациентов с РЛ и контроля, у которых анализировали микробиом мокроты. Выделение бактериальной ДНК выполняли с использованием наборов FastDNA® SPIN Kit for Soil (MPBio, США), подготовку бактериальной ДНК к секвенированию осуществляли по протоколу

16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Part #15044223 Rev. B), рекомендованному Illumina для секвенатора MiSeq. В мокроте пациентов с РЛ, по сравнению с контролем, наблюдали увеличение относительной процентной представленности родов *Streptococcus* ($36,43 \pm 21,97$ против $17,81 \pm 8,82$; $p = 0,00001$); *Bacillus* ($2,92 \pm 2,57$ против $1,8 \pm 1,93$; $p = 0,007$); *Gemella* ($2,94 \pm 2,54$ против $1,85 \pm 1,98$; $p = 0,006$) и *Haemophilus* ($1,27 \pm 8,07$ против $0,11 \pm 0,36$; $p = 0,006$). На видовом уровне в мокроте пациентов с РЛ увеличено представительство *Streptococcus agalactiae* ($35,64 \pm 22,35$ против $17,48 \pm 8,65$; $p = 0,00001$). Подгруппу больных РЛ с низким фоновым уровнем ХА (0–3%; среднее значение $2,15 \pm 0,92\%$) составили 27 мужчин, а подгруппу с высоким уровнем ХА (более 3,5%; среднее значение $5,46 \pm 2,31\%$) составили 39 мужчин. В микробиоме пациентов с РЛ с высоким уровнем ХА выявлено увеличение представленности *Bacteroides nordii* ($1,45 \pm 1,87$ против $0,68 \pm 1,36$; $p = 0,009$). Этот факт впервые указывает на потенциальную взаимосвязь содержания отдельных бактериальных таксонов в микробиоме с цитогенетическим статусом соматических клеток у пациентов с РЛ.

Исследование поддержано грантом РФФИ №18-14-00022-П.

Сравнение вирулентности различных штаммов и подвидов бактерий *Bacillus thuringiensis* по отношению к личинкам колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata*

Терещенко Д.С.*, Гризанова Е.В., Бедарева Е.В., Дубовский И.М.

Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

E-mail: * tereshenko-darya@mail.ru

Бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt) – распространенный вид энтомопатогенных бактерий в природе и являются основой биопрепаратов для защиты растений от насекомых – вредителей (Scnepf et. al., 1998; Maagd et. al., 2001, 2003; Griffiths and Aroian, 2005). В настоящее время количество биопрепаратов на основе бактерий Bt невелико и на протяжении долгих лет используются одни подвиды, что может приводить к снижению или потере вирулентности бактерий, диссоциации культуры на морфологические варианты, а также формированию устойчивых популяций насекомых. Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata*) – является одним из наиболее опасных вредителей картофеля в мире (Захаренко, 2006), который сформировал устойчивость к широкому спектру химических инсектицидов. Изучение механизмов резистентности насекомых, а также поиск новых перспективных высоковирулентных штаммов и подвидов бактерий Bt позволит расширить ассортимент препаратов для биологической

защиты растений. Проведено сравнение вирулентности бактерий *Bacillus thuringiensis* ssp. *daccota*, ssp. *indiana*, ssp. *morrisoni* (штаммы 109, b77, b118) по отношению к личинкам колорадского жука. Кроме того, проведено сравнение иммунного ответа и антиоксидантной, детоксицирующей систем колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) при одинаковом уровне гибели (ЛК 30) при заражении разными подвидами и штаммами бактерий Vt. Отмечены различия в уровне вирулентности по отношению к колорадскому жуку, в составе Сгу токсинов у изучаемых подвидов бактерий Vt. При этом, иммунный ответ и показатели антиоксидантной и детоксицирующей систем колорадского жука был различным при заражении изучаемыми подвидами бактерий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-76-00025.

Сравнительная и эволюционная геномика кластеров генов О-антигена бактерий семейства *Oxalobacteraceae*

*Афонникова С.**

Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * svetaafonnikova@gmail.com

Микроорганизмы живут в широком диапазоне условий, включая грибы, растения и животные. Взаимоотношения между бактерией и ее хозяином могут проявляться по-разному: от выгоды для обоих участников, до нейтральных и патогенных для хозяина. Эти взаимодействия динамичны, они могут меняться как в течение жизни хозяина при изменении состояния его иммунной системы, так и в эволюционном масштабе. Грамотрицательные бактерии взаимодействуют с бактериофагами и иммунной системой хозяина с помощью дистальной структуры липополисахаридов клеточной стенки – О-антигенов. Вариабельность структуры О-антигенов выражается и в вариабельности кодирующих их генов. В зависимости от набора генов синтеза О-антигена пути его процессинга можно разделить на две группы: wzx/wzy-зависимый путь и wzm/wzt-зависимый путь.

В нашем предыдущем исследовании было показано, что существует взаимосвязь между структурой оперонов генов О-антигена и образом жизни бактерий у рода *Herbaspirillum* семейства *Oxalobacteraceae*. Представители указанного семейства широко распространены. Среди них встречаются как свободноживущие виды, так и грибов, растений человека. Чтобы выяснить, есть ли взаимосвязь между строением генных кластеров О-антигена и образом жизни у других бактерий семейства, мы исследовали их геномы.

Качество сборки мы проверяли с помощью QUAST, далее отбирали только полностью собранные геномы или на уровне до 10 контигов. Отобранные 18 геномов аннотировали с помощью Prokka и EggNOG. Поиск интересных генов проводился путем использования Orthofinder, где в качестве референсного набора генов были мы брали гены модельного организма - бактерии *Escherichia coli*.

Мы отобрали два вида рода *Collimonas*, по одному виду для *Herminiimonas*, *Oxalobacter* и *Unbibacterium*, четыре вида *Janthinibacterium* и девять видов *Massilia*. У всех сборка генома была полная. Однако в сборках *M.putida* и *M.violaceinigra* присутствовали плазмиды. Так как гены O-антигена могут располагаться на плазмиде, мы продолжили анализ этих геномов, предполагая эту возможность.

В результате работы для каждого вида мы нашли кластеры генов, кодирующих O-антиген. Они дисперсно расположены по всему геному, ни в одном геноме нет единого кластера. Далее, в геномах всех проанализированных видов присутствовали гены синтеза L-рамнозы (*rml*). Среди наиболее часто встречающихся генов присутствуют гены синтеза ГДФ-d-маннозы (*manB* и *manC*), гены белка с нуклеотидилтрансферазной активностью (*hddC*), гликозилтрансферазы (*wbaS*, *wbaX*, *wbdH*), гены процессинга O-антигена *wzx*, *wzm*, *wzt*. Из 18 проанализированных геномов 12 содержат *wzm/wzt* гены (бактерии из родов *Massilia*, *Collimonas*, *Unbibacterium*). Таким образом, мы выявили консервативные и вариабельные части кластеров O-антигена. В данный момент мы занимаемся более детальным изучением вариабельных участков.

Стимулирующий эффект пробиотических бактерий *Bacillus spp.* и инактивированных дрожжевых культур на физиологические и продуктивные показатели медоносных пчел *Apis mellifera*

Соколова Э.С.^{1,2,3*}, Магер С.Н.², Гризанова Е.В.^{1,3}, Дубовский И.М.^{1,3}

¹ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

² Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Новосибирск, Россия

³ Томский государственный университет, Томск

E-mail: * elinq.98@mail.ru

В ранневесенний период, при скудном взятке, а также во время зимовки, когда условия среды становятся неблагоприятными для жизнедеятельности пчел, они наиболее подвержены воздействию различных патогенных факторов. Для профилактики и лечения пчел от инфекций и паразитозов пчеловоды, как правило, прибегают к использованию различных антибиотиков и инсектицидов, что накладывает ограничения на производство органических продуктов пчеловодства. Поэтому, с целью

поиска эффективных и безопасных способов предотвратить ослабление и гибель пчелиных семей, необходимо сделать упор на стимуляцию естественных физиологических процессов в организме пчел, активируя их собственные механизмы резистентности. *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* — это родственные виды грамположительных бактерий. Размножаясь в просвете кишечника, эти бактерии вырабатывают все основные пищеварительные ферменты (протеазы, амилазы, липазы, пектиназы, целлюлазы), которые оказывают антимикробное и антиоксидантное действие, а также стимулируют обменные процессы в макроорганизме.

Для проведения лабораторных испытаний отбирали взрослых рабочих пчел из одного улья среднесильной семьи (частная пасека Новосибирской области, с. Боровое), предварительно исследованного на отсутствие заболеваний. Пчелы содержались в лабораторных условиях в затененных садках при температуре 28-30°C и относительной влажности 60-65%. Кормление производилось 60-типроцентным сахарным сиропом с добавлением 5 г/л смеси *B. subtilis* и *B. licheniformis* и 30 г/л инактивированной дрожжевой культуры. В контрольной садке добавления исследуемых компонентов в сироп не осуществлялось. Спустя 10 дней после начала эксперимента пчел усыпляли углекислым газом и использовали для дальнейшего анализа. Показано, что применение подкормки повышает активность детоксицирующих ферментов глутатион S-трансфераз в кишечнике в 2,64 раза, а также глутатион S-трансфераз и неспецифических эстераз в жировом теле в 1,69 раз и в 2,16 раз соответственно. Кроме того, отмечается увеличение активности протеаз в кишечнике в 3,32 раза. Таким образом, с практической точки зрения дрожжевая подкормка вместе с *B. subtilis* и *B. licheniformis* обладает ярко выраженными свойствами стимуляции детоксицирующей и пищеварительной систем пчел на биохимическом уровне. Кроме того, было отобрано 20 пчел из контрольной и исследуемой групп для оценки степени развития жирового тела. Среднее значение для группы, в состав подкормки которой добавлялись пробиотические штаммы и инактивированные дрожжевые культуры составило 4.43 ± 0.63 балла, для группы контроля — 3.37 ± 0.61 балла. После этого осуществлялись полевые эксперименты — добавление вышеуказанных добавок в сахарный сироп проводилось трижды в течение весны. Средняя медопродуктивность за сезон составила: в группе контроля 27.4 ± 1.04 кг на улей, в группе с применением пробиотически-дрожжевой добавки — 40.1 ± 1.44 кг на улей.

Таким образом, исследуемая добавка обладает свойствами стимуляции физиологических и продуктивных показателей медоносной пчелы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической

программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1401 от 03 ноября 2021 года).

Фунгицидная активность морфологических вариантов *Bacillus thuringiensis spp. aizawai* и их влияние на почвенную микробиоту картофеля

Бедарева Е.В.^{1,2,3*}, Масленникова В.С.^{1,2,3}, Калмыкова Г.В.³, Акулова Н.И.³,

Дубовский И.М.^{1,2,3}

¹ Томский государственный университет, Томск, Российская Федерация

² Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Российская Федерация

³ СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирский район, Новосибирская область, Российская Федерация

E-mail: * shelikhova.ev@yandex.ru

Многочисленные исследования позволили расширить представления о возможности использования бактерии *Bacillus thuringiensis* против болезней на различных культурах, в том числе на картофеле. Цель данной работы – сравнить фунгицидную активность трех морфоваров *Bacillus thuringiensis spp. aizawai* (Bta) по отношению к мицелиальным грибам, вызывающим болезни растений в лабораторных условиях. В полевых условиях определить влияние предпосадочной обработки клубней картофеля споро-кристаллической смесью Bta на почвенную микробиоту и ризоктониоз картофеля. Исследования проведены на базе лаборатории биологической защиты растений и биотехнологии при Новосибирском ГАУ в 2021 году. Объекты исследования: штамм бактерии Bta (ВКПМ В-14026) и его морфологические варианты, среднеранний картофель сорта Тулеевский, ризоктониоз картофеля – *Rhizoctonia solani* Kuhn. (*R. solani*). В качестве эталона применяли биопрепарат Бактофит СП (*Bacillus subtilis* ИПМ 215). Антагонистическую активность бактериального штамма *in vitro* оценивали методом агаровых блоков, определяли ингибирующую активность в отношении *R. solani*, *Fusarium oxysporum* (*F. oxysporum*) и *Alternaria alternata* (*Al. alternata*). Сравнение фунгицидной активности штаммов трех морфоваров Bta показало, что уже на 2 сутки наблюдалось подавление роста *R. solani*, *F. oxysporum* и *Al. alternata*. Самая высокая ингибирующая активность (до 81,6%) в отношении испытуемых фитопатогенных грибов отмечалась в вариантах с использованием морфовара Bta, который не продуцировал дельта-эндотоксин споровых культур Bta. При обработке клубней споро-кристаллической смесью штаммов морфоваров Bta, продуцирующими дельта-эндотоксин, было отмечено снижение распространенности *R. solani* на стеблях в 2-2,5 раза по сравнению с контролем на всех сроках учета. Штаммы бактерии Bta также

подавляли рост ризоктониоза на столонах – в 3 и 2 раза по сравнению с контролем (на 4 и 6 неделе соответственно). Применение споро-кристаллической смеси *Bta* способствовало росту численности полезных микроорганизмов в почве – количество целлюлозоразрушающих бактерии было больше на 22% чем в контроле; бактерии, усваивающих органический азот, превышало контрольный и эталонный варианты в 8 и 7 раз соответственно. Таким образом, применение бактериального штамма *Bta* оказало оздоравливающее действие на картофель, положительное влияние на почвенное микробиологическое сообщество и дает возможность использовать бактерии *Bta* против болезней растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1401 от 03 ноября 2021 года).

Цианобактерии как модельные объекты для изучения регуляторной роли вторичных метаболитов с применением «омиксных» технологий

Кокшарова О.А.^{1,2*}

¹НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского, Москва, Россия

²МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: * koksharova@genebee.msu.ru

Способность синтезировать метаболиты возникла в эволюции микроорганизмов задолго до появления высших форм жизни. Предполагается, что эти молекулы могут иметь биологические функции, позволяющие микроорганизмам выживать в изменяющихся экологических условиях. Некоторые из этих соединений (пептиды, небелковые аминокислоты и алкалоиды) токсичны для человека, что делает актуальными исследования причин и условий синтеза этих молекул, их биологической роли и механизмов действия на живые клетки. Цианообактерии представляют древнейшую группу фотоавтотрофных микроорганизмов. Они вносят существенный вклад в углеродный и азотный циклы в биосфере Земли. Некоторые представители цианобактерий способны к азотфиксации и клеточной дифференцировке. Они формируют симбиозы с как растениями, так и с животными. Являясь древними эволюционными родственниками хлоропластов высших растений, цианобактерии служат удобной экспериментальной моделью для фундаментальных исследований процесса фотосинтеза, филогенетических исследований, симбиогенетики. Цианобактерии синтезируют разнообразные вторичные метаболиты, многие из которых могут выступать в роли инструментов аллелопатии. Среди них летучие органические

соединения (ЛЮС), пептиды и алкалоиды, небелковые аминокислоты. Функции многих из них до сих пор еще недостаточно изучены. В нашей экспериментальной работе мы продемонстрировали возможности «омиксных» технологий для исследования особенностей регуляторного действия небелковой аминокислоты бета-L-аланина (ВМАА) в клетках модельной diazotrophic цианобактерии *Anabaena (Nostoc) sp.* PCC 7120. Применение транскриптомного анализа позволило установить регуляторное действие ВМАА на экспрессию ключевых генов, контролирующих формирование и функционирование специализированных клеток гетероцист, осуществляющих процесс азотфиксации у цианобактерий. Проведенный нами протеомный анализ продемонстрировал плеiotropic регуляторное действие ВМАА на белки, участвующие в основных метаболических процессах в клетках цианобактерии. Так, добавление этой аминокислоты к клеткам цианобактерии *Anabaena (Nostoc) sp.* PCC 7120 приводит к дисбалансу энергии и метаболитов азота и углерода, что индуцирует серьезный внутриклеточный стресс. Он проявляется в повышенном содержании активируемых стрессом белков, белков SOS-ответа и ферментов репарации ДНК, различных протеаз и, в конечном счете, ведет к апоптозу. Полученные результаты позволяют сформулировать гипотезу о возможном экологическом аспекте действия ВМАА на развитие сообществ цианобактерий.

Эндофитный штамм *Bacillus Amiloliquefaciens* P20 для борьбы с ризоктониозом картофеля

Заплаткин А.Н.^{1*}, Чеботарь В.К.¹, Келейникова О.В.¹, Баганова М.Е.¹, Балашев Н.А.¹, Хютти А.В.²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * mashul991@mail.ru

Для селекции картофеля актуальным является использование эффективных и экологически безопасных микробиологических препаратов, повышающих продуктивность

и устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды и болезням. С целью создания микробиологического препарата для борьбы с ризоктониозом картофеля, отобран штамм эндофитных бактерий *Bacillus amiloliquefaciens*, способный ингибировать

рост фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani*, а также *Fusarium solani*, *F.culmorum*, *F.oxysporum* *Alternaria solani* в лабораторных опытах на чашках Петри. Проведенные в

Ленинградской области на базе ООО «АгроИнтер» полевые производственные опыты позволили сделать следующие выводы: - максимальная урожайность клубней картофеля сорта Чароит в производственных условиях получена при совмещении экспериментального препарата на основе штамма *Bacillus amyloliquefaciens* P20 с химическими средствами защиты. Прибавка к чистому контролю без использования химических средств защиты составила 7,95 т/га (39,0 %), а к хозяйственной схеме химической защиты - 10,63 т/га (60 %). При этом, при использовании экспериментального штамма P20 в чистом виде, он обошел по урожайности биологический эталон БисолбиСан на 1,96 т/га.- растения картофеля с.Чароит, обработанные *Bacillus amyloliquefaciens* P20, формировали большее количество стеблей и быстрее накапливали урожай. При этом его биологическая эффективность по ризоктониозу корней и столонов была на 23,7 % выше, чем на хозяйственной схеме, а по фитофторозу всего на 14,2 % ниже, чем при применении химических фунгицидов.

- по итогам двухлетних испытаний можно сделать выводы о высоком потенциале микробиологических препаратов в качестве протравителей для контроля почвенной инфекции, в первую очередь комплекса паршей. Максимальная отдача от комплексного применения микробиологических препаратов наблюдается в интегрированных системах

защиты и питания картофеля, когда объединяются сильные стороны химических и биологических препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта «Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации» Федеральной научно-технической программы развития сельского хозяйства на 2017-2025 годы.

Эндوفиты плодов яблони

*Ванькова А.А. *, Шабля А.С., Свиридова Л.А.*

РГАУ-МСХА им К.А. Тимирязева, Москва, Россия

E-mail: * anna.vankova@gmail.com

Эндوفитные микроорганизмы обеспечивают растения питательными веществами, способны синтезировать витамины и фитогормоны, стимулирующие рост и устойчивость к стрессам различной природы. Продуцируемые эндوفитами р. *Bacillus* вещества защищают растение-хозяина от ряда патогенов, обладая противовирусными, антибактериальными свойствами, выраженной антагонистической активностью по отношению к фитопатогенным грибам [1, 2, 3]. Эндوفитные микроорганизмы обитают в тех же нишах, что и фитопатогены, и поэтому весьма перспективны с целью создания

новых микробиологических препаратов для агробιοтехнологического использования. Цель исследования - выделение и изучение новых видов эндофитных микроорганизмов плодов яблонь (*Malus domestica*) поздних сортов, растущих на территории Мичуринского сада РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. Из внутренних запасающих тканей плодов методом посева на глюкозопептонную среду было выделено 8 видов бактерий и 3 вида дрожжей, определено их обилие и частота встречаемости. Бактериальные культуры идентифицировали методом секвенирования участка гена *16S* рРНК с универсальными праймерами. Идентификацию дрожжей проводили методом секвенирования участка внутренней транскрибируемой области спейсера рДНК с универсальными праймерами. Установлено, что в плодах яблони содержатся как бактерии, так и дрожжи. Максимальная численность 10⁴ -10⁷ КОЕ/г, которая зависит от сорта яблони и стадии развития плодов. Количество эндофитов уменьшается по мере созревания плодов. Доминирующим видом дрожжей в плодах яблони являлся *Hanseniaspora uvarum* (частота встречаемости 26%, обилие 23%). В плодах изученных сортов яблонь доминирует *Acinetobacter sp.* (частота встречаемости 66%- 100%, обилие 95%- 96%). Выявлены представители р. *Bacillus* (частота встречаемости 16-100%, обилие 2-18%). Бациллы представлены видами *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. velezensis*. В результате анализа плодов яблони выявлены виды, обладающие ростстимулирующей, фунгицидной и бактерицидной активностью - *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus velezensis*, *Sphingomonas mucosissima*, *Pantoea agglomerans*, *Staphylococcus pasteurii*, *Rhodotorula mucilaginosa*. Бактерии р. *Acinetobacter* являются убиквитарными почвенными и водными сапрофитами. В то же время, обнаружена фитопатогенная бактерия *Bacillus pumilus*, известная как возбудитель порчи пищевого сырья и продуктов питания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Н.Г. Мачавариани, Л.П. Терехова Биологически активные соединения, образуемые микроорганизмами-эндофитами. Антибиотики и химиотерапия. 59.(5-6) 26-33, (2014)
2. А.В. Щербаков., А.Н. Заплаткин, В.К. Чеботарь Эндофитные бактерии, населяющие семена пшеницы, перспективные продуценты микробных препаратов для сельского хозяйства Достижения науки и техники АПК.7. 35-38, (2013)
3. Х. Мохамед., А.М. Петерсон., Г.С. Ткаченко Антагонистическая активность бактерий-ассоциантов побегов яблонь по отношению к фитопатогенным грибам Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 16 (4) 420-25, (2016).

Генетические методы изучения разнообразия и функций микробиомов сельскохозяйственных животных и птиц для улучшения здоровья и повышения продуктивности

Лаптев Г.Ю.^{1,2,3}, Йылдырым Е.А.^{1,2}, Ильина Л.А.^{1,2,3}*

¹ООО «БИОТРОФ+», Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Россия

E-mail: * georg-laptev@rambler.ru

На сегодняшний день рационы кормления животных и птиц построены так, чтобы обеспечить максимальную скорость роста и продуктивность за короткий промежуток времени, что приводит к нарушению микробиома. В 2010 году на базе научно-производственной компании «БИОТРОФ» была создана единственная в России молекулярно-генетическая лаборатория, где с помощью новейших достижений геномных и высокоточных молекулярных технологий, в том числе «омиксных», проводится анализ микробиома сельскохозяйственных животных и его функций.

Материалы и методы. Анализ полного состава микробиома ЖКТ птиц, сельскохозяйственных животных и кормов методом NGS-, а также полногеномное секвенирование микроорганизмов проводили с использованием секвенатора Miseq (Illumina). Для биоинформатической обработки использовали базы данных PICRUSt2, Kegg Pathway, Cazy и т.д. Экспрессии генов проводили методом ПЦР с обратной транскрипцией. Для анализа микотоксинов и глифосатов кормов применяли метод ИФА.

Результаты и обсуждение. На основании изучения 20 000 образцов химуса пищеварительной системы сельскохозяйственных животных (коров, овец, свиней, лошадей, северных оленей) и птиц (бройлеров, несушек) показано, что микробиом оказывает влияние на работу всего организма, в том числе, иммунный статус, экспрессию генов, состояние здоровья, уровень продуктивности, качество продукции и играет огромную роль в повышении адаптационных возможностей организма. Как оказалось, для каждого из патологических состояний организма (будь то заболевания или падение продуктивности) свойственно особенное количественное и качественное содержание микроорганизмов в пищеварительной системе. До 2016 г. вопрос норм содержания бактерий в пищеварительной системе сельскохозяйственных животных и птиц оставался в тени. Нами впервые в мире определены четкие пороговые значения для тех или иных групп микроорганизмов. При использовании баз данных PICRUSt2 и Kegg Pathway показано, что в организме коров при погрешностях в кормлении происходят нарушения метаболических путей микробиома рубца, что влечет серьезные сбои в углеводном энергетическом, протеиновом, липидном обмене животных и в

конечном итоге приводит к возникновению целого спектра метаболических заболеваний.

Мы продемонстрировали, что значительная часть кормов для птиц и крупного рогатого скота загрязнена микотоксинами, а также пестицидами глифосатами. Так, по нашим данным, уровень превышения ПДК охратоксина А в силосе в некоторых фермах Северо-Западного региона достигает 54,4 раза. В 96% исследованных образцов комбикормов для птицы зафиксировано присутствие глифосата, в 25% образцов обнаружено превышение нормы по данному токсиканту. Как было доказано нами, загрязнение корма и сырья для него ксенобиотиками может стать причиной возникновения нарушений микробиома животных и птиц: снижения бактерий с целлюлозолитической активностью и увеличения патогенных форм, а также нарушений метаболических путей микробиома, в частности, усиления процесса патогенеза и биопленкообразования, что было показано при использовании баз данных PICRUST2 и Kegg Pathway.

Работа поддержана грантом РФФИ №22-16-00128.

ISBN 978-5-00204-342-2



**Сборник тезисов Всероссийской школы-конференции
«СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
РЕСУРСОВ МИКРООРГАНИЗМОВ»**

Издательство «Перо»

109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 27, ком. 105

Тел.: (495) 973-72-28, 665-34-36

Подписано к использованию 04.07.2022.

Объем 2,5 Мбайт. Электрон. текстовые данные. Заказ 534.